

Том 43, номер 2

Февраль 2024



ХИМИЧЕСКАЯ ФИЗИКА



НАУКА

— 1727 —

СОДЕРЖАНИЕ

Том 43, номер 2, 2024

Элементарные физико-химические процессы

Пуртов П.А.

Реакционный оператор в основном уравнении спиновой химии* 3

Влияние внешних факторов на физико-химические превращения

Немова Е.Ф., Кобзева Т.В., Дульцева Г.Г.

Влияние излучения терагерцового диапазона на транспортные свойства альбумина:
связывание с ионами металлов 9

Кинетика и механизм химических реакций, катализ

Чирик С.А., Грибов П.А., Ковальский В.Ю., Сидельников А.А.

Обнаружение фотообратимости связевой изомеризации $\text{NO}_2\text{—ONO}$ в кристаллах
[Co(NH₃)₅NO₂]Cl(NO₃) методом фотомеханического отклика* 17

Электрические и магнитные свойства материалов

Федоренко С.Г.

Кинетика захвата поляронов на ловушки в кристалле ниобата лития* 33

Физические методы исследования химических реакций

Жданкин Г.И., Гривин В.П., Плюснин В.Ф., Центалович Ю.П., Глебов Е.М.

Фотохимия комплекса IrCl_6^{3-} в водных растворах* 45

Химическая физика биологических процессов

Кононова П.А., Селютина О.Ю., Поляков Н.Э.

Липид-опосредованное влияние глицирризина на свойства трансмембранного домена
Е-белка вируса SARS-CoV-2* 57

Кормухина А.Ю., Кусяпкулова А.Б., Емельянова Н.С., Покидова О.В., Санина Н.А.

Аэробный распад диметилтиомочевинного нитрозильного комплекса железа
в присутствии альбумина и глутатиона* 63

Якуш Е.А., Ким А.В., Медведев Н.Н.

Изучение поведения молекул диоксидета в воде методом молекулярной динамики* 74

**Грузнов Д.В., Грузнова О.А., Лобанов А.В., Сохликов А.Б.,
Щербакова Г.Ш., Степанова С.П., Попов Н.И.**

Влияние различных режимов термической обработки на изменение химического состава
и антибактериальную активность пчелиного меда

82

**Далидчик Ф.И., Лопатина О.А., Ковалевский С.А., Исаева Е.И., Бидевкина М.В., Бакланова О.В.,
Гущина Е.А., Лисицын Ф.В., Балашов Е.М., Мезенцева М.В., Притчина Т.Н.**

Катионный эффект в формировании токсических и противовирусных свойств
гетерополисоединений Кеггина

93

Химическая физика наноматериалов

Ершов К.С., Валиулин С.В., Пыряева А.П.

Генерация синглетного кислорода при фотовозбуждении наночастиц серебра*

104

Конькова Т.В., Клушина Н.В., Ромашенко А.В., Лосев Е.А., Ведеева А.Д., Сухов Б.Г.

Синтез и охарактеризация пребиотического композита струвит/каппа-каррагинан

114

* X Международная конференция им. В.В. Воеводского “Физика и химия элементарных химических процессов” (сентябрь 2022, Новосибирск, Россия).

УДК 541.124;538.67

РЕАКЦИОННЫЙ ОПЕРАТОР В ОСНОВНОМ УРАВНЕНИИ
СПИНОВОЙ ХИМИИ© 2024 г. П. А. Пуртов^{1,2*}¹Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*E-mail: purtov@kinetics.nsc.ru

Поступила в редакцию 07.11.2022;
после доработки 15.11.2022;
принята в печать 21.11.2022

В наших предыдущих работах на примере точно решаемой модели была продемонстрирована справедливость применения реакционного оператора в основном уравнении спиновой химии. Однако в этих работах была рассмотрена только рекомбинация из синглетного состояния. Хотя общие соотношения позволяли рассмотреть общий случай. В настоящей работе такой общий случай проанализирован. Радикальная пара вступает в контакт в смешанном синглет-триплетном состоянии, и рекомбинация идет как из синглетного, так и из триплетного состояния. Полученный результат полностью соответствует основному уравнению спиновой химии.

Ключевые слова: синглет-триплетные переходы, радикальная пара, рекомбинация, матрица плотности, проекционный оператор, спин-гамильтониан.

DOI: 10.31857/S0207401X24020016 EDN: WJASAT

ВВЕДЕНИЕ

Спиновая химия, изучающая поведение электронных и ядерных спинов и проявление магнитно-спиновых взаимодействий в химических реакциях, хорошо развита как экспериментально, так и теоретически [1–8]. Чаще всего в спиновой химии исследуются реакции радикальных пар (РП) в жидких растворах.

Для одновременного рассмотрения молекулярного движения и спиновой динамики РП используют метод матрицы плотности [1, 3]. Временная эволюция матрицы плотности может быть вызвана спиновой эволюцией неспаренных электронов, относительным движением реагентов и рекомбинацией радикалов:

$$\frac{\partial \rho(\mathbf{q}, t)}{\partial t} = \left(\frac{\partial \rho(\mathbf{q}, t)}{\partial t} \right)_{sp} + \left(\frac{\partial \rho(\mathbf{q}, t)}{\partial t} \right)_{kinem} + \left(\frac{\partial \rho(\mathbf{q}, t)}{\partial t} \right)_{react}. \quad (1)$$

Обычно это соотношение используют в форме стохастического уравнения Лиувилля:

$$\frac{\partial \rho(\mathbf{q}, t)}{\partial t} = i\hbar [\rho(\mathbf{q}, t), \hat{H}(\mathbf{q})] + \hat{L}(\mathbf{q})\rho(\mathbf{q}, t) - \frac{1}{2} \sum_i K_i(\mathbf{q}) (\hat{P}_i \rho(\mathbf{q}, t) + \rho(\mathbf{q}, t) \hat{P}_i), \quad (2)$$

с начальным условием $\rho(\mathbf{q}, 0) = \rho_0(\mathbf{q})$, где $\hat{L}(\mathbf{q})$ — дивергенция оператора кинематического потока $\mathbf{j}(\mathbf{q})$, $K_i(\mathbf{q})$ — константа скорости рекомбинации i -го состояния, P_i — оператор проектирования на i -тое состояние. Уравнение (2) часто называют основным уравнением спиновой химии.

Обычно рекомбинация радикальных пар происходит при непосредственном контакте радикалов, когда перекрывание орбиталей неспаренных электронов велико, а синглет-триплетные переходы осуществляются в промежутках между повторными контактами, когда обменное взаимодействие, наоборот, мало. В этом случае выражение для изменения матрицы плотности за счет реакции можно записать в виде

$$\left(\frac{\partial \rho}{\partial t} \right)_{react} = -\frac{K_S}{2} (Q_S \rho + \rho Q_S) - \frac{K_T}{2} (Q_T \rho + \rho Q_T), \quad (3)$$

где K_S и K_T — константы скорости рекомбинации из синглетного и триплетного состояний соответственно. Матрица плотности определена в базисе синглетных и триплетных спиновых функций $\{|S\rangle, |T_0\rangle, |T_-\rangle, |T_+\rangle\}$:

$$Q_S = |S\rangle\langle S|, \quad Q_T = |T_0\rangle\langle T_0| + |T_-\rangle\langle T_-| + |T_+\rangle\langle T_+|. \quad (4)$$

Из синглетного состояния рекомбинация идет со скоростью K_S , из триплетного — со скоростью K_T , недиагональные элементы рекомбинируют со скоростью $(K_S + K_T)/2$. Однако следует ожидать дополнительного изменения недиагональных элементов в реакционной зоне за счет разного набега фазы в синглетном и триплетном состояниях радикальной пары, обусловленного, например, обменным взаимодействием [1].

Обоснованию уравнения (3) мы посвятили работы [9–11]. В этих работах на основе точно решаемой модели была показана справедливость феноменологического подхода для описания процесса рекомбинации. Однако в этих работах мы не рассматривали случай реакции одновременно из синглетного и триплетного состояний. Также мы не рассматривали более общий подход, когда начальное состояние является комбинацией синглетного и триплетного состояний. В настоящей работе такое обобщение сделано. Поскольку это обобщение опирается на результаты работ [9–11], то мы кратко повторим необходимую результативную часть этих работ. Необходимо кратко напомнить постановку задачи и результаты в рамках точно решаемой модели.

РЕЗУЛЬТАТЫ ТОЧНО РЕШАЕМОЙ МОДЕЛИ

Рассмотрим систему, включающую синглетное и одно триплетное состояния, между которыми возможны переходы. Синглетное состояние связано переходами с синглетным рекомбинационным резервуаром, а триплетное — переходами с триплетным резервуаром

Пусть $\hat{H}$ — полный спин-гамильтониан системы. Эволюция системы происходит в соответствии с уравнением Шредингера ($\hbar = 1$)

$$i \frac{\partial \psi(t)}{\partial t} = \hat{H} \psi(t). \quad (5)$$

Задача состоит в отыскании вероятности системы оказаться в том или ином состоянии. Например, вероятность оказаться в момент времени t в синглетном состоянии выражается через коэффициент $\langle S | \psi(t) \rangle$, а вероятность оказаться в триплетном состоянии — через коэффициент $\langle T | \psi(t) \rangle$. Совершая преобразование Лапласа, получим

$$-i\psi(0) + ik\varphi(k) = \hat{H}\varphi(k), \quad (6)$$

где

$$\varphi(k) = \int_0^\infty \psi(t) \exp(-kt) dt \quad (7)$$

— преобразование Лапласа для волновой функции $\psi(t)$, а $\psi(0)$ — волновая функция системы в начальный момент времени. Из (6) получим

$$\varphi(k) = i(ik - \hat{H})^{-1} \psi(0). \quad (8)$$

Предположим для определенности, что в начальный момент времени система находилась в смешанном состоянии, т.е. $\psi(0) = c_1 |S\rangle + c_2 |T\rangle$. Соответствующая этому состоянию начальная матрица плотности имеет вид

$$\rho(0) = c_1 c_1^* |S\rangle \langle S| + c_1 c_2^* |S\rangle \langle T| + c_1^* c_2 |T\rangle \langle S| + c_2 c_2^* |T\rangle \langle T|.$$

Искомые величины будут выражаться через обратные преобразования Лапласа от коэффициентов $\langle S | \varphi(k) \rangle$ и $\langle T | \varphi(k) \rangle$:

$$\begin{aligned} \langle S | \varphi(k) \rangle &= ic_1 \langle S | (ik - \hat{H})^{-1} | S \rangle + ic_2 \langle S | (ik - \hat{H})^{-1} | T \rangle, \\ \langle T | \varphi(k) \rangle &= ic_1 \langle T | (ik - \hat{H})^{-1} | S \rangle + ic_2 \langle T | (ik - \hat{H})^{-1} | T \rangle. \end{aligned} \quad (9)$$

Оператор $\hat{G}(z) = (z - \hat{H})^{-1}$ носит название функции Грина или резольвенты квантовой системы. Если гамильтониан представлен в виде $\hat{H} = \hat{H}_0 + \hat{V}$, то функции Грина $\hat{G}(z)$ и $\hat{G}_0(z)$ связаны формулой Дайсона [12, 13]:

$$\begin{aligned} \hat{G}(z) &= \hat{G}_0(z) + \hat{G}_0(z) \hat{V} \hat{G}(z), \\ \hat{G}(z) &= (1 - \hat{G}_0(z) \hat{V})^{-1} \hat{G}_0(z). \end{aligned} \quad (10)$$

Спектральное представление функции Грина известно [13, 14]:

$$\hat{G}(z) = \sum_n \frac{|n\rangle \langle n|}{z - E_n}, \quad (11)$$

где $|n\rangle$ — собственные функции гамильтониана $\hat{H}$, а E_n — собственные значения. При этом функции $|n\rangle$ образуют полный набор

$$\sum_n |n\rangle \langle n| = 1. \quad (12)$$

Далее будем считать, что энергетические уровни в схеме (см. рис. 1 в работе [9]) являются собственными функциями гамильтониана $\hat{H}_0$:

$$\begin{aligned} \hat{H}_0 |S\rangle &= E_S |S\rangle, \\ \hat{H}_0 |T\rangle &= E_T |T\rangle, \\ \hat{H}_0 |i\rangle &= E_i |i\rangle, \\ \hat{H}_0 |k\rangle &= E_k |k\rangle. \end{aligned} \quad (13)$$

Возмущение $\hat{V}$ расщепляет синглетное и триплетное состояния и может вызывать переходы между синглетным и триплетным состояниями, а также переходы из синглета в состояния $|i\rangle$ синглетного резервуара, а из триплета — в состояния $|k\rangle$ триплетного резервуара.

Функция Грина для гамильтониана $\hat{H}_0$ записывается в виде

$$\hat{G}_0(z) = \frac{|S\rangle\langle S|}{z - E_S} + \frac{|T\rangle\langle T|}{z - E_T} + \sum_k \frac{|k\rangle\langle k|}{z - E_k} + \sum_i \frac{|i\rangle\langle i|}{z - E_i}. \quad (14)$$

После ряда сравнительно простых преобразований получим выражения для искомых величин:

$$\begin{aligned} \langle S|\hat{G}(z)|S\rangle &= \frac{\left(z - E_T - \sum_k \frac{\langle T|\hat{V}|k\rangle\langle k|\hat{V}|T\rangle}{z - E_k}\right)}{\left(z - E_S - \sum_i \frac{\langle S|\hat{V}|i\rangle\langle i|\hat{V}|S\rangle}{z - E_i}\right)\left(z - E_T - \sum_k \frac{\langle T|\hat{V}|k\rangle\langle k|\hat{V}|T\rangle}{z - E_k}\right) - \langle S|\hat{V}|T\rangle\langle T|\hat{V}|S\rangle}, \\ \langle S|\hat{G}(z)|T\rangle &= \frac{\langle S|\hat{V}|T\rangle}{\left(z - E_S - \sum_i \frac{\langle S|\hat{V}|i\rangle\langle i|\hat{V}|S\rangle}{z - E_i}\right)\left(z - E_T - \sum_k \frac{\langle T|\hat{V}|k\rangle\langle k|\hat{V}|T\rangle}{z - E_k}\right) - \langle S|\hat{V}|T\rangle\langle T|\hat{V}|S\rangle}, \\ \langle T|\hat{G}(z)|T\rangle &= \frac{\left(z - E_S - \sum_i \frac{\langle S|\hat{V}|i\rangle\langle i|\hat{V}|S\rangle}{z - E_i}\right)}{\left(z - E_S - \sum_i \frac{\langle S|\hat{V}|i\rangle\langle i|\hat{V}|S\rangle}{z - E_i}\right)\left(z - E_T - \sum_k \frac{\langle T|\hat{V}|k\rangle\langle k|\hat{V}|T\rangle}{z - E_k}\right) - \langle S|\hat{V}|T\rangle\langle T|\hat{V}|S\rangle}, \\ \langle T|\hat{G}(z)|S\rangle &= \frac{\langle T|\hat{V}|S\rangle}{\left(z - E_S - \sum_i \frac{\langle S|\hat{V}|i\rangle\langle i|\hat{V}|S\rangle}{z - E_i}\right)\left(z - E_T - \sum_k \frac{\langle T|\hat{V}|k\rangle\langle k|\hat{V}|T\rangle}{z - E_k}\right) - \langle S|\hat{V}|T\rangle\langle T|\hat{V}|S\rangle}. \end{aligned} \quad (15)$$

Для плотного спектра синглетного и триплетного резервуара можно перейти от суммирования к интегрированию:

$$\begin{aligned} \sum_i \frac{\langle S|\hat{V}|i\rangle\langle i|\hat{V}|S\rangle}{z - E_i} &\rightarrow \int \rho_S(E) \frac{|V_S(E)|^2}{z - E} dE = P \int \rho_S(E) \frac{|V_S(E)|^2}{z - E} dE - i\pi \rho_S(z) |V_S(z)|^2, \\ \sum_k \frac{\langle T|\hat{V}|k\rangle\langle k|\hat{V}|T\rangle}{z - E_k} &\rightarrow \int \rho_T(E) \frac{|V_T(E)|^2}{z - E} dE = P \int \rho_T(E) \frac{|V_T(E)|^2}{z - E} dE - i\pi \rho_T(z) |V_T(z)|^2, \end{aligned} \quad (16)$$

здесь знак P означает взятие интеграла в смысле главного значения, $\rho_S(E)$ и $\rho_T(E)$ — плотности энергетических уровней синглетного и триплетного резервуара. Рассмотрим наиболее простой случай, когда матричные элементы и плотности уровней не зависят от E . В этом случае получаем

$$\begin{aligned} \langle S|\hat{G}(z)|S\rangle &= \frac{(z - E_T + i\pi\rho_T|V_T|^2)}{(z - E_S + i\pi\rho_S|V_S|^2)(z - E_T + i\pi\rho_T|V_T|^2) - |V_{ST}|^2}, \\ \langle S|\hat{G}(z)|T\rangle &= \frac{V_{ST}}{(z - E_S + i\pi\rho_S|V_S|^2)(z - E_T + i\pi\rho_T|V_T|^2) - |V_{ST}|^2}, \\ \langle T|\hat{G}(z)|T\rangle &= \frac{(z - E_S + i\pi\rho_S|V_S|^2)}{(z - E_S + i\pi\rho_S|V_S|^2)(z - E_T + i\pi\rho_T|V_T|^2) - |V_{ST}|^2}, \\ \langle T|\hat{G}(z)|S\rangle &= \frac{V_{TS}}{(z - E_S + i\pi\rho_S|V_S|^2)(z - E_T + i\pi\rho_T|V_T|^2) - |V_{ST}|^2}. \end{aligned} \quad (17)$$

Введем обозначения:

$$2\pi\rho_S|V_S|^2 \equiv K_S, \quad 2\pi\rho_T|V_T|^2 \equiv K_T. \quad (18)$$

Величины K_S и K_T имеют смысл констант перехода системы в синглетный и триплетный резервуар. После подстановки (18) в (17) получим

$$\begin{aligned} \langle S | \hat{G}(z) | S \rangle &= \\ &= \frac{(z - E_T + iK_T/2)}{(z - E_S + iK_S/2)(z - E_T + iK_T/2) - |V_{ST}|^2}, \\ \langle S | \hat{G}(z) | T \rangle &= \\ &= \frac{V_{ST}}{(z - E_S + iK_S/2)(z - E_T + iK_T/2) - |V_{ST}|^2}, \quad (19) \\ \langle T | \hat{G}(z) | T \rangle &= \\ &= \frac{(z - E_S + iK_S/2)}{(z - E_S + iK_S/2)(z - E_T + iK_T/2) - |V_{ST}|^2}, \\ \langle T | \hat{G}(z) | S \rangle &= \\ &= \frac{V_{TS}}{(z - E_S + iK_S/2)(z - E_T + iK_T/2) - |V_{ST}|^2}. \end{aligned}$$

РЕКОМБИНАЦИЯ ИЗ СИНГЛЕТНОГО И ТРИПЛЕТНОГО СОСТОЯНИЙ

Рассмотрим ситуацию, когда синглетное и триплетное состояния отличаются по энергии, т.е. $E_S + V = E_T$. Такое расщепление может быть обусловлено, например, обменным взаимодействием. Кроме того, для упрощения можно исключить синглет-триплетные переходы в зоне рекомбинации, т.е. положим $V_{ST} = 0$. Тогда формулы (19) сильно упрощаются:

$$\begin{aligned} \langle S | \hat{G}(z) | S \rangle &= \frac{1}{(z - E_S + iK_S/2)}, \quad \langle S | \hat{G}(z) | T \rangle = 0, \\ \langle T | \hat{G}(z) | T \rangle &= \frac{1}{(z - E_T + iK_T/2)}, \quad \langle T | \hat{G}(z) | S \rangle = 0. \end{aligned} \quad (20)$$

Совершая обратное преобразование Лапласа, получим выражение волновой функции в произвольный момент времени:

$$\begin{aligned} \psi(0) &= c_1 \exp(-K_S/2 - iE_S) |S\rangle + \\ &+ c_2 \exp(-K_T/2 - iE_T) |T\rangle. \end{aligned} \quad (21)$$

Затем находим матрицу плотности в произвольный момент времени:

$$\begin{aligned} \rho(t) &= c_1 c_1^* \exp(-K_S) |S\rangle \langle S| + \\ &+ c_1 c_2^* \exp\left(-\frac{K_S + K_T}{2} + iV\right) |S\rangle \langle T| + \\ &+ c_1^* c_2 \exp\left(-\frac{K_S + K_T}{2} - iV\right) |T\rangle \langle S| + \\ &+ c_2 c_2^* \exp(-K_T) |T\rangle \langle T|. \end{aligned} \quad (22)$$

Полученный результат полностью соответствует феноменологической модели рекомбинации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С момента основания спиновой химии было сформулировано феноменологическое уравнение (основное уравнение спиновой химии), описывающее эволюцию радикальной пары. К сожалению, процесс образования молекулы из двух радикалов до сих пор не получил детального микроскопического описания, и рекомбинация радикалов описывается феноменологически. Основное уравнение широко применяется для описания магнитно-спиновых эффектов. Однако в литературе предпринимались и предпринимаются попытки модификации основного уравнения. Например, в работе [15] было предложен следующий вид реакционного оператора ($K_T = 0$):

$$\left(\frac{\partial \rho}{\partial t} \right)_{\text{react}} = -\frac{K_S}{2} (\rho_S \rho + \rho \rho_S - 2\rho_S \rho \rho_S). \quad (23)$$

В статье [16] предложен несколько другой вариант:

$$\left(\frac{\partial \rho}{\partial t} \right)_{\text{react}} = -K_S (2\rho_S \rho + 2\rho \rho_S - 2\rho_S \rho \rho_S). \quad (24)$$

В наших предыдущих работах на примере точно решаемой модели была продемонстрирована справедливость уравнения (3). Однако в этих работах была рассмотрена только рекомбинация из синглетного состояния. Хотя общие соотношения позволяли рассмотреть общий случай. В настоящей работе такой общий случай проанализирован. Радикальная пара вступает в контакт в смешанном синглет-триплетном состоянии и рекомбинация идет как из синглетного, так и из триплетного состояния. Полученный результат полностью согласуется с результатами феноменологической модели.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Salikhov K.M., Molin Yu.N., Sagdeev R.Z., Buchachenko A.L. // Spin Polarization and Magnetic Effects in Radical Reactions. Ed. Molin Yu.N. Amsterdam: Elsevier, 1984.
2. Polyakov N.E., Purtov P.A., Leshina T.V., Salikhov K.M., Sagdeev R.Z. // Chem. Phys. Lett. 1986. V. 129. № 4. P. 357.
3. Steiner U.E., Ulrich T. // Chem. Rev. 1989. V. 89. P. 51.
4. Purtov P.A., Doktorov A.B. // Chem. Phys. 1993. V. 178. P. 47.

5. *Fedin M.V., Bagryanskaya E.G., Purtov P.A.* // J. Chem. Phys. 1999. V. 111. № 11. P. 5491.
6. *Bagryanskaya E., Yashiro H., Fedin M., Purtov P., Forbes M.D.E.* // J. Phys. Chem. A. 2002. V. 106. P. 2820.
7. *Kipriyanov Jr. A.A., Purtov P.A.* // J. Chem. Phys. 2011. V. 134. 044518.
8. *Magin I.M., Polyakov N.E., Kruppa A.I. et al.* // Phys. Chem. Chem. Phys. 2016. V.18. P. 901.
9. *Purtov P.A.* // Chem. Phys. Lett. 2010. V. 496. P. 335.
10. *Sosnovsky D.V., Purtov P.A.* // Chem. Phys. Lett. 2014. V. 608. P. 136.
11. *Purtov P.A.* // Zeitschrift fur Physikalische Chemie. 2017. V. 231. P. 225.
12. *Facchi P., Pascazio S.* // Fortschr. Phys. 2001. V. 49. P.941.
13. *Harris A.* // J. Chem. Phys. 1963. V. 39. P. 978.
14. *Mover L.* // Phys. Rev. 1966. V. 142. P. 799.
15. *Kominis I.K.* // Phys. Rev. E. 2009. V. 80. 056115.
16. *Jones J.A., Hore P.J.* // Chem. Phys. Lett. 2010. V. 488. P. 90.

REACTION OPERATOR IN THE MAIN EQUATION OF SPIN CHEMISTRY

P. A. Purtov^{1,2*}

¹*Voevodsky Institute of Chemical Kinetics and Combustion, Siberian Branch,
Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

²*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

*E-mail: purtov@kinetics.nsc.ru

In our previous works, using an exactly solvable model as an example, we demonstrated the validity of the reaction operator in the basic equation of spin chemistry. However, in these works, only recombination from the singlet state was considered. Although the general relations allowed us to consider the general case. In the present paper, such a general case is analyzed. The radical pair comes into contact in a mixed singlet-triplet state, and recombination proceeds from both the singlet and triplet states. The result obtained fully corresponds to the basic equation of spin chemistry.

Keywords: singlet-triplet transitions, radical pair, recombination, density matrix, projection operator, spin Hamiltonian.

REFERENCES

1. Salikhov K.M., Molin Yu.N., Sagdeev R.Z., Buchachenko A.L. // Spin Polarization and Magnetic Effects in Radical Reactions. Ed. Yu.N. Molin. Elsevier. Amsterdam. 1984.
2. Polyakov N.E., Purtov P.A., Leshina T.V., Salikhov K.M., Sagdeev R.Z. // Chem. Phys. Letters. 1986. V. 129. № 4. P. 357.
3. Steiner U.E., Ulrich T. // Chem. Rev. 1989. V. 89. P. 51
4. Purtov P.A., Doktorov A.B. Chem. Phys. // 1993. V. 178. P. 47.
5. Fedin M.V., Bagryanskaya E.G., P.A. Purtov P.A. // J. Chem. Phys. 1999. V.111, № 11. P. 5491.
6. Bagryanskaya E., Yashiro H., Fedin M., Purtov P., Forbes M.D.E. // J. Phys. Chem. A. 2002. V. 106. P. 2820.
7. Kipriyanov Jr. A.A., Purtov P.A. // J. Chem. Phys. 2011. V. 134. 044518.
8. Magin I.M., Polyakov N.E., Kruppa A.I., Purtov P.A., Leshina T.V., Kiryutin A.S., Miranda M.A., Nuin E. and Marin M.L. // Phys. Chem. Chem. Phys. 2016. V.18. P. 901.
9. Purtov P.A. // Chem. Phys. Letters. 2010. V. 496. P. 335.
10. Sosnovsky D.V., Purtov P.A. // Chem. Phys. Letters. 2014. V. 608. P. 136
11. Purtov P.A. // Zeitschrift fur Physikalische Chemie. 2017. V. 231. P. 225.
12. Facchi P., Pascazio S. // Fortschr. Phys. 2001. V. 49. P. 941.
13. Harris A. // J. Chem. Phys. 1963. V. 39. P. 978.
14. Mover L. // Phys. Rev. 1966. V. 142. P. 799.
15. Kominis I.K. // Phys. Rev. E. 2009. V. 80. 056115.
16. Jones J.A., Hore P.J. // Chem. Phys. Letters. 2010. V. 488. P. 90.

УДК 535.36

ВЛИЯНИЕ ИЗЛУЧЕНИЯ ТЕРАГЕРЦОВОГО ДИАПАЗОНА НА ТРАНСПОРТНЫЕ СВОЙСТВА АЛЬБУМИНА: СВЯЗЫВАНИЕ С ИОНАМИ МЕТАЛЛОВ

© 2024 г. Е. Ф. Немова^{1*}, Т. В. Кобзева², Г. Г. Дульцева²

¹Институт лазерной физики Сибирского отделения
Российской академии наук, Новосибирск, Россия

²Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского Сибирского отделения
Российской академии наук, Новосибирск, Россия

*E-mail: endy.endy@gmail.com

Поступила в редакцию 28.10.2022;

после доработки 16.11.2022;

принята в печать 21.11.2022

Методами высокоэффективной жидкостной хроматографии и ЭПР-спектроскопии исследовано влияние облучения пленочных препаратов бычьего сывороточного альбумина (БСА) излучением терагерцового диапазона на образование кластеров молекул БСА и связывание ионов кобальта, никеля и кадмия с молекулами БСА при различных концентрациях кислорода в растворе. Обнаружено, что облучение приводит к частичному снятию стерических затруднений для адсорбции кислорода. Степени связывания ионов кобальта и никеля с облученными образцами БСА существенно выше, чем с необлученными, тогда как для кадмия степень связывания в обоих случаях мала. С помощью моделирования выявлены функциональные группы в молекуле БСА, участвующие в связывании ионов металлов.

Ключевые слова: излучение терагерцового диапазона, бычий сывороточный альбумин, комплексообразование, ионы металлов, ЭПР-спектроскопия.

DOI: 10.31857/S0207401X24020022 EDN: WIZMVW

ВВЕДЕНИЕ

В терагерцовом диапазоне частот (0.1–10 ТГц) кванты электромагнитного излучения не обладают энергией достаточной для того, чтобы вызывать разрывы валентных и даже слабых водородных связей. Известно, что к этой области спектра относятся частоты коллективных колебательно-вращательных переходов в молекулах многих биополимеров. Поэтому можно предполагать, что влияние излучения терагерцового диапазона (далее — ТГц-излучение) на биологические системы, многочисленные примеры которого описаны в литературе на уровне клеточных культур [1] и целых организмов [2, 3], на молекулярном уровне основано именно на инициировании конформационных изменений, связанных с такими колебательно-вращательными переходами [4]. Могут ли эти конформационные изменения иметь какие-либо химические последствия? Фундаментального запрета в этом случае нет: например, известно, что энергии магнитного поля недостаточно для разрыва химических связей, хотя под его влиянием становятся возможными некоторые

взаимодействия, которые в отсутствие магнитного поля невозможны вследствие спиновых запретов.

Для непосредственного наблюдения химических последствий конформационных переходов под действием ТГц-излучения могла бы подойти, например, система, в которой химическим процессам предшествует стерически затрудненное адсорбционное взаимодействие, так что индуцируемое излучением изменение конформаций приводит к усилению или ослаблению стерических затруднений с соответствующим ускорением или замедлением процесса в целом. Экспериментальные трудности в исследовании таких систем связаны с необходимостью доказательства нетермической природы воздействия или, наоборот, выявления термического фактора, что часто бывает сопряжено с невысокой статистической достоверностью. О проблемах воспроизводимости, достоверности результатов в этой области и возможных путях решения этих проблем недавно высказались в обзорной статье авторы работы [5].

Необходимость применения в биомедицинских исследованиях не постоянного, а импульсного

ТГц-излучения, причем в форме ультракоротких импульсов (до пикосекунд), связана с возможностью избежать в этом случае термических эффектов. Например, авторы работы [6] описали нетермические эффекты, связанные с экстремально большими амплитудами электрического поля, при исследовании воздействия высокоинтенсивного ТГц-излучения на фибробласты человеческой кожи. Доказательства нетермической природы эффектов, наблюдавшихся в исследовании действия ТГц-излучения на биологические объекты, в том числе на культуры клеток человека, представлены также в работах [7, 8].

Между тем исследования в области медицинских применений ТГц-излучения, в частности в диагностике рака [9–11], детектировании биомолекул [12, 13], распознавании вирусов [14] продолжают развиваться независимо от исследований молекулярной природы наблюдаемых эффектов. Параллельно с биомедицинскими исследованиями идет изучение структурных изменений в биомолекулах под действием ТГц-излучения, например, недавно авторами работы [15] были описаны изменения структуры растворов белков, в работе [16] изучено влияние облучения на связывание белков, авторы работы [17] исследовали водородные связи при помощи спектроскопии в терагерцовом диапазоне. Ранее при исследовании молекулярных механизмов взаимодействия ТГц-излучения с биополимерами на примере альбумина нами было обнаружено, что под действием излучения происходит усиление адсорбции молекулярного кислорода и ослабление адсорбции оксида азота NO на молекулах бычьего сывороточного альбумина (БСА) [18]. Биологическое значение адсорбции разнообразных веществ на молекулах альбумина заключается в том, что этот механизм обеспечивает одну из важнейших функций альбумина в организме — транспортную. Цели нового исследования — выявить влияние ТГц-излучения на возможность образования кластеров молекулами БСА, разработать методические подходы к исследованию изменения связывания ионов металлов с БСА под действием ТГц-излучения, изучить влияние облучения на транспортные свойства альбумина по отношению к ионам металлов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании применялись реагенты квалификации “х.ч.”: метанол и ацетонитрил (элюенты для хроматографии), трифторуксусная кислота (реагент для ион-парной хроматографии), нитраты кобальта и никеля, нитрат кадмия (соли перед приготовлением растворов дополнительно очищали методом перекристаллизации).

Исследование проводили с лиофилизированными препаратами БСА (Sigma-Aldrich, USA). В качестве образцов для облучения использовали пленочные препараты, которые готовили из раствора БСА в дистиллированной воде с концентрацией 1 мг/мл. На подложки из кристаллического кварца наносили каплю (50 мкл). Затем с помощью покровного стекла равномерно распределяли нанесенную каплю по поверхности подложки и высушивали образец в потоке воздуха при комнатной температуре в течение 1 ч и влажности не выше 40%. Для каждого измерения готовили два идентичных образца: облучаемый и контрольный (необлучаемый). Образцы хранили в эксикаторе над безводным силикагелем.

Облучение приготовленных образцов проводили с использованием установки, показанной на рис. 1 и описанной ранее в работе [18]. Подложку с экспериментальным образцом помещали в фокус ТГц-излучения, как показано на рис. 1, при этом контрольный образец находился в открытом контейнере рядом, но вне зоны облучения. Облучение проводилось в диапазоне частот 0.3–1.5 ТГц в импульсном режиме (частота следования импульсов — 80 МГц, пиковая мощность <20 мВт, длительность импульса — 3 пс). Температура образца во время облучения составляла 21 ± 101 °С, время облучения — 60 мин.

Спектры ЭПР записывали в стандартной плоской кварцевой ампуле для водных растворов на спектрометре серии EMX (Bruker, Germany): амплитуда модуляции Germany — 1 Гс, микроволновая мощность — не более 10 мВт, постоянная времени — 0.2 с, усиление — до $5.6 \cdot 10^5$, скорость развертки — 100 Гс/200 с. Точность определения констант сверхтонкого расщепления составляла 0.03 Гс, g -фактор измеряли с точностью до 10^{-4} . Количественные оценки содержания парамагнитных частиц в растворе проводили с помощью внешнего стандарта интенсивности (крис-

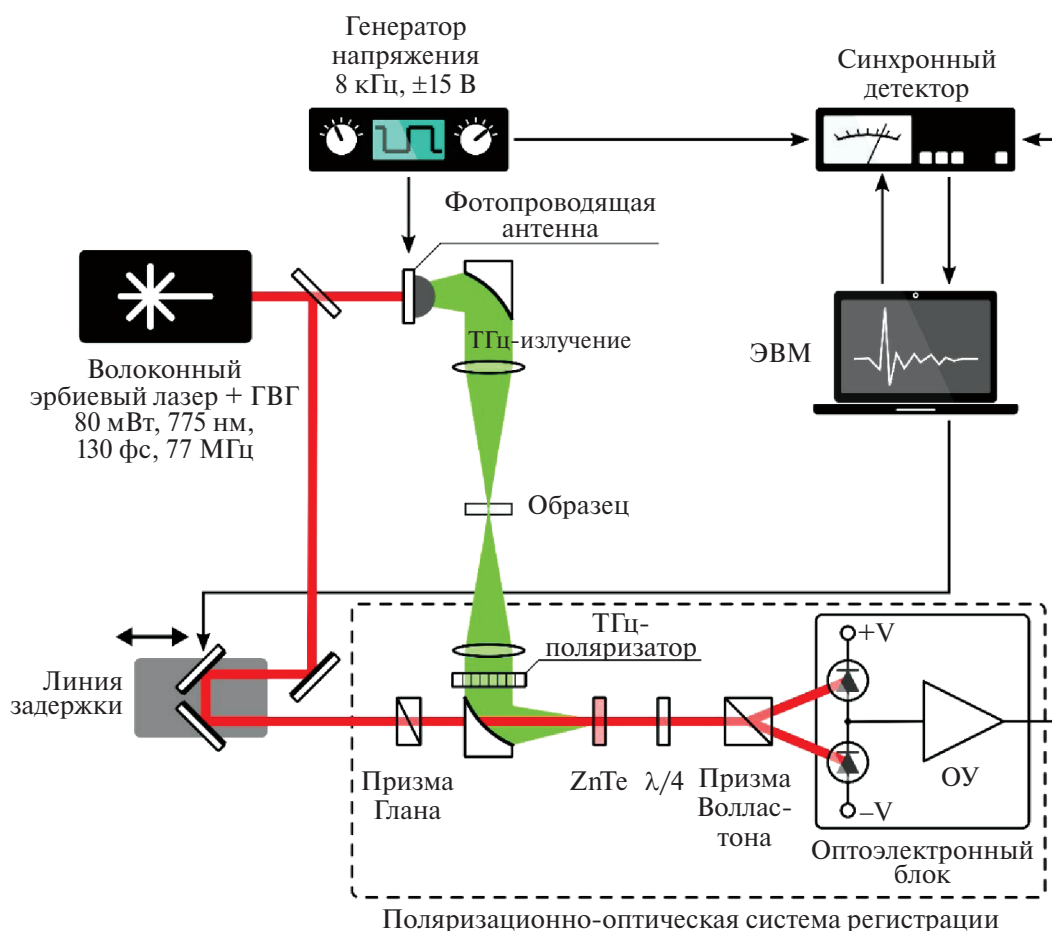


Рис. 1. Схема установки для облучения пленочных образцов БСА. Для генерации и детектирования ТГц-излучения используются импульсы второй гармоники волоконного эрбиевого лазера (длина волны излучения — 775 нм, длительность импульса — 130 фс, частота следования импульсов — 77 МГц, средняя мощность — 80 мВт). Для преобразования лазерного излучения в ТГц-излучение используется фотопроводящая антенна с арсенидом галлия. Система регистрации состоит из кристалла-детектора ZnTe ориентации (110) толщиной 1 мм, четвертьволновой пластинки, призмы Волластона, фотодиодов, операционного усилителя (ОУ) и синхронного детектора.

талл дифенилпикрилгидразида, прикрепленный снаружи к плоской кварцевой ампуле).

Хроматографическое исследование проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием хроматографа модели Милихром А-02 (Эконова, Новосибирск) с детектором по УФ-поглощению в интервале длин волн 200–360 нм. Детектирование осуществляли в режиме записи спектра поглощения на вершине хроматографического пика с целью одновременного получения спектрофотометрической информации. Использовалась стандартная хроматографическая колонка длиной 75 мм, заполненная обращенно-фазным сорбентом ProntoSil C18 (5 мкм). Колонку термостатировали при 35 °С. Хроматограммы записывали в градиентном режиме (вода с метанолом — от 0 до 20%) и в режиме ион-парной хроматографии в элюенте

ацетонитрил/вода (1 : 3 по объему) с трифторуксусной кислотой (0.1 мас. %). Градиентный режим использовался для идентификации кластеров БСА, в котором молекулы удерживались вместе за счет межмолекулярного связывания через азотсодержащие группы. Условия проведения хроматографического исследования: объем пробы, вводимой в хроматограф, — 20 мкл, скорость элюирования — 150 мкл/мин, детектирование — на длинах волн 210 и 276 нм. Хроматограммы обрабатывали с помощью программы АльфаСпектр (Эконова, Новосибирск). Структуру реакционных центров БСА при взаимодействии с ионами металлов и энергетические выигрыши при образовании комплексов с ионами металлов рассчитывали с использованием полуэмпирических методов MNDO, PM3, AM1, и метода молекулярной

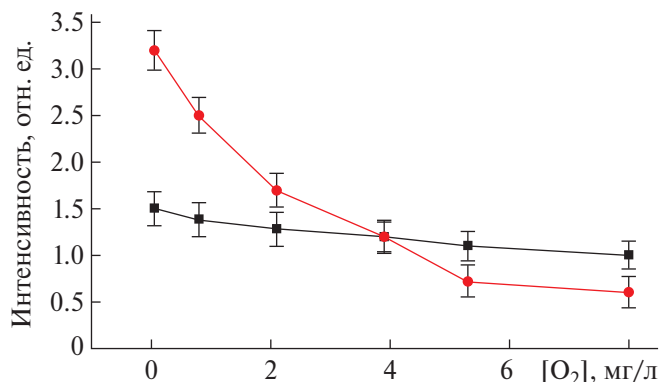


Рис. 2. Зависимость интегральной интенсивности триплетного сигнала малой интенсивности, связанного с кластерами БСА, от содержания кислорода в растворе по данным ЭПР-спектроскопии: кружки — облученный образец, квадраты — необлученный.

механики MM2 с помощью программы CS Chem 3D Pro версия 5.0 (Cambridge Soft Corp., UK).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

ЭПР-спектроскопия

Ранее нами было показано, что молекулярный кислород взаимодействует с адсорбционными центрами молекулы БСА, причем степень адсорбции различна для облученных и необлученных образцов [18]. Чтобы установить другие возможные взаимодействия, протекающие в водном растворе БСА, было проведено исследование этого раствора методами ЭПР и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Образование кластеров молекул БСА соответствовало появлению в ЭПР-спектрах сигнала малой интенсивности в виде триплета с константой сверхтонкого взаимодействия (СТВ) $a_N = 0.94$ мТл, причем этот сигнал виден на фоне более интенсивного сигнала триплетной формы с $a_N = 1.47$ мТл, который характеризует парамагнитные центры в молекуле БСА в данных условиях. Поскольку значение константы СТВ в сигнале малой интенсивности существенно меньше, чем значение СТВ основного интенсивного сигнала, можно предположить, что структурные изменения при образовании кластера затрагивают атомы азота, так как появление сигнала триплетной формы в ЭПР-спектре связано с взаимодействием неспаренного электрона с ядром атома азота.

В ЭПР-спектре образца БСА ширина линии интенсивного триплета больше у облученного образца по сравнению с необлученным, а ширина

линии сигнала малой интенсивности, наоборот, меньше у облученного образца. Известно, что в ЭПР-спектрах ширина линии увеличивается с уменьшением подвижности парамагнитного центра, а с увеличением подвижности, наоборот, ширина линии уменьшается за счет более эффективного усреднения. Таким образом, результаты ЭПР-исследования показывают, что подвижность парамагнитных центров, отвечающих за сильный и слабый сигналы, соответственно уменьшается и увеличивается под действием облучения в терагерцовом диапазоне частот.

Поскольку кислород эффективно связывается с адсорбционными центрами в молекуле БСА, было проведено исследование зависимости процесса образования димеров от содержания кислорода в растворе. Кислород удаляли, пропуская аргон через раствор БСА в течение 30 мин. В определенные моменты времени по мере удаления кислорода его содержание в растворе определяли методом иодометрического титрования. Интенсивности ЭПР-сигналов, относящихся к образованию димеров, сопоставляли с содержанием кислорода в растворе для облученных и необлученных образцов БСА. Зависимость интегральной интенсивности триплетного сигнала малой интенсивности от содержания кислорода показана на рис. 2. Из этого рисунка видно, что при низком содержании кислорода интегральная интенсивность этого сигнала у облученных образцов в 2.4 раза выше, чем у необлученных, а при высоком содержании кислорода, наоборот, у облученных образцов интенсивность триплетного сигнала малой интенсивности ниже, чем у необлученных.

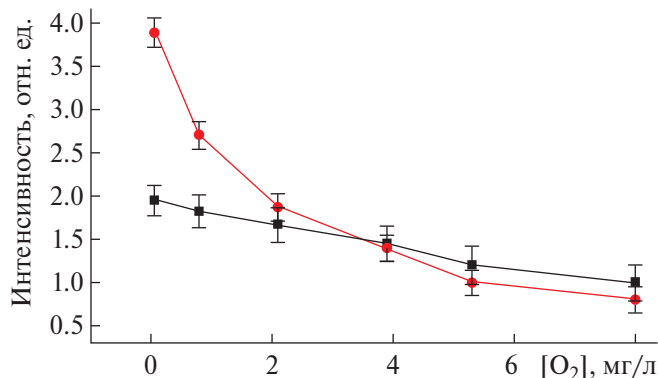


Рис. 3. Зависимость содержания димеров БСА (относительно их содержания в необлученном растворе с максимальным содержанием кислорода) от концентрации кислорода в растворе по данным высокоэффективной жидкостной хроматографии: кружки — облученный образец, квадраты — необлученный.

Хроматография

Для проверки предположения о том, что сигнал малой интенсивности связан с образованием кластеров молекул БСА, было проведено хроматографическое исследование растворов БСА в зависимости от содержания кислорода в них. На хроматограммах присутствовали два пика, отличающиеся интенсивностью и временами удерживания, но характеризующиеся одинаковыми спектрами поглощения. При разбавлении раствора наблюдалось возрастание интенсивности первого пика (время удерживания — 16.6 мин) и убывание интенсивности второго (время удерживания — 24.2 мин). Этот факт косвенно подтверждает предположение о существовании в растворе БСА димеров, основанное на данных ЭПР-спектроскопии. Кривая зависимости содержания димеров от концентрации кислорода по данным хроматографических исследований облученного и необлученного образцов БСА представлена на рис. 3. Сравнение с кривыми, приведенными на рис. 2, показывает, что результаты, полученные методом ВЭЖХ, качественно соответствуют данным ЭПР-спектроскопии.

Образование комплексов с ионами металлов

В функции альбумина в организме входит транспорт ферментов, содержащих ионы металлов, а также перенос ионов прежде всего кальция магния, меди. В последнее время интерес исследователей к процессам переноса металлов альбуминами связан в основном с медицинскими применениями таких систем. Например, связывание альбумина с некоторыми металлами, используемыми в терапевтических целях, исследовано в работе [19]. Было показано, что присутствие ионов металлов в системе оказывает существенное влияние на транспортные возможности альбумина по отношению к лекарственным веществам [20, 21]. Роли металлов в процессах агрегации молекул человеческого сывороточного альбумина посвящена работа [22]. В литературе пока нет данных о том, влияет ли облучение альбумина в терагерцовом диапазоне частот на изменение связывания этого белка с ионами металлов, хотя ответ на этот вопрос мог бы открыть еще один путь к пониманию природы конформационного перехода, вызываемого в молекуле БСА ТГц-излучением.

Для разработки методического подхода к изучению изменений в прочности связывания ионов металлов с белковыми молекулами нами были

Таблица 1. Степени связывания (α , %) ионов металлов с облученным и необлученным образцами БСА

Параметр	Значения параметров		
	Co ²⁺	Ni ²⁺	Cd ²⁺
Ионный радиус, нм*	0.074	0.069	0.095
α , с облученным образцом БСА	17.5 $\pm$ 0.4	12.6 $\pm$ 0.4	1.8 $\pm$ 0.3
α , с необлученным образцом БСА	11.3 $\pm$ 0.3	9.8 $\pm$ 0.2	1.7 $\pm$ 0.2

* Данные взяты из работы [23].

выбраны высокотоксичный кадмий и биологически значимые металлы — кобальт и никель, комплексы которых можно изучать как методом хроматографии, так и с помощью спектроскопии ЭПР. Как показано выше, сопоставление результатов, полученных для одной и той же системы независимо двумя разными методами, позволяет делать более обоснованные выводы, чем в случае применения только одного из этих методов. Растворы, содержащие нитраты металлов в концентрации 5 ммоль/л, использовали для комплексообразования с облученными и необлученными образцами БСА. В качестве раствора сравнения применяли раствор нитрата натрия, что позволило учесть эффект присутствия аниона NO₃⁻, исключив при этом мешающее влияние катиона, так как натрий не участвует в комплексообразовании с БСА из-за отсутствия *d*-орбиталей. Растворы готовили для исследования, удаляя из них растворенный кислород с помощью продувки аргоном.

Степень связывания ионов кобальта и никеля с БСА определяли по изменениям параметров спектров ЭПР этих ионов (количество линий, их ширина, величина *g*-фактора). Для подтверждения полученных результатов проводили хроматографическое исследование в режиме спектрофотометрии на вершинах пиков. В случае кадмия, который не детектируется методом ЭПР, проведено только хроматографическое изучение. Было обнаружено, что для Ni²⁺ и Co²⁺ степени связывания ионов металлов с облученным образцом БСА заметно выше, чем с необлученным, тогда как степень связывания иона кадмия практически не изменилась. Результаты исследований представлены в табл. 1.

Для сравнения в таблице также приведены значения ионных радиусов, взятых из работы [23]. Результаты не показывают ни прямой, ни обратной корреляции степени связывания с ионным

радиусом: кобальт, занимая промежуточное положение между никелем и кадмием по величине ионного радиуса, связывается с БСА в наибольшей степени, тогда как степень связывания меньшего по размеру иона никеля существенно ниже, чем у кобальта. Самая низкая степень связывания у кадмия, обладающего наибольшим ионным радиусом. Для никеля и кобальта степени связывания с облученным образцом БСА достоверно выше, чем с необлученным, тогда как для кадмия в обоих случаях получены примерно одинаковые значения. Таким образом, различия в связывании ионов никеля, кобальта и кадмия с БСА не удастся однозначно объяснить разницей их геометрических параметров.

Моделирование взаимодействия ионов никеля, кобальта и кадмия с функциональными группами БСА

Для выяснения механизмов, лежащих в основе зарегистрированных изменений степени связывания ионов металлов с облученным и необлученным образцами БСА проведено моделирование с использованием полуэмпирических методов и метода молекулярной механики. Рассчитывали величину изменения энергии при сближении иона металла с функциональной группой. В расчете учитывались не более 18 ближайших атомов фрагмента БСА. Результаты расчета показали, что ионы никеля и кобальта связываются с молекулой БСА посредством связей —C=O карбоксильных групп БСА, а также гидроксильных (—OH) и тиольных (—SH) групп, тогда как связывание кадмия обеспечивают в основном карбонильные группы —C=O в β -положении к кольцевым структурам. Также анализ полученных результатов позволяет предполагать, что ионы металлов не являются прямыми конкурентами за адсорбционные центры с молекулярным кислородом, который, как было показано ранее [18], адсорбируется в основном на тиольных и дисульфидных группах, а также на пролиновом фрагменте. Ионы металлов также не конкурируют за позиции в процессе образования кластеров БСА (расчет проводили только для димеризации).

Согласно результатам расчетов, в присутствии кислорода образование димера происходит за счет связей двух тиольных групп разных молекул БСА через молекулу кислорода ($\text{—SH---O}_2\text{---HS—}$), а при низком содержании кислорода в растворе две

молекулы БСА удерживаются в димере в основном дисульфидными связями, при этом небольшой вклад (около 15% по энергии) вносят взаимодействия атома азота гетероцикла одной из молекул БСА с гидроксильным атомом другой молекулы. Таким образом, можно предположить на основании результатов расчета, что конформационный переход под действием облучения в терагерцовой области снимает стерическое затруднение для адсорбции кислорода, а удаление кислорода из раствора освобождает адсорбционные центры для межмолекулярного взаимодействия, благодаря которому образуются димеры. Для изучения роли ионов металлов в агрегации молекул БСА и для выявления влияния облучения в терагерцовом диапазоне частот на конформационные изменения молекул требуются дальнейшие исследования, в том числе получение концентрационных зависимостей процессов, изученных в данной работе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Облучение пленочных препаратов бычьего сывороточного альбумина в терагерцовом диапазоне частот приводит к изменениям транспортных свойств белка: увеличивается подвижность парамагнитных центров, участвующих в межмолекулярных взаимодействиях с образованием димеров БСА, и возрастает содержание димеров. При низком содержании кислорода концентрация димеров в необлученных образцах возрастает на 30% по сравнению с образцами, содержащими кислород, а в облученных образцах концентрация димеров возрастает более чем в три раза. Впервые с использованием методов ЭПР-спектроскопии и ВЭЖХ обнаружены различия в степени связывания ионов кобальта и никеля с молекулами БСА, но для кадмия различий не обнаружено. Моделирование взаимодействий полуэмпирическими методами и методом молекулярной механики показало, что ионы Ni^{2+} и Co^{2+} связываются с молекулой БСА через ее —C=O связи в карбоксильных группах, а также через —OH и —SH -группы, тогда как связывание кадмия обеспечивают в основном карбонильные группы —C=O в β -положении к кольцевым структурам.

Авторы благодарят Н.А. Николаева и Центр коллективного пользования “Спектроскопия и оптика” Института автоматики и электрометрии СО РАН за предоставленный источник ТГц-излучения.

Исследования выполнены при частичной поддержке Министерством науки и высшего образования РФ в рамках госзадания ИЛФ СО РАН (тема № АААА-А17-117030310290-5).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cherkasova O.P., Serdyukov D.S., Nemova E.F. et al. // J. Biomed. Opt. 2021. V. 26. № 9. P. 090902.
2. Siegel P.H. // IEEE Trans. Microwave Theory Tech. 2004. V. 52. P. 2438.
3. Parrott E.P.J., Sun Y., Pickwell-MacPherson E. // J. Mol. Struct. 2011. V. 1006. № 1–3. P. 66.
4. Черкасова О.П., Федоров В.И., Немова Е.Ф., Погосдин А.С. // Оптика и спектроскопия. 2009. Т. 107. № 4. С. 566.
5. Markelz A.G., Mittleman D.M. // ACS. Photonics. 2022. V. 9. № 4. P. 1117; <https://doi.org/10.1021/acsp Photonics.2c00228>.
6. Sitnikov D.S., Ilina I.V., Revkova V.A. et al. // Biomed. Opt. Express. 2021. V. 12. № 11. P. 7122.
7. Yaekashiwa N., Yoshida H., Otsuki S., Hayashi S.I., Kawase K. // Photonics. 2019. V. 6. P. 33.
8. Koyama S., Narita E., Suzuki Y. et al. // J. Radiat. Res. 2019. V. 60. № 4. P. 417.
9. Shi W., Wang Y., Hou L. et al. // J. Biophoton. 2021. V. 14. № 1. Article e202000237.
10. Peng Y., Shi C., Wu X., Zhu Y., Zhuang S. // BME Front. 2020. V. 2020. Article 2547609.
11. Zaytsev K.I., Dolganova I.N., Chernomyrdin N.V. et al. // J. Opt. 2020. V. 22. № 1. Article 013001. <https://doi.org/10.1088/2040-8986/ab4dc3>
12. Son J.-H., Oh S.J., Cheon H.J. // J. Appl. Phys. 2019. V. 125. № 19. Article 190901.
13. Wei L., Yu L., Jiaoqi H. et al. // Front. Lab. Med. 2018. V. 2. № 4. P. 127.
14. Di Fabrizio M., Lupi S., D'Arco A. // J. Phys.: Photonics. 2021. V. 3. № 3. Article 032001.
15. Schroer M.A., Schewa S., Gruzinov A.Y. et al. // Sci. Rep. 2021. V. 11. № 1. P. 22311.
16. Chen J.Y., Knab J.R., Ye S.J., He Y.F., Markelz A.G. // Appl. Phys. Lett. 2007. V. 90. Article 243901.
17. Tan N.Y., Li R., Bräuer P. et al. // Phys. Chem. Chem. Phys. 2015. V. 17. № 8. P. 5999.
18. Немова Е.Ф., Черкасова О.П., Николаев Н.А. и др. // Биофизика. 2020. Т. 65. № 3. С. 486.
19. Alhazmi H.A., Al Bratty M., Meraya A.M. et al. // Acta Biochim. Pol. 2021. V. 68. № 1. P. 99.
20. Liu X.F., Xia Y.M., Fang Y. // J. Inorg Biochem. 2005. V. 99. № 7. P. 1449; <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2005.02.025>. PMID: 15908003.
21. Peng M., Shi S., Zhang Y. // Spectrochim. Acta A. Mol. Biomol. Spectrosc. 2012. V. 85. № 1. P. 190. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2011.09.059>.
22. Hedberg Y.S., Dobryden I., Chaudhary H. et al. // Colloids Surf. B: Biointerfaces. 2019. V. 173. P. 751.
23. CRC Handbook of Chemistry and Physics. 95th edition. / Ed. Haynes W.M. Boca Raton: CRC Press, 2014.

EFFECT OF TERAHERTZ RADIATION ON THE TRANSPORT PROPERTIES OF ALBUMIN: BINDING WITH METAL IONS

E. F. Nemova^{1*}, T. V. Kobzeva², G. G. Dultseva²

¹*Institute of Laser Physics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

²*Voevodsky Institute of Chemical Kinetics and Combustion, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

*E-mail: endy.endy@gmail.com

The effect of terahertz radiation on clusterization of bovine serum albumin (BSA) molecules and on BSA binding with nickel, cobalt and cadmium ions is investigated by means of high performance liquid chromatography and EPR spectroscopy under variation of the concentration of molecular oxygen in solution. Irradiation is detected to remove steric hindrance for oxygen adsorption. The degree of nickel and cobalt ion binding with irradiated BSA samples is substantially higher than with non-irradiated ones, while for cadmium the binding degree is the same and rather low in both cases. The functional groups in BSA molecule participating in metal ion binding are revealed by means of modeling.

Keywords: terahertz radiation, bovine serum albumine, complexation, metal ions, EPR spectroscopy.

REFERENCES

1. Cherkasova O.P., Serdyukov D.S., Nemova E.F., Ratushnyak A.S., Kucheryavenko A.S., Dolganova I.N., Xu G., Skorobogatiy M., Reshetov I.V., Timashev P.S., Spektor I.E., Zaytsev K.I., Tuchin V.V. // J. Biomed. Optics, 2021. V. 26. P. 090902.
2. Siegel P.H. // IEEE Trans. Microwave Theory Technol. 2004. V. 52. P. 2438–2447.
3. Parrott E.P.J., Sun Y., Pickwell-MacPherson E. // J. Mol. Struct. 2011. 1006. P. 66–76.
4. Cherkasova O.P., Fedorov V.I., Nemova E.F., Pogodin A.S. Optika i Spektroskopiya. 2009. V. 107. No. 4. P. 566. (In Russ.).
5. Markelz A.G., Mittleman D.M. Photonics (ACS). <https://doi.org/10.1021/acsp Photonics.2c00228>.
6. Sitnikov D.S., Ilina I.V., Revkova V.A., Rodionov S.A., Gurova S.A., Shatalova R.O., Kovalev A.V., Ovchinnikov A.V., Chefonov O.V., Konoplyannikov M.A., Kalsin V.A., Baklaushev V.P. // Biomed. Opt. Express. 2021. No. 12. P. 7122.
7. Yaekashiwa N., Yoshida H., Otsuki S., Hayashi S.I., Kawase K. // Photonics. 2019. No. 6. P. 33.
8. Koyama S., Narita E., Suzuki Y., Shiina T., Taki M., Shinohara N., Miyakoshi J. // J. Radiat. Res. 2019. V. 60. P. 417.
9. Shi W., Wang Y., Hou L., Ma C., Yang L., Dong C., Wang Z., Wang H., Guo J., Xu S., Li J. // J. Biophoton. 2021. V. 14. Article e202000237.
10. Peng Y., Shi C., Wu X., Zhu Y., Zhuang S. // BME Frontiers. 2020. 2020. P. 1.
11. Zaytsev K.I., Dolganova I.N., Chernomyrdin N.V., Katyba G.M., Gavdush A.A., Cherkasova O.P., Komandin G.A., Shchedrina M.A., Khodan A.N., Ponomarev D.S., Reshetov I.V., Karasik V.E., Skorobogatiy M., Kurlov V.N., Tuchin V.V. Journal of Optics. 2020. V. 22. No. 1. Article 013001. DOI: 10.1088/2040-8986/ab4dc3.
12. Son J.-H., Oh S.J., Cheon H.J. // Appl. Phys. 2019. V. 125. Article 190901.
13. Wei L., Yu L., Jiaoqi H., Guorong H., Yang Z., Weiling F. // Frontiers in Laboratory Medicine. 2018. No. 2. P. 127.
14. Di Fabrizio M., Lupi S., D'Arco A. // J. Phys.: Photonics. 2021. № 3. Article 032001.
15. Schroer M.A., Schewa S., Gruzinov A. Y., Rönna C., Lahey-Rudolph J.M., Blanchet C.E., Zickmantel T., Song Y.-H., Svergun D.I., Roessle M. // Sci. Rep. 2021. V. 11. P. 22311.
16. Chen J.Y., Knab J.R., Ye S.J., He Y.F., Markelz A.G. // Appl. Phys. Lett. 2007. V. 90. 243901.
17. Tan N.Y., Li R., Bräuer P., D'Agostino C., Gladden L.F., Zeitler J.A. // Phys. Chem. Chem. Phys. 2015. V. 17. P. 5999.
18. Nemova E.F., Cherkasova O.P., Nikolaev N.A., Dultseva G.G. // Biophysics (Russian Federation). 2020. V. 65. No. 3. P. 410.
19. Alhazmi H.A., Al Bratty M., Meraya A.M., Najmi A., Alam M.S., Javed S.A. // Acta Biochim. Pol. 2021. V. 68. No. 1. P. 99.
20. Liu X.F., Xia Y.M., Fang Y. J. // Inorg Biochem. 2005. V. 99. No. 7. P. 1449. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2005.02.025>. PMID: 15908003.
21. Peng M., Shi S., Zhang Y. // Spectrochim Acta A Mol. Biomol. Spectrosc. 2012. V. 85. No. 1. P. 190. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2011.09.059>.
22. Hedberg Y.S., Dobryden I., Chaudhary H., Wei Z., Claesson P.M., Lendel C. // Colloids Surf B Biointerfaces. 2019. V. 173. P. 751.
23. CRC Handbook of Chemistry and Physics. 95th edition. Ed. W.M. Haynes. CRC Press, 2014.

УДК 541.143/.144.8

ОБНАРУЖЕНИЕ ФОТООБРАТИМОСТИ СВЯЗЕВОЙ ИЗОМЕРИЗАЦИИ $\text{NO}_2\text{--ONO}$ В КРИСТАЛЛАХ $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{NO}_2]\text{Cl}(\text{NO}_3)$ МЕТОДОМ ФОТОМЕХАНИЧЕСКОГО ОТКЛИКА

© 2024 г. С. А. Чижик^{1*}, П. А. Грибов¹, В. Ю. Ковальский¹, А. А. Сидельников¹¹Институт химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения
Российской академии наук, Новосибирск, Россия

*E-mail: stas@solid.nsc.ru

Поступила в редакцию 25.09.2022;
после доработки 15.10.2022;
принята в печать 20.10.2022

Связевая изомеризация $\text{NO}_2\text{--ONO}$ (нитро-нитрито) в комплексном катионе $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{NO}_2]^{2+}$ является хорошо изученной классической реакцией. Считается, что фотоизомеризация нитро- в нитрито-форму в кристаллической фазе достигает полного превращения при низкой температуре, а обратное превращение протекает как термическая внутримолекулярная реакция первого порядка при нагреве кристаллов. На сегодня не существует сведений о возможности обратной фотоизомеризации. В данной работе фотоизомеризация в кристаллах $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{NO}_2]\text{Cl}(\text{NO}_3)$ исследована по их деформации, вызываемой превращениями при засветке излучением с различными длинами волн. Изменение параметров кристаллической решетки в ходе превращения приводит к достоверно измеряемым характеристикам — удлинению и изгибу игольчатых кристаллов. Показано, что предельное удлинение кристалла при длительной засветке зависит от длины волны излучения, что доказывает обратимость фотоизомеризации. Величина квантового выхода обратной реакции оценена как равная 0.04 от квантового выхода прямой реакции.

Ключевые слова: связевая изомеризация NO_2 , нитро-нитрито-фотоизомеризация, механический отклик на фотохимическую реакцию.

DOI: 10.31857/S0207401X24020036 EDN: WIXJAV

1. ВВЕДЕНИЕ

Изомерия комплексного катиона $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{NO}_2]^{2+}$, допускающего два варианта координации кобальта амбидентатным лигандом NO_2^- , Co--NO_2 (нитро) и Co--ONO (нитрито), является первым известным примером связевой изомерии в координационной химии и привлекает внимание исследователей уже более века [1–3]. В течение всего XX века реакция взаимного превращения изомеров исследовалась многократно (обширный список литературы представлен в работах [4, 5]) и в настоящее время рассматривается как прототип реакций связевой изомеризации [6]. Хорошо установлены условия протекания изомеризации в растворах и кристаллах: термически стабильный нитро-изомер превращается в нитрито-форму под действием УФ- и видимого света с $\lambda < 530$ нм с квантовым выходом, лежащим в диапазоне от 0.04 до 0.2, в зависимости от среды и энергии возбуждения [7–10]. Обратное превращение в нитро-форму протекает как термоактивированная внутримолекулярная реакция с энер-

гией активации около 100 кДж/моль [11–13], что позволяет нитрито-форме достаточно долго находиться в метастабильном состоянии при умеренно низкой температуре (несколько месяцев при 0 °С, несколько дней при комнатной температуре) и обеспечивает возврат к нитро-форме за минуты при умеренном нагреве до 80 °С [8, 9, 13–16].

В водосодержащих растворах фотоизомеризация сопровождается фотолизом комплекса, характеризующимся втрое бóльшим квантовым выходом. Независимость отношения квантового выхода фотолиза к фотоизомеризации от длины волны возбуждающего излучения указывает на протекание обеих реакций из одного возбужденного состояния, наиболее вероятно соответствующего переносу заряда от лиганда к металлу, приводящему к гомолитическому разрыву связи лиганда с комплексом [7, 8]. Соотношение квантовых выходов определяется конкуренцией между выходом NO_2 из сольватной оболочки с последующими реакциями гидролиза комплекса и вос-

становлением связи металла с лигандом в нитрито-координации.

В кристаллической фазе изомеризация остается единственной возможной фотохимической реакцией из-за невозможности для NO_2 покинуть реакционную полость. Длительная засветка мелких кристаллов комплексных соединений $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{NO}_2](\text{NO}_3)_2$ и $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{NO}_2]\text{Cl}_2$ с размерами в несколько микрон приводит к практически полному переходу в нитрито-форму [8, 10], а разложение комплекса не превышает 0.2% при $\lambda > 300$ нм [8] и, как показывает наш опыт работы, может быть связано с поверхностным разложением с участием адсорбированной воды. Единственность реакции изомеризации в кристаллах дает преимущество более детального изучения превращения и установления влияния ближайшего окружения. Например, влияние гидростатического давления и внешнесферных анионов на скорость превращений [5, 12] было рассмотрено в рамках концепции реакционной полости [17–19]. Также установлено влияние деформации кристаллов, вызываемой внешним изгибающим моментом (механической нагрузкой) [16], термическим расширением (изменяющим межатомные расстояния) [20], и степенью превращения (за счет изменения параметров решетки в результате превращения) на скорость фотоизомеризации [13].

Вместе с тем вопрос о точном установлении реакционных путей фото- и термоизомеризации следует признать все еще открытым. Единственный, хорошо установленный факт заключается в том, что и в растворах и в кристаллах фото- и термоизомеризация являются внутрисферными реакциями, заключающимися в повороте лиганда NO_2^- . Анализ реакционной полости в кристаллах позволяет предположить, что поворот лиганда может происходить либо в исходной плоскости ONO , либо с выходом из нее в зависимости от конкретного ближайшего окружения лиганда в кристалле [9, 21].

Однако структура переходного состояния остается предметом гипотез. Наибольшее согласие вызывает предположение о семикоординированном состоянии, в котором кобальт координирован в равной степени атомом азота и одним из атомов кислорода NO_2^- -лиганда [21], что подтверждается квантовохимическими вычислениями [22]. В работе [23] показано, что фотоизомеризация в кри-

сталлах при температуре жидкого азота приводит к образованию метастабильного интермедиата, отличающегося по ИК-спектру и превращающегося в нитрито-изомер при отогревании кристаллов до 0 °С. При поддержании низкой температуры получаемый интермедиат остается стабильным в отсутствие облучения, но медленно превращается в нитрито-изомер при засветке. Авторы предположили, что обнаруженный интермедиат имеет отношение к переходному семикоординированному состоянию. Между тем эта гипотеза может противоречить предположению о переходном состоянии, так как оно не должно было бы оставаться стабильным даже при температуре $T = 77$ К. Полученный результат может скорее свидетельствовать о существовании некоторой дополнительной, кинетически замороженной структуре комплекса. Примечательно, что в недавнем квантовохимическом исследовании рассматриваемого комплекса была предсказана неизвестная ранее метастабильная структура, в которой кобальт координирован аналогично нитрито-изомеру, но NO_2^- -лиганд наклонен так, что терминальный атом кислорода образует водородные связи с двумя NH_3 -лигандами комплекса [24, 25]. Эти факты указывают на необходимость получения дополнительных сведений о реакции.

Один из малоизученных аспектов связан с обратимостью каждого из этих превращений. Изучение термоизомеризации в направлении превращения нитро- в нитрито-форму затруднено в силу смещения термического равновесия в сторону нитро-изомера. Изменение доли нитрито-формы, присутствующей в малой концентрации в равновесии, оказывается весьма малым, чтобы его можно было достоверно установить спектроскопическими или дифракционными методами. По этим причинам до недавнего времени существовало расхождение во мнениях об обратимости нитрито-нитротермоизомеризации [26–29]. Обратимость термоизомеризации была доказана методом термического анализа в работах [11, 12], где показано, что энтальпия и энтропия реакции в кристаллах $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{NO}_2]\text{X}_2$ зависят от противоионов X. В частности, стандартная энергия Гиббса реакции при температуре 300 К меняется в ряду $\text{X} = \text{Cl}^-, \text{Br}^-, \text{I}^-$ как $-7, -8$ и -11 кДж/моль, что приводит к оценке равновесной доли нитрито-формы от 6 до 1% соответственно, на пределе

обнаружения дифракционными и спектроскопическими методами.

Вопрос об обратной фотоизомеризации из нитро- в нитрито-форму не был до недавнего времени рассмотрен вообще. Облучение растворов, как уже сказано, приводит к фотолизу, не позволяя сделать никаких выводов об обратной фотоизомеризации. Изучение превращения в кристаллах имеет существенное преимущество — отсутствие других путей реакции, но превращение оказывается смещено в сторону нитрито-формы, что не позволяет сделать достоверных выводов о стационарном соотношении концентраций нитро- и нитрито-форм при длительном облучении. Традиционно используемые для изучения этой системы методы, ИК- и УФ-спектроскопии, позволяют лишь качественно обнаруживать следовые количества нитро-формы, остающиеся после длительной засветки [8]. Кроме того, деформация и разрушение кристаллов с размерами, превышающими 40 мкм, создают существенные трудности и для использования рентгеноструктурных методов на монокристаллах (к тому же и недостаточно чувствительных), ограничивая возможности исследования только начальными степенями превращения [9].

Вместе с тем именно механические эффекты, вызываемые превращением в кристаллах, могут быть использованы для реализации высокочувствительного метода изучения таких реакций. Изгибы, скручивание, разрушение, подпрыгивание и переползание кристаллов, наблюдаемые при световом или тепловом воздействии на различные вещества, в которых под влиянием этих воздействий происходят химические или фазовые превращения, в последние десятилетия вызывают большой интерес в связи с потенциальной возможностью использовать эффекты в различных механических устройствах [30–36]. В частности, тонкие игольчатые кристаллы соединений, испытывающих фотохимические превращения, демонстрируют значительные изгибы на углы до 90° из-за эффекта поглощения света, приводящего к неоднородности превращения в глубине кристалла [37–40]. Измерение отклонения таких кристаллов от исходной формы позволяет определить деформацию, вызываемую превращением, с чувствительностью не хуже $\sim 10^{-4}$, что соответствует чувствительности по степени превращения менее 1%, если полное превращение вызывает измене-

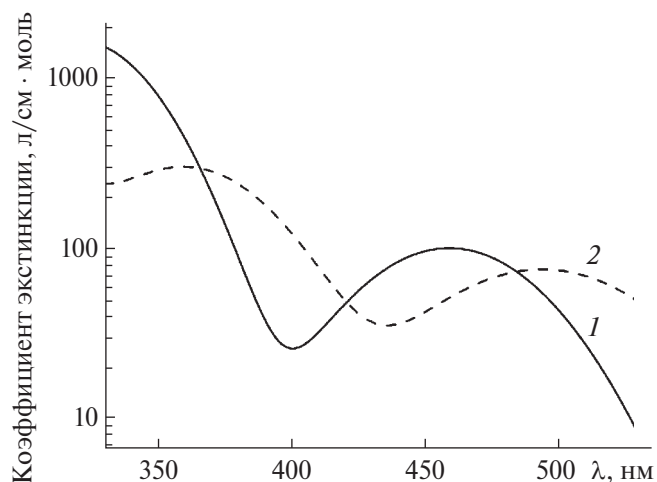


Рис. 1. Коэффициент экстинкции изомеров $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{NO}_2]^{2+}$ (1) и $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{ONO}]^{2+}$ (2) в водном растворе. Данные взяты из работы [8].

ние параметров решетки на 1%. Таким образом, изучение механического отклика кристаллов на превращение способно превзойти по чувствительности большинство традиционных методов изучения превращения в условиях *in situ*.

Соединение состава $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{NO}_2]\text{Cl}(\text{NO}_3)$ отличается тем, что позволяет выращивать игольчатые кристаллы с толщиной от нескольких микрон до сотен микрон и длиной в десятки раз больше толщины. В серии ранних работ [15, 16] было показано, что кристаллы толщиной более 40–50 мкм разрушаются вследствие механических напряжений, возникающих из-за неоднородного по толщине превращения при длительной засветке нефiltroванным излучением дуговой ксеноновой лампы (300–1000 нм). Однако тонкие кристаллы толщиной < 30 мкм свободно изгибаются в форме дуги, достигая радиуса кривизны около одного миллиметра, а потом разгибаются по мере приближения к однородному превращению по всей толщине.

Именно кристаллы $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{NO}_2]\text{Cl}(\text{NO}_3)$ были впервые использованы для детального изучения кинетики фотоизомеризации по фото-механическому отклику (см. теорию, предложенную в работе [30]) для описания начальных степеней превращения в толстых кристаллах [20] и глубокого превращения в тонких кристаллах [13], а также для получения соответствующих констант скорости реакции термоизомеризации и квантового выхода фотоизомеризации. Показано, что превращение нитро- в нитрито-форму не вызы-

вает фазовых превращений: пространственная группа $R\bar{3}m$ сохраняется во всем диапазоне соотношения нитро/нитрито, а параметры решетки практически линейно зависят от степени превращения [13]. Параметр решетки b , расположенный вдоль оси игольчатого кристалла, увеличивается на 3.4% при длительной засветке источником излучения с длиной волны 465 нм (вблизи локального максимума поглощения нитро-изомера в растворах, рис. 1) при комнатной температуре, что приводит к соответствующему итоговому удлинению кристалла.

Расшифровка кристаллической структуры свидетельствует о почти полном превращении в нитрито-форму. Учитывая 5%-ную погрешность определения заселенности позиций нитрито- и нитро-изомерами при моделировании интенсивности дифракции, можно сказать, что степень превращения, достигаемая при использовании источника света с длиной волны 465 нм, составляет >95%. Методология анализа фотомеханического отклика, разработанная в [13], основана на совместном рассмотрении двух характеристик, меняющихся по мере изомеризации — кривизны кристалла и его продольного удлинения, что повышает достоверность определения степени превращения в объеме кристаллов.

Применение данной методологии для изучения изомеризации соединения $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{NO}_2]\text{Cl}(\text{NO}_3)$ при облучении на длинах волн 523 и 403 нм (на краях полосы поглощения нитро-изомера при 460 нм) позволило получить сведения о неполном превращении нитро- в нитрито-форму в этих условиях [41]. Максимальная степень превращения при указанных длинах волн оказывается примерно на 10% ниже, чем при облучении синим (465 нм) светом. Было высказано предположение, что наиболее вероятной причиной неполного превращения является его фотообратимость: образующийся нитрито-изомер испытывает обратное фотохимическое превращение в нитро-форму под действием этого же излучения.

Для детальной проверки гипотезы о фотообратимости связевой изомеризации в рассматриваемом комплексе поставлена задача — изучить зависимости максимально достижимой степени фотоизомеризации от длины волны излучения на основе анализа деформации кристалла, происходящей при изменении длины волны источников излучения.

ЭКСПЕРИМЕНТ

Для проведения фотоизомеризации использовали термостатированную камеру с оптическими окнами для засветки и наблюдения за кристаллом, установленную на инвертированный оптический микроскоп Neophot 21 (Carl Zeiss Jena, Germany). Кристалл (длина $L = 600$ мкм, толщина $h = 18$ мкм), прикрепленный к стеклянному держателю с возможностью свободно изгибаться, размещался в камере в потоке сухого азота при температуре 0°C , поддерживаемой с точностью $\pm 1^\circ\text{C}$ (подробная схема установки описана в работе [41]). В ходе превращения изображения кристалла регулярно регистрировались цифровой камерой. Для подсветки кристалла использовали светодиодный источник света с длиной 625 нм, не вызывающий фотохимических превращений. Для получения временных зависимостей кривизны и продольного удлинения кристаллов серии цифровых изображений кристалла анализировали с использованием специально разработанного программного обеспечения — плагина “Bending crystal track” (<http://imagej.net/PhotoBend>) для программы анализа изображений ImageJ [42]. Метод основан на распознавании заданных элементов изображения кристалла и определении координат трех точек, расположенных на концах и в середине центральной линии кристалла, по которым вычисляется текущая длина и кривизна кристалла [13].

Проведение экспериментов при температуре 0°C обеспечивает протекание только фотохимической изомеризации. Участием термоактивированного превращения изомеров в данных условиях можно пренебречь, так как характерное время термической изомеризации составляет порядка одного месяца при 0°C , в то время как типичная длительность фотоизомеризации составляет несколько часов. Для засветки кристалла использовали светодиодные источники с длинами волн 403 и 465 нм, а так же ксеноновую дуговую лампу высокого давления с полосовыми интерференционными фильтрами 350, 375, 425 и 491 нм.

Стандартная последовательность проведения эксперимента состояла в следующем: кристалл, расположенный в измерительной камере, прогревался в темноте до 80°C в течение 30 мин для приведения состава комплексного соединения к термически равновесному, соответствующему практически полному превращению соединения

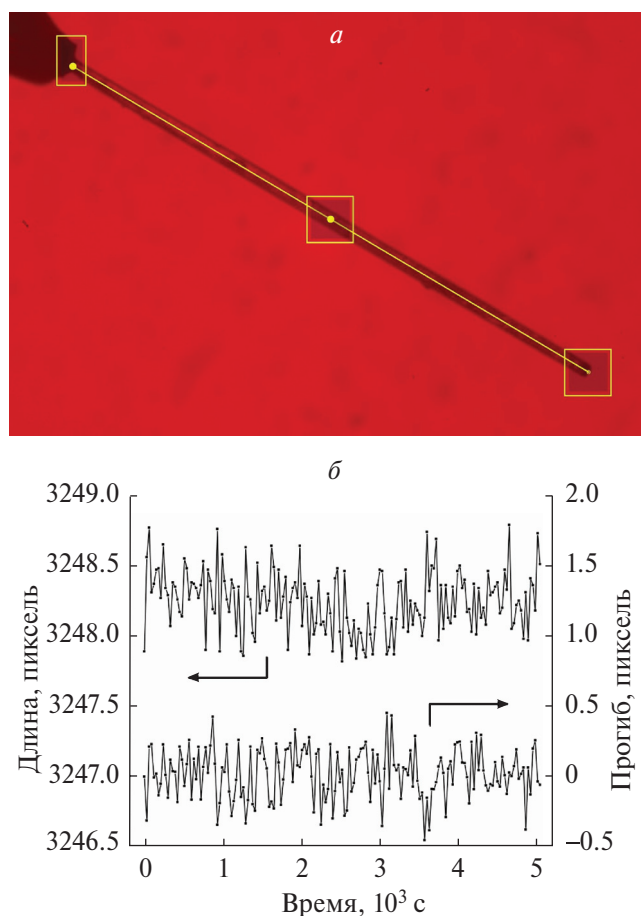


Рис. 2. Изображение измеряемого кристалла (а) и шум измерения длины и относительного прогиба центральной части кристалла без засветки при $T=0^\circ\text{C}$ (б).

в нитро-форму. После этого кристалл охлаждали до 0°C в течение часа и далее его подвергали засветке источником с одной из длин волн в течение суток для достижения фотостационарного состояния. На следующий день производили замену источника света другим, регистрировали кинетические кривые последующего механического отклика кристалла.

Погрешности измерения изменений степени превращения в экспериментах с переключением источников света можно оценить исходя из долговременной стабильности измерений длины и кривизны кристалла в отсутствие засветки (рис. 2). Шум измерения длины кристалла характеризуется стандартным отклонением в 0.22 пикселя при средней длине изображения кристалла равной 3248.3 пикселя, что соответствует погрешности измерения деформации кристалла $\pm 6.8 \cdot 10^{-5}$. Такой уровень погрешности соответствует ошибке в определении изменения степени изомеризации,

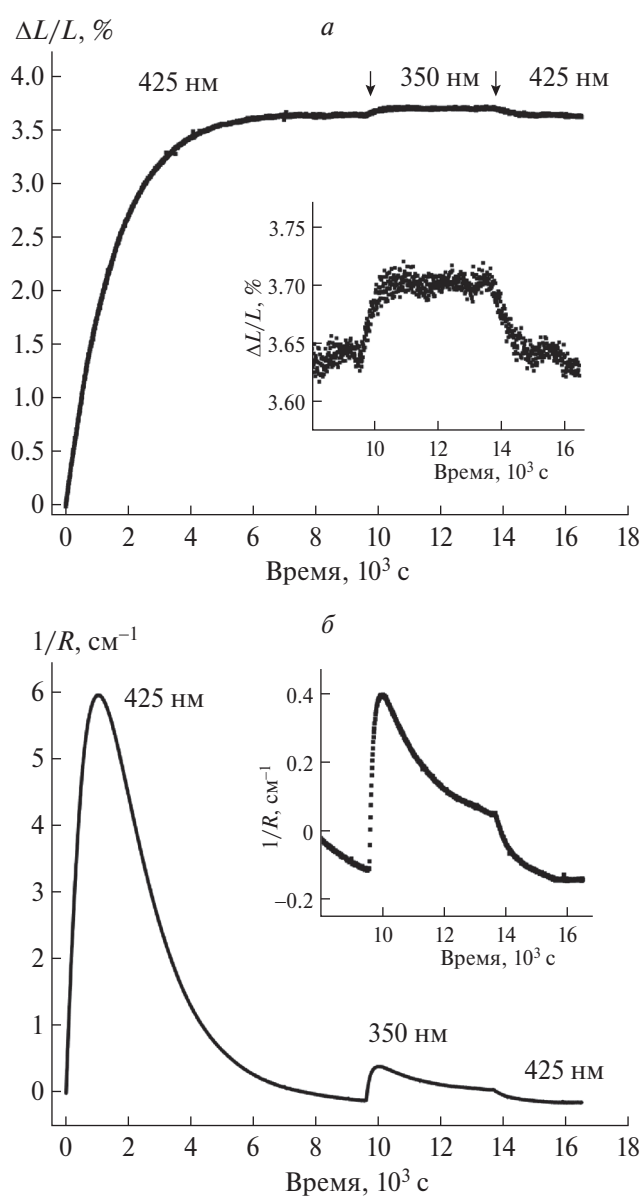


Рис. 3. Кинетика изменения удлинения (а) и кривизны (б) кристалла при последовательной засветке источниками с длинами волн 425, 350, и 425 нм при $T=0^\circ\text{C}$. На вставках: увеличенные участки зависимости изменения длины и кривизны кристалла, вызываемые переключением источников света.

равной $\pm 0.2\%$. Разброс измерения кривизны составил $\pm 7.6 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^{-1}$, что соответствует стандартному отклонению прогиба центральной части кристалла в 0.19 пикселя. Данная погрешность определяет предел чувствительности методики к изменению поперечной неоднородности степени превращения, равной 0.04% для кристалла, использованного в эксперименте. Учитывая то, что шум в измерениях прогиба прямого кристалла определяется только шумами цифрового изобра-



Рис. 4. Совмещенное изображение кристалла в трех последовательных стадиях процесса, показанного на рис. 3: 1 — начальное состояние, 2 — пик кривизны при засветке источником $\lambda = 425$ нм ($t = 10^3$ с), 3 — пик кривизны, достигнутый после переключения с длины волны 425 на 350 нм ($t = 10^4$ с). На изображении 2 показаны метки, используемые алгоритмом анализа формы кристалла. Стрелки указывают направление засветки кристалла.

жения кристалла, а погрешность измерения длины включает также случайную термическую деформацию, по полученным характеристикам можно оценить погрешность поддержания температуры кристалла, примерно равную ± 1 °С, а погрешность определения координат элементов изображения — около 0.1 пикселя.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Характер фотомеханического отклика при изменении длины волны источника света

Для качественной демонстрации полной картины механического отклика кристалла при замене источников света на рис. 3 представлены результаты простого эксперимента, в котором кристалл, исходно находившийся в нитро-форме, был последовательно засвечен источниками с различными длинами волн: 425, 350 и вновь 425 нм. Первый этап засветки кристалла источником с $\lambda = 425$ нм в течение ~ 2.7 ч был достаточен для почти полного завершения деформационных процессов, что указывало на приближение к фотостационарному состоянию. Последующие переключения на источники с длинами волн 350 и 425 нм каждый раз вызывали дополнительный слабый механический отклик. Переключение на источник с длиной волны 350 нм вызывает небольшое увеличение степени изомеризации, что проявляется в дополнительном удлинении кристалла на $\sim 0.08\%$ и цикле изгиб–разгиб кристалла в том же направлении, что и на первом этапе. Это согласуется с ростом степени превращения со стороны засветки кристалла. Вторичная засветка источником с $\lambda = 425$ нм вызывает обратный по

характеру отклик — небольшое укорочение кристалла и цикл изгиб–разгиб в противоположном направлении, что указывает на снижение степени превращения, распространяющееся со стороны засветки. Деформация кристалла практически возвращается к состоянию, достигнутому в конце первого этапа.

Для получения представления о наблюдаемой деформации кристалла на рис. 4 показано совмещенное изображение трех последовательных состояний: 1 — начальное состояние кристалла, 2 — состояние в пике кривизны на первом этапе засветки источником с длиной волны 425 нм (также показаны метки, используемые алгоритмом анализа формы кристалла), 3 — пик кривизны на этапе засветки источником с длиной волны 350 нм. Сравнение изображений 1 и 3 позволяет получить представление о достигаемом в этот момент ($\sim 10^4$ с, см. рис. 3а и 3б) удлинении кристалла в $\sim 3.7\%$, и отклонении от геометрии кристалла, вызванном кривизной, $-1/R \sim 0.4$ см $^{-1}$.

Полученные результаты свидетельствуют о существовании воспроизводимой зависимости фотостационарной степени превращения от длины волны. Достигнутое при $\lambda = 425$ нм удлинение кристалла ($\sim 3.64\%$) оказалось близко к величине, полученной ранее в работе [13] для $\lambda = 465$ нм. Это говорит о том, что значения фотостационарных степеней превращения при $\lambda = 425$ и 465 нм близки друг к другу.

Отметим, что удлинение кристалла при переключении источников света на порядок превосходит возможные эффекты от термических деформаций кристалла из-за нестабильности его температуры: ± 1 °С. Оценка возможного изменения температуры кристалла вследствие изменения мощности излучения источника света не превосходит величины $\sim 10^{-2}$ °С в рассматриваемых условиях (мощность излучения источников — ~ 0.05 Вт/см 2). Таким образом, все механические эффекты, наблюдаемые при замене источников света, гарантировано относятся только к изменению степени изомеризации в объеме кристалла, связанной с изменением фотостационарного состояния.

Так как длина кристалла практически линейно связана со степенью изомеризации [13], по дополнительному удлинению кристалла можно оценить увеличение доли нитрито-изомера. Если принять, что под действием света с длиной волны

425 нм происходит близкое к полному превращение, то приращение степени превращения при переключении источника на $\lambda = 350$ нм можно оценить как равное $0.08/0.0364 \approx 2.2\%$. Для оценки абсолютных значений степени превращения можно воспользоваться двумя условиями: степень превращения должна быть не ниже 95% при $\lambda = 425$ нм (5%-ный предел обнаружения остаточной нитро-формы рентгеноструктурным методом) и не более 100% при $\lambda = 350$ нм. Тогда степень превращения при длине волны 425 нм должна лежать в интервале от 95 до 97.8%. Для дальнейших оценок можно условно принять, что величина фотостационарной степени превращения при $\lambda = 425$ нм и $T = 0$ °C равна округленному среднему между двумя этими пределами (96 ± 1.4)%. Тогда величину максимальной продольной деформации при полном превращении нитро-формы в нитрито-форму при 0 °C можно оценить как равную $\varepsilon_0 = 3.64/0.96 = 3.79\%$.

Как видно из сравнения рис. 2 и 3, переключение источников света значительно сильнее отражается на изменении кривизны кристалла по сравнению с изменением его длины. Помимо того, что чувствительность методики к изменению кривизны кристалла выше, чем к его удлинению (перемещения, вызываемые изгибом, больше в $\sim L/h$ раз, чем перемещения, вызываемые только удлинением), существует важное различие в механизмах изменения удлинения и изгиба. В отличие от удлинения, связанного только с изменением средней степени превращения, кривизна определяется поперечной неоднородностью превращения по толщине кристалла, приводящей к поперечному градиенту осевой деформации. Максимально достигаемая неоднородность превращения определяется масштабом, задаваемым характерной глубиной поглощения света, согласно закону Бугера–Ламберта–Бера [43].

Согласно теории фотомеханического отклика изложенной в работе [30], при слабом поглощении света, когда характерная глубина поглощения в законе Бугера–Ламберта–Бера примерно равна или больше толщины кристалла, максимальная кривизна определяется выражением $1/R = 0.37\varepsilon_0/h_0$, где ε_0 — максимальная продольная деформация, вызываемая полным превращением, h_0 — характерная глубина поглощения света.

Тогда по величине максимальной кривизны кристалла, равной $1/R \approx 6$ см⁻¹ (рис. 3) можно

получить оценку глубины поглощения света: $h_0 \approx 22$ мкм при $\lambda = 425$ нм. Это согласуется с оценками, полученными в работе [13], где определено $h_0 \approx 8.5$ мкм при $\lambda = 465$ нм: отношение величин глубины поглощения при 465 и 425 нм, равное $8.5/22 \sim 0.4$, соответствует отношению значений экстинкций водных растворов соединения при 425 и 465 нм: $\sim 40/100$. При переключении на источник с $\lambda = 350$ нм поглощение света значительно возрастает: из данных, представленных на рис. 1 следует, что исходная нитро-форма должна поглощать в ~ 8 раз сильнее, чем при $\lambda = 465$ нм, т.е. глубина поглощения снижается до ~ 1 мкм, что гораздо меньше толщины кристалла $h = 18$ мкм.

Засветка исходных кристаллов нитро-изомера в таких условиях неизбежно ведет к их разрушению вследствие больших механических напряжений, связанных с резкой поперечной неоднородностью деформации, возникающей из-за преимущественного превращения приповерхностного слоя $\sim h_0$ на начальных этапах реакции. Кристалл не разрушается в данном эксперименте благодаря тому, что перед засветкой источником с $\lambda = 350$ нм он уже был практически полностью превращен в результате длительного облучения источником с $\lambda = 425$ нм. Дополнительная деформация, вызываемая увеличением превращения только на 2.2% при переключении длины волны с 425 на 350 нм вызывает в ~ 2000 раз меньшую энергию деформации по сравнению с полным превращением, что предотвращает разрушение. Более того, на втором этапе свет распространяется в кристалле, почти полностью превращенном в нитрито-форму, которая поглощает заметно слабее, что приводит к более слабой неоднородности превращения и дополнительно снижает риск разрушения.

Глубина поглощения света при $\lambda = 350$ нм в нитрито-форме составляет $h_0 \approx 3$ мкм, тем не менее она все еще заметно меньше толщины кристалла. В этом случае пик кривизны кристалла на промежуточной стадии превращения определяется моментом формирования поперечного градиента превращения от нового уровня фотостационарной степени превращения на освещаемой поверхности до исходного состояния на противоположной поверхности кристалла. Достигаемая при этом кривизна оценивается как $1/R = \Delta\varepsilon/h$, где $\Delta\varepsilon$ — разница в значениях продольной деформации на

противоположных сторонах кристалла, которая в рассматриваемом случае должна быть близка к полному удлинению кристалла в результате переключения с длины 425 на 350 нм. Следовательно, $1/R \approx (8 \cdot 10^{-4})/18 \text{ мкм} \approx 0.44 \text{ см}^{-1}$, что соответствует наблюдаемому пику кривизны кристалла после переключения на источник с $\lambda = 350 \text{ нм}$. Заметим, что отношение пиков кривизны при длинах волн 350 и 425 нм (0.4 и 6 см^{-1}) оказалось втрое больше, чем отношение значений продольных деформаций на этих этапах (0.08% и 3.64%), что вместе с большей чувствительностью измерения кривизны обуславливает визуальное большее влияние переключения источников света на профили кривизны по сравнению с удлинением. Однако, как будет показано далее, количественный анализ изменения кривизны не может применяться для определения зависимости степени превращения от длины волны, если использовать существующие простые модели фотомеханического отклика. Для определения этой зависимости приходится ограничиться более слабым эффектом изменения длины кристалла. Тем не менее качественный анализ изменения кривизны кристалла позволяет подтвердить выводы, полученные по его удлинению.

Изменение кривизны кристалла на последнем, третьем этапе эксперимента после вторичной засветки источником $\lambda = 425 \text{ нм}$ вообще не проходит через пик, а скорее возвращается к определенному стационарному значению. Это означает, что неоднородность превращения на этом этапе плавно меняется от почти однородного превращения в конце этапа при $\lambda = 350 \text{ нм}$ до некоторого неоднородного превращения в конце последнего этапа при $\lambda = 425 \text{ нм}$. Более того, значения кривизны становятся отрицательными относительно исходной формы кристалла: $1/R \approx -0.13 \text{ см}^{-1}$ (также небольшая отрицательная кривизна наблюдается и в конце первого этапа эксперимента). Это означает, что при $\lambda = 425 \text{ нм}$ противоположная от источника света сторона кристалла достигает в стационарном состоянии несколько большей степени превращения, чем непосредственно освещаемая сторона. Разницу в значениях степени превращения на освещаемой и обратной сторонах можно оценить из следующего соотношения: $\Delta C = h/(\varepsilon_0 R) \approx -0.6\%$.

При анализе дальнейших результатов работы оказалось, что в фотостационарном состоянии

практически всегда наблюдается небольшая остаточная кривизна, зависящая от λ . Так как ее величина намного меньше значения пика кривизны, всегда наблюдаемого на промежуточных стадиях в ходе полного превращения от нитро- к нитрито-форме, она никогда ранее не рассматривалась. При моделировании фотомеханического отклика считалось, что после длительной засветки кристалла при низкой температуре достигается почти однородное превращение во всем объеме. В работе [13] было показано, что если превращение осуществляется при более высокой температуре, когда нельзя пренебречь скоростью обратной реакции термоизомеризации, кривизна кристалла действительно достигает некоторого стационарного значения, зависящего от соотношения скоростей фото- и термоизомеризации на различной глубине от освещаемой поверхности.

В рассматриваемом случае отношение скоростей фото- и термоизомеризации при 0°C позволяет оценить величину остаточной кривизны, ожидаемую из-за обратной термоизомеризации, не более $\sim 0.02 \text{ см}^{-1}$, что почти на порядок меньше наблюдаемых эффектов. Однако, даже если наблюдаемый слабый эффект остаточной кривизны связан с ненулевой скоростью термоактивированной изомеризации при 0°C , то он должен всегда приводить только к положительной величине остаточной кривизны, так как на освещаемой стороне процесс фотопревращения всегда идет с большей скоростью. Наконец, если предположить о том, что наблюдаемые эффекты связаны с поперечной неоднородностью термических деформаций, то требуемая для этого разница температур на противоположных сторонах кристалла должна составлять более 1°C , что физически невозможно для кристалла толщиной 18 мкм в потоке газа, так как подобный градиент температуры (эквивалентный 500°C на 1 см) соответствовал бы огромному потоку тепловой энергии через толщу кристалла. Таким образом, остаточная кривизна кристалла однозначно свидетельствует о формировании фотостационарного градиента степени превращения в толще кристалла.

Вообще говоря, базовое предположение об однородном стационарном фотопревращении подразумевает одинаковое отношение скоростей прямой и обратной фотоизомеризации, что обязательно требует постоянного спектра излучения

по всей толщине кристалла. Однако это условие может выполняться только для строго монохроматического источника света. Кинетика обратимой фотоизомеризации описывается уравнением

$$\frac{\partial C}{\partial t} = k_1(1 - C) - k_2C. \quad (1)$$

Здесь C — доля нитрито-изомера, $k_{1,2}$ — эффективные константы скорости прямой (нитро-нитрито) и обратной (нитрито-нитро) фотоизомеризации, которые выражаются в виде

$$k_i = I(x)\Phi_i\mu_i/C_0, \quad (2)$$

где $I(x)$ — зависимость интенсивности света (плотности потока фотонов), распространяющегося на расстояние x в глубь освещаемой поверхности кристалла, возникающая из-за поглощения, [$\text{с}^{-1} \cdot \text{см}^{-2}$], $\Phi_{1,2}$ — квантовые выходы прямой и обратной реакций, $\mu_{1,2}$ — коэффициенты поглощения нитро- и нитрито-форм в законе Бугера–Ламберта–Бера, см^{-1} ; C_0 — общая концентрация молекул в соединении, см^{-3} . Следовательно, в фотостационарном состоянии доля нитрито-изомера C_{ps} определяется согласно выражению

$$C_{ps} = \left(1 + \frac{\Phi_2\mu_2}{\Phi_1\mu_1}\right)^{-1}. \quad (3)$$

Из этого уравнения видно, что зависимость $I(x)$, возникающая из-за поглощения света, не проявляется в стационарном состоянии, так как обе константы пропорциональны интенсивности излучения. Поскольку величины Φ_i и μ_i зависят от λ , то выражение в уравнении не зависит от x только в случае строго монохроматического света. Из-за зависимости μ_i от длины волны спектр реального источника света может меняться по мере прохождения света в глубь кристалла: он смещается в область длин волн, характеризующихся меньшим поглощением. Из этого следует, что у стационарной степени превращения появляется некоторая зависимость $C_{ps}(x)$, приводящая к наблюдаемому остаточному изгибу кристалла в фотостационарном состоянии.

Знак остаточной кривизны определяется направлением изменения отношения $\Phi_2\mu_2/\Phi_1\mu_1$ по мере смещения спектра света при его распространении вглубь кристалла. Учитывая ширину спектров излучения источников 10–20 нм, из анализа данных на рис. 1 можно сделать вывод,

что отношение коэффициентов поглощения μ_2/μ_1 имеет достаточно сильную зависимость от λ и способно приводить к изменению стационарной степени превращения на единицы процентов из-за изменения спектра излучения как в сторону увеличения, так и в сторону снижения. В то же время можно предположить, что незначительное смещение центра спектра из-за поглощения на $\Delta\lambda$ (порядка его исходной ширины) не приводит к существенному изменению отношения квантовых выходов Φ_2/Φ_1 . Следовательно, отклонения в стационарной степени превращения в большей степени определяются изменением отношения μ_2/μ_1 в области $\lambda \pm \Delta\lambda$. Это позволяет получить качественное предсказание зависимости остаточной стационарной кривизны от λ , основываясь на анализе зависимостей $\mu_1(\lambda)$ и $\mu_2(\lambda)$.

Следует учитывать, что положение и ширина максимумов полос поглощения в кристалле может несколько отличаться от данных для растворов из-за влияния сольватации на энергию электронных состояний и выделенной ориентации поглощающих центров в кристалле, в отличие от усредненной ориентации в растворе. Так как стационарная степень превращения близка к 100%, поглощение на поздних этапах превращения определяется в основном нитрито-формой, т.е. величиной μ_2 . Следовательно, спектр излучения источника заметно изменяется в объеме кристалла в том случае, если длина волны источника исходно находится в области сильного изменения $\mu_2(\lambda)$. При этом производная $d\mu_2/d\lambda$ определяет направление смещения центра спектра по мере увеличения x . В частности, из представленных на рис. 1 данных следует, что в области $\lambda = 405\text{--}430$ нм наблюдается разнонаправленное изменение $\mu_1(\lambda)$ и $\mu_2(\lambda)$: снижение кривой зависимости $\mu_2(\lambda)$ приводит к смещению спектра излучения в длинноволновую область, а рост $\mu_1(\lambda)$ обеспечивает итоговое увеличение стационарной степени превращения на обратной стороне кристалла по сравнению с освещаемой стороной. Это может быть причиной отрицательной остаточной кривизны кристаллов после длительной засветки источником с длиной волны 425 нм.

Из вышесказанного очевидно, что несмотря на то, что изменение длины волны источника света значительно сильнее отражается на изгибе кристалла, его анализ гораздо более сложен для

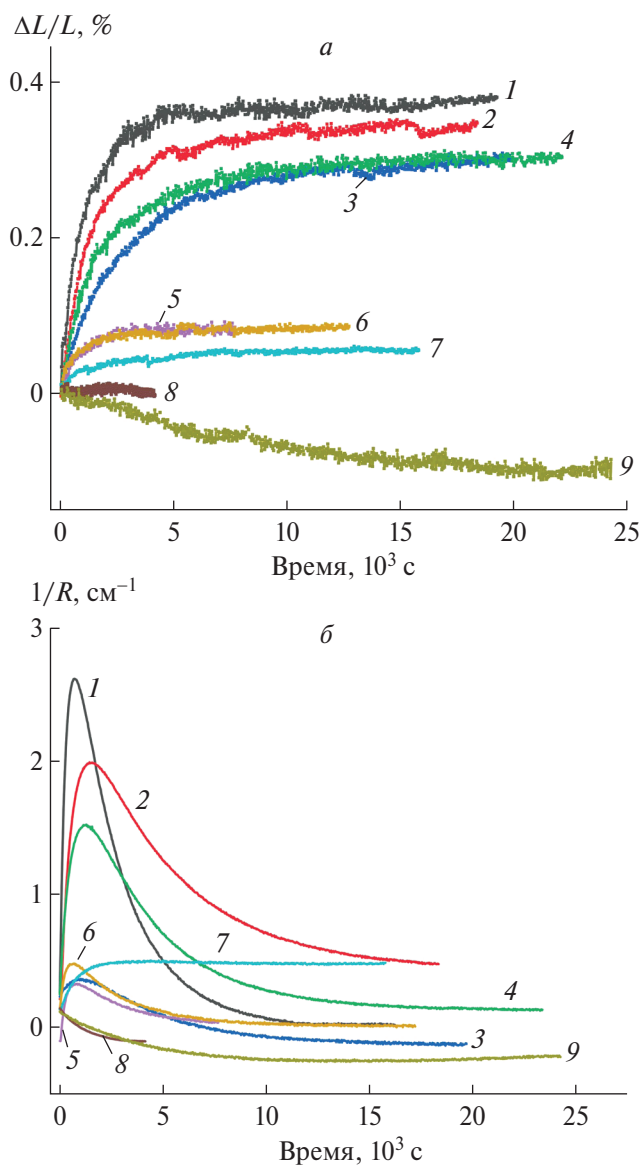


Рис. 5. Кинетика изменения удлинения (а) и кривизны (б) кристалла $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{NO}_2]\text{Cl}(\text{NO}_3)$, вызываемая переключениями источников излучения: 1 — 403 → 350 нм, 2 — 403 → 375 нм, 3 — 403 → 425 нм, 4 — 403 → 465 нм, 5 — 425 → 350 нм, 6 — 465 → 350 нм, 7 — 465 → 375 нм, 8 — 465 → 425 нм, 9 — 465 → 491 нм.

определения изменения в степени превращения по сравнению с удлинением. Для моделирования отклика кривизны кристалла потребовался бы явный учет спектров излучения источников и спектров поглощения изомеров, что существенно усложняет требуемую для этого количественную модель процесса. В то же время анализ изменения длины кристалла лишен всех указанных недостатков и дает прямую информацию о зависимости предельной степени превращения от длины волны.

Зависимость фотостационарной степени изомеризации от длины волны

На рис. 5 показаны кривые фотомеханического отклика кристалла при следующих переключениях источников света: 403 → 350 нм, 403 → 375 нм, 403 → 425 нм, 403 → 465 нм, 425 → 350 нм, 465 → 350 нм, 465 → 375 нм, 465 → 425 нм, 465 → 491 нм. Наибольшее увеличение длины кристалла наблюдается в серии переключений от стационарного состояния при облучении с $\lambda = 403$ нм, что говорит о наименьшей степени превращения при этой длине волны. Максимальное удлинение и, следовательно, наибольшая степень превращения достигается при $\lambda = 350$ нм. Переключение 465 → 425 нм не вызывает заметного изменения длины кристалла и средней степени превращения, однако кривизна кристалла меняет знак, что свидетельствует об изменении знака градиента степени превращения по толщине. Примерное равенство степени превращения при облучении светом с длинами волн 425 и 465 нм подтверждается одинаковым удлинением кристалла при переключениях 403 → 425 нм и 403 → 465 нм, а также 425 → 350 нм и 465 → 350 нм. Отрицательная кривизна кристалла, достигаемая после переключений 465 → 425 нм и 403 → 425 нм согласуется с результатами, представленными на рис. 3, и подтверждает необычный эффект более глубокого превращения на обратной стороне облучаемого кристалла. Значение предельной степени превращения при 375 нм оказывается промежуточной величиной между $\lambda = 350$ нм с одной стороны, и 425/465 нм с другой. Интересная особенность облучения кристалла при $\lambda = 375$ нм состоит в самом высоком значении положительной остаточной кривизны (многократно наблюдавшемся при переключениях 403 → 375 нм и 465 → 375 нм) и соответствующей поперечной неоднородности превращения $\Delta C \sim 2.3\%$.

Самый высокий пик изменения кривизны наблюдается при переключении 403 → 350 нм, что объясняется как самым высоким приростом степени превращения, так и высоким поглощением излучения $\lambda = 350$ нм. Несколько меньший прирост степени превращения при переключениях 403 → 375 нм и 403 → 465 нм приводит к некоторому снижению пиков кривизны кристалла из-за меньшего поглощения на этих длинах волн.

Эффект меньшего поглощения света особенно заметен на переключении 403 → 425 нм — не-

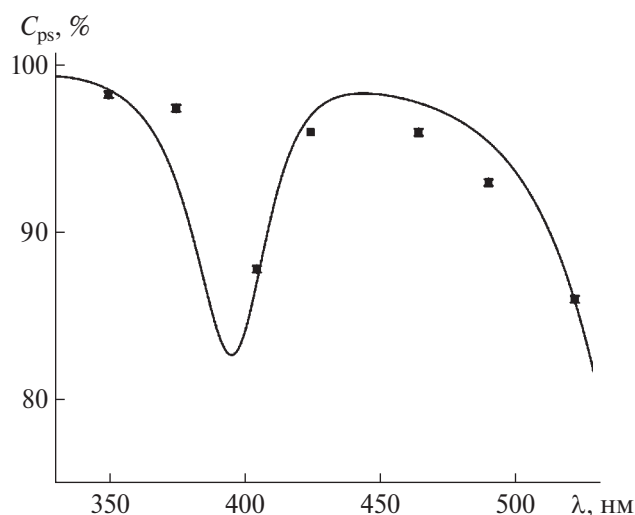


Рис. 6. Зависимость фотостационарной степени нитро-нитрито-изомеризации от длины волны при 0 °С в кристалле [Co(NH₃)₅NO₂]Cl(NO₃) (точки) и модель зависимости $C_{ps}(\lambda)$, согласно уравнению (3) при $\Phi_2/\Phi_1 = 0.04$ (линия).

смотря на одинаковое изменение степени превращения в случае переключения 403 → 465 нм, пик кривизны оказывается в четыре раза ниже. Изменение кривизны при переключениях 425 → 350 нм и 465 → 350 нм должно было бы иметь одинаковый характер, так как переход к новому состоянию начинается с примерно одинаковой степени превращения при облучении источниками с длинами волн 465 и 425 нм. Фактически наблюдаемые различия между этими кривыми объясняются тем, что процесс начинается с противоположных по знаку градиентов степени превращения. С учетом соответствующей разницы начальной кривизны кристалла наблюдается одинаковая амплитуда изменения кривизны в этих двух случаях. Наконец, отдельно стоит отметить результат переключения 425 → 491 нм — процесс достижения стационарной степени превращения при 491 нм оказался слишком долгим и не был завершён. Малая скорость процесса, вероятно, связана со снижением квантового выхода превращения в условиях низкой энергии возбуждающего света, что ранее наблюдалось при изучении превращения при $\lambda = 523$ нм [41].

Данные анализа по удлинению кристалла в результате различных переключений представлены в табл. 1, показывающей изменение стационарной степени превращения относительно ее значений при $\lambda = 425$ нм, а также зависимость стационарной степени превращения от длины волны, расчи-

Таблица 1. Зависимость фотостационарной степени нитро-нитрито-изомеризации при 0 °С в кристалле [Co(NH₃)₅NO₂]Cl(NO₃) от длины волны источника облучения

λ , нм	$C_{ps} - C_{ps}(425 \text{ нм})$, %	C_{ps} , %
350	2.2	98.2
375	1.5	97.5
403	-8.2	87.8
425	0	96.0
465	0	96.0
491	-3.0	93.0
523*	-10.0	86.0

* Оценка степени превращения для $\lambda = 523$ нм взята из работы [41].

танной, исходя из оценки достижения 96%-ного превращения при $\lambda = 425$ нм. Погрешность относительной степени превращения — 0.2%, абсолютной степени превращения — 1.4%. В таблицу также добавлена оценка степени превращения для источника с длиной волны 523 нм, полученная ранее в работе [41].

Довольно высокие значения степени превращения в табл. 1 согласуются с известными данными [8, 10] и указывают на то, что квантовый выход нитро-нитрито-реакции значительно превосходит квантовый выход обратной реакции. Степень превращения, равная 96% при $\lambda = 425$ нм, вблизи изобестической точки, позволяет оценить отношение $\Phi_2/\Phi_1 \approx 0.04$, согласно уравнению (3), что близко к оценке из работы [41].

Полученная кривая зависимости $C_{ps}(\lambda)$ имеет две области снижения, расположенные на краях полосы поглощения при 460 нм нитро-изомера. В этих областях выполняется соотношение $\mu_2 > \mu_1$. Это позволяет предположить, что зависимость $C_{ps}(\lambda)$ определяется, главным образом зависимостью $\mu_2(\lambda)/\mu_1(\lambda)$ от длины волны.

На рис. 6 показана зависимость $C_{ps}(\lambda)$, построенная согласно уравнению с $\Phi_2/\Phi_1 = 0.04$. Из этого рисунка видно, что полученная зависимость качественно согласуется с экспериментальными данными из табл. 1. Следовательно, зависимость $C_{ps}(\lambda)$ в основном определяется соотношением коэффициентов поглощения нитро- и нитрито-изомеров. Учитывая полученные ранее в работе [41] величины квантового выхода нитро-нитрито-изомеризации для изучаемых кристаллов, квантовый выход обратной реакции можно оценить

как меняющийся от 10^{-3} до $6 \cdot 10^{-3}$ в диапазоне длин волн от 523–403 нм.

Качественное объяснение гораздо более низкого квантового выхода нитрито-нитро-изомеризации по сравнению с прямой нитро-нитрито-реакцией, может быть связано с более низким положением уровня энергии реакционно активного возбужденного состояния нитрито-формы, по сравнению с энергией возбужденного состояния нитро-формы. Таким образом, в отличие от основного состояния, в котором NO_2^- -лиганд прочнее связан с комплексом в нитро-координации, в возбужденном состоянии большим взаимодействием может характеризоваться нитрито-координация. Это согласуется с тем, что наименьшая энергия возбуждения комплекса ($d-d$ -переход) в нитрито-форме на ~ 0.2 эВ меньше соответствующей энергии для нитро-формы. Эта величина больше, чем разница в значениях энергии основных состояний нитро- и нитрито-форм (~ 0.1 эВ), исходя из энтальпии превращения. Данное предположение объясняет почему термическая и фотохимическая реакции в данном случае преимущественно смещены к противоположным продуктам.

Качественная модель остаточной фотостационарной кривизны кристалла

Согласие простой модели зависимости $C_{ps}(\lambda)$ с экспериментальными данными позволяет проанализировать предсказание этой моделью наблюдаемых эффектов остаточной кривизны кристаллов в фотостационарном состоянии. При условии малой неоднородности зависимости стационарной степени превращения от глубины, $C_{ps}(x)$, кривизна кристалла выражается в виде

$$\frac{1}{R} = -\varepsilon_0 \frac{dC_{ps}}{dx}. \quad (4)$$

Так как градиент степени превращения вызывается смещением спектра излучения из-за его поглощения по мере прохождения через кристалл, мы можем приблизительно выразить его следующим уравнением, записанным в приближении узкого спектра излучения $\Delta\lambda/\lambda_m \ll 1$ (λ_m — средняя длина волны спектра излучения):

$$\frac{dC_{ps}(x)}{dx} = \frac{dC_{ps}(\lambda)}{d\lambda} \frac{d\lambda_m}{dx}. \quad (5)$$

Предполагая для простоты, что форма кривой исходного спектра излучения приближенно описывается гауссовой зависимостью от λ , и что по-

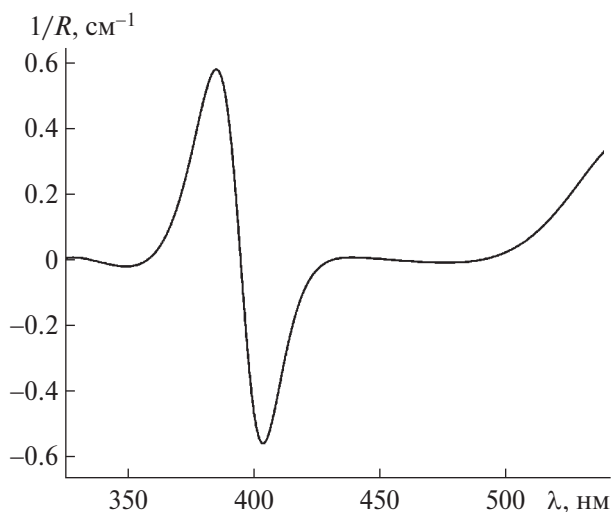


Рис. 7. Зависимость остаточной кривизны кристалла в фотостационарном состоянии от длины волны источника излучения, рассчитанная по уравнению (7).

глошение в стационарном состоянии обусловлено преимущественно нитрито-изомером, концентрация которого близка к 100%, для градиента средней длины волны спектра можно получить следующее выражение:

$$\frac{d\lambda_m}{dx} = \frac{\delta^2}{2} \frac{d\mu_2}{d\lambda}, \quad (6)$$

где δ — характерная ширина спектра источника излучения. Таким образом, получаем для остаточной кривизны приближенное уравнение вида

$$\frac{1}{R} = -\varepsilon_0 \frac{\delta^2}{2} \frac{dC_{ps}}{d\lambda} \frac{d\mu_2}{d\lambda}. \quad (7)$$

На рис. 7 представлена кривая остаточной кривизны, рассчитанная по уравнению при $\delta = 0.03\lambda_m$, что примерно соответствует ширине спектров использованных источников излучения. Как видно из этого рисунка, модель качественно верно предсказывает существование областей положительной и отрицательной остаточной кривизны, расположенных вблизи $\lambda = 400$ нм и примерно согласующихся по амплитуде с наблюдаемой кривизной кристалла при длинах волн 375 нм (~ 0.5 см $^{-1}$) и 425 нм (~ -0.14 см $^{-1}$).

Очевидно, что простое приближение, использованное в модели, не может обеспечить точного согласования с экспериментальными данными из-за отличия реального спектра поглощения кристалла от кривых поглощения в растворе, а также вследствие пренебрежения зависимостями величин квантовых выходов от длины волны

источника. В частности, для $\lambda = 403$ нм модель предсказывает близкий к максимальному эффект отрицательной остаточной кривизны, в то время как в эксперименте наблюдается незначительная положительная кривизна в фотостационарном состоянии при $\lambda = 403$ нм. Это позволяет предположить, что точка перехода между областями положительной и отрицательной кривизны (~ 395 нм на рис. 7) должна располагаться при несколько большей длине волны, т.е. около $\lambda = 405$ нм. Следовательно, реальная зависимость, представленная на рис. 7, может быть сдвинута на ~ 10 нм в область больших длин волн. Тем не менее полученный результат подтверждает главный вывод исследования о протекании обратной нитрито-нитро-фотоизомеризации, так как именно возникающая в результате этой реакции зависимость $C_{ps}(\lambda)$ приводит к эффектам остаточной кривизны кристалла из-за конечной ширины спектра источников излучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для ответа на вопрос о фотохимической обратимости превращений между двумя связевыми изомерами $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{NO}_2]^{2+}$ и $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{ONO}]^{2+}$ применен метод анализа удлинения и изгиба тонких кристаллов $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{NO}_2]\text{Cl}(\text{NO}_3)$, сопровождающих превращение. Чувствительность метода к изменению степени превращения достигает 0.2%, а к ее неоднородности по толщине кристалла — 0.04%. Это позволило определить зависимость фотостационарной степени превращения кристалла нитро-нитрито-реакции от длины волны излучения в диапазоне 350–491 нм.

Показано, что фотостационарная степень превращения при 0 °С находится в диапазоне от 88% (при $\lambda = 403$ нм) до 98% (при $\lambda = 350$ нм). Погрешность оценки абсолютной степени превращения — 1.4%. Полученные результаты подтверждают, что при засветке кристаллов в них одновременно происходят встречные фотохимические превращения нитро- в нитрито- и нитрито- в нитро-формы, приводящие со временем к фотостационарному состоянию, зависящему от длины волны. Установлено, что полученная зависимость фотостационарной степени превращения от длины волны определяется соотношением коэффициентов поглощения нитро- и нитрито-изомеров, и удовлетворительно описывается моделью, предполагающей постоянное отношение квантовых

выходов обратной Φ_2 и прямой Φ_1 реакций, т.е. $\Phi_2/\Phi_1 \approx 0.04$. Низкие величины квантового выхода нитрито-нитро-изомеризации Φ_2 , составляющие от 10^{-3} до $6 \cdot 10^{-3}$ для λ , лежащей в диапазоне 403–523 нм, могут указывать на большую энергию связи лиганда NO₂ в нитрито-координации, когда комплекс находится в возбужденном состоянии, что противоположно ситуации в основном состоянии.

В работе также обнаружен эффект слабого остаточного изгиба кристалла в фотостационарном состоянии, который объясняется смещением спектра излучения реальных немонохроматических источников света из-за поглощения в объеме кристалла. Наблюдаемый эффект дает дополнительное подтверждение существования определенной зависимости степени превращения от длины волны. Предложена модель, качественно объясняющая эффект и предсказывающая необычное явление достижения более высокой степени превращения на обратной стороне засвечиваемого кристалла.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-23-01130.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Gibbs W., Genth F.A.* Researches on the Ammonia-Cobalt Bases. Washington: Smithsonian Institution, 1856.
2. *Jørgensen S.M.* // Z. Anorg. Chem. 1894. V. 5. № 1. P. 147.
3. *Kauffman C.B.* // Coord. Chem. Rev. 1973. V. 11. № 2. P. 161.
4. *Boldyreva E.V.* // Mol. Cryst. Liq. Cryst. Sci. Technol., Sect. A. 1994. V. 242. № 1. P. 17.
5. *Болдырева Е.В.* // Координац. химия. 2001. Т. 27. № 5. С. 323.
6. *Басоло Ф., Пирсон Р.* Механизмы неорганических реакций: изучение комплексов металлов в растворе. М.: Мир, 1971.
7. *Scandola F., Bartocci C., Scandola M.A.* // J. Phys. Chem. 1974. V. 78. № 6. P. 572.
8. *Balzani V., Ballardini R., Sabbatini N., Moggi L.* // Inorg. Chem. 1968. V. 7. № 7. P. 1398.
9. *Kubota M., Ohba S.* // Acta Crystallogr., Sect. B. 1992. V. 48. № 5. P. 627.
10. *Heyns A.M., de Waal D.* // Spectrochim. Acta. Part A. 1989. V. 45. № 9. P. 905.
11. *Eslami A.* // Thermochim. Acta. 2004. V. 409. № 2. P. 189.
12. *Eslami A., Hasani N.* // Thermochim. Acta. 2014. V. 575. P. 114.
13. *Chizhik S., Sidelnikov A., Zakharov B., Naumov P., Boldyreva E.* // Chem. Sci. 2018. V. 9. № 8. P. 2319.

14. Adell B. // *Z. Anorg. Allg. Chem.* 1952. V. 271. № 1–2. P. 49.
15. Болдырева Е.В., Сидельников А.А., Чупахин А.П. и др. // *ДАН СССР*. 1984. Т. 277. № 4. С. 893.
16. Болдырева Е.В., Сидельников А.А. // *Изв. СО АН СССР. Сер. хим. наук*. 1987. Т. 5. С. 139.
17. Boldyreva E.V. // *Solid State Ionics*. 1997. V. 101–103. P. 843.
18. Boldyrev V.V., Boldyreva E.V. *Reactivity of Molecular Solids*. Chichester, England: John Wiley & Sons, 1999.
19. Luty T., Eckhardt C.J. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1995. V. 117. № 9. P. 2441.
20. Sidelnikov A.A., Chizhik S.A., Zakharov B.A., Chupakhin A.P., Boldyreva E.B. // *CrystEngComm*. 2016. V. 18. № 38. P. 7276.
21. Grenthe I., Nordin E. // *Inorg. Chem.* 1979. V. 18. № 7. P. 1869.
22. Ciofini I., Adamo C. // *J. Phys. Chem. A*. 2001. V. 105. № 6. P. 1086.
23. Johnson D.A., Pashman K.A. // *Inorg. Nucl. Chem. Lett.* 1975. V. 11. № 1. P. 23.
24. Muya J.T., Chung H., Lee S.U. // *RSC Adv.* 2018. V. 8. № 6. P. 3328.
25. Muya J.T., Meher B.R., Sahoo S.C., Chung H. // *Intern. J. Quantum Chem.* 2019. V. 119. № 14. P. e25929.
26. Jackson W.G. // *J. Chem. Educ.* 1991. V. 68. № 11. P. 903.
27. Phillips W.M., Choi S., Larrabee J.A. // *Ibid.* 1990. V. 67. № 3. P. 267.
28. Masciocchi N., Kolyshev A., Dulepov V., Boldyreva E., Sironi A. // *Inorg. Chem.* 1994. V. 33. № 12. P. 2579.
29. Beattie I.R., Satchell D.P.N. // *Trans. Faraday Soc.* 1956. V. 52. P. 1590.
30. Naumov P., Chizhik S., Panda M.K., Nath N.K., Boldyreva E. // *Chem. Rev.* 2015. V. 115. № 22. P. 12440.
31. Nath N.K., Panda M.K., Sahoo S.C., Naumov P. // *CrystEngComm*. 2014. V. 16. № 10. P. 1850.
32. Commins P., Desta I.T., Karothu D.P., Panda M.K., Naumov P. // *Chem. Commun.* 2016. V. 52. № 97. P. 13941.
33. White T.J. *Photomechanical Materials, Composites, and Systems: Wireless Transduction of Light into Work*. Wiley, 2017. P. 233.
34. Naumov P., Karothu D.P., Ahmed E., Catalano L., Commins P. et al. // *J. Amer. Chem. Soc.* 2020. V. 142. № 31. P. 13256.
35. Halabi J.M., Ahmed E., Sofela S., Naumov P. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2021. V. 118. № 5. P. e2020604118.
36. Громов С.П., Чибисов А.К., Алфимов М.В. // *Хим. физика*. 2021. Т. 40. № 4. С. 9.
37. Kitagawa D., Tanaka R., Kobatake S. // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2015. V. 17. № 41. P. 27300.
38. Hirano A., Kitagawa D., Kobatake S. // *CrystEngComm*. 2019. V. 21. № 15. P. 2495.
39. Kitagawa D., Kobatake S. // *J. Phys. Chem. C*. 2013. V. 117. № 40. P. 20887.
40. Kim T., Zhu L., Mueller L.J., Bardeen C.J. // *J. Amer. Chem. Soc.* 2014. V. 136. № 18. P. 6617.
41. Ahmed E., Chizhik S., Sidelnikov A., Boldyreva E., Naumov P. // *Inorg. Chem.* 2022. V. 61. № 8. P. 3573.
42. Schneider C.A., Rasband W.S., Eliceiri K.W. // *Nat. Methods*. 2012. V. 9. № 7. P. 671.
43. Mayerhöfer T.G., Pahlow S., Popp J. // *ChemPhysChem*. 2020. V. 21. № 18. P. 2029.

DETECTION OF PHOTOREVERSIBILITY OF NO₂-ONO LINKAGE ISOMERIZATION IN [Co(NH₃)₅NO₂]Cl(NO₃) CRYSTALS BY THE PHOTOMECHANICAL RESPONSE METHOD

S. A. Chizhik*, P. A. Gribov, V. Yu. Kovalskii, A. A. Sidelnikov

Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry Siberian Branch of Russian Academy of Science, Novosibirsk, Russia

*E-mail: stas@solid.nsc.ru

Linkage isomerization NO₂-ONO (nitro-nitrito) in the complex cation [Co(NH₃)₅NO₂]²⁺ is a well-studied classical reaction. It is believed that the photoisomerization of the nitro form to nitrito in the crystalline phase achieves complete transformation at low temperature, while the reverse transformation proceeds as a first-order thermal intramolecular reaction upon heating of the crystals. To date, there is no information about the possibility of reverse photoisomerization. In this work, photoisomerization in [Co(NH₃)₅NO₂]Cl(NO₃) crystals is investigated by the analysis of crystal deformation caused by the transformation at different wavelengths. A change in the lattice parameters during the transformation leads to reliably measurable elongation and bending of acicular crystals. It is shown that the limiting elongation of the crystal under prolonged irradiation depends on the wavelength, which proves the reversibility of photoisomerization. The quantum yield of the reverse reaction is estimated to be 0.04 of the quantum yield of the direct reaction.

Keywords: linkage isomerization NO₂, nitro-nitrito, photoisomerization, mechanical response to a photochemical reaction.

REFERENCES

1. Gibbs W. and Genth F.A. Researches on the Ammonia-cobalt Bases (Smithsonian Institution, 1856).
2. Jørgensen S.M. // Z. Anorg. Chem. 1894. V. 5. 147–196.
3. Kauffman G.B. // Coord. Chem. Rev. 1973. V. 11. P. 161–188.
4. Boldyreva E.V. // Molecular Crystals and Liquid Crystals Science and Technology. Section A. Molecular Crystals and Liquid Crystals. 1994. V. 242. P. 17–52.
5. Boldyreva E.V. // Russian Journal of Coordination Chemistry. 2001. V. 27. P. 297–323.
6. Basolo F., Pearson R.G. Mechanisms of inorganic reactions: Study of metal complexes in solution (John Wiley & Sons, Nashville, TN, 1967).
7. Scandola F., Bartocci C., Scandola M.A. // The Journal of Physical Chemistry. 1974. V. 78. P. 572–575.
8. Balzani V., Ballardini R., Sabbatini N., Moggi L. // Inorg. Chem. 1968. V. 7. P. 1398–1404.
9. Kubota M., Ohba S. // Acta Crystallogr., Sect. B. 1992. V. 48. P. 627–632.
10. Heyns A.M., de Waal D. // Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy. 1989. V. 45. P. 905–909.
11. Eslami A. // Thermochim. Acta. 2004. V. 409. P. 189–193.
12. Eslami A., Hasani N. // Thermochim. Acta. 2014. V. 575. P. 114–121.
13. Chizhik S., Sidelnikov A., Zakharov B., Naumov P., Boldyreva E. // Chemical Science. 2018. V. 9. P. 2319–2335.
14. Adell B. // Z. Anorg. Allg. Chem. 1952. V. 271. № 1–2. P. 49–64.
15. Boldyreva E.V., Sidelnikov A.A., Chupakhin A.P., Lyakhov N.Z., Boldyrev V.V. // Dokl. Akad. Nauk SSSR 1984. V. 277. P. 893–896.
16. Boldyreva E.V., Sidelnikov A.A. // Izv. Sib. Otd. Akad. Nauk SSR, Ser. Khim. Nauk 1987. V. 5.
17. Boldyreva E.V. // Solid State Ionics. 1997. V. 101–103. P. 843.
18. Kitagawa D., Tanaka R., Kobatake S. // Phys. Chem. Chem. Phys. 2015. V. 17. № 41. P. 27300.
19. Luty T., Eckhardt C.J. // J. Amer. Chem. Soc. 1995. V. 117. № 9. P. 2441.
20. Sidelnikov A.A., Chizhik S.A., Zakharov B.A., Chupakhin A.P., Boldyreva E.B. // CrystEngComm. 2016. V. 18. № 38. P. 7276.
21. Grenthe I., Nordin E. // Inorg. Chem. 1979. V. 18. № 7. P. 1869.
22. Ciofini I., Adamo C. // J. Phys. Chem. A. 2001. V. 105. № 6. P. 1086.
23. Johnson D.A., Pashman K.A. // Inorg. Nucl. Chem. Lett. 1975. V. 11. № 1. P. 23.
24. Muya J.T., Chung H., Lee S.U. // RSC Adv. 2018. V. 8. № 6. P. 3328.
25. Muya J.T., Meher B.R., Sahoo S.C., Chung H. // Intern. J. Quantum Chem. 2019. V. 19. № 14. P. e25929.
26. Jackson W.G. // J. Chem. Educ. 1991. V. 68. № 11. P. 903.
27. Phillips W.M., Choi S., Larrabee J.A. // Ibid. 1990. V. 67. № 3. P. 267.
28. Masciocchi N., Kolyshev A., Dulepov V., Boldyreva E., Sironi A. // Inorg. Chem. 1994. V. 33. № 12. P. 2579.
29. Beattie I.R., Satchell D.P.N. // Trans. Faraday Soc. 1956. V. 52. P. 1590.
30. Naumov P., Chizhik S., Panda M.K., Nath N.K., Boldyreva E. // Chem. Rev. 2015. V. 115. № 22. P. 12440.
31. Nath N.K., Panda M.K., Sahoo S.C., Naumov P. // CrystEngComm. 2014. V. 16. № 10. P. 1850.
32. Commins P., Desta I.T., Karothu D.P., Panda M.K., Naumov P. // Chem. Commun. 2016. V. 52. № 97. P. 13941.

33. *White T.J.* Photomechanical Materials, Composites, and Systems: Wireless Transduction of Light into Work. Wiley, 2017. P. 233.
34. *Naumov P., Karothu D.P., Ahmed E., Catalano L., Commins P. et al.* // J. Amer. Chem. Soc. 2020. V. 142. № 31. P. 13256.
35. *Halabi J.M., Ahmed E., Sofela S., Naumov P.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2021. V. 118. № 5. P. e2020604118.
36. *Gromov S.P., Chibisov A.K., Alfimov M.V.* // Russian Journal of Physical Chemistry B. 2021. V. 15. P. 219.
37. *Kitagawa D., Tanaka R., Kobatake S.* // Phys. Chem. Chem. Phys. 2015. V. 17. № 41. P. 27300.
38. *Hirano A., Kitagawa D., Kobatake S.* // CrystEngComm. 2019. V. 21. № 15. P. 2495.
39. *Kitagawa D., Kobatake S.* // J. Phys. Chem. C. 2013. V. 117. № 40. P. 20887.
40. *Kim T., Zhu L., Mueller L.J., Bardeen C.J.* // J. Amer. Chem. Soc. 2014. V. 136. № 18. P. 6617.
41. *Ahmed E., Chizhik S., Sidelnikov A., Boldyreva E., Naumov P.* // Inorg. Chem. 2022. V. 61. № 8. P. 3573.
42. *Schneider C.A., Rasband W.S., Eliceiri K.W.* // Nat. Methods. 2012. V. 9. № 7. P. 671.
43. *Mayerhofer T.G., Pahlow S., Popp J.* // ChemPhysChem. 2020. V. 21. № 18. P. 2029.

УДК 53.01

КИНЕТИКА ЗАХВАТА ПОЛЯРОНОВ НА ЛОВУШКИ
В КРИСТАЛЛЕ НИОБАТА ЛИТИЯ

© 2024 г. С. Г. Федоренко*

*Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского Сибирского отделения
Российской академии наук, Новосибирск, Россия***E-mail: fedorenk@kinetics.nsc.ru*

Поступила в редакцию 27.09.2022;

после доработки 15.10.2022;

принята в печать 20.10.2022

Проблема обратимой трансформации и захвата на ловушки поляронов малого радиуса в кристалле ниобата лития рассмотрена в рамках интегральной теории встреч, бинарной по концентрации реагентов. Получены аналитические решения для кинетики релаксации поляронов, их времен жизни и констант скоростей соответствующих каналов многостадийной реакции, контролируемой подвижностью поляронов. Проанализированы температурная и концентрационная зависимости наблюдаемых величин. Показано, что при низких температурах поляроны накапливаются в связанном состоянии, характеризующемся аномально низкой скоростью релаксации.

Ключевые слова: ниобат лития, свободные и связанные поляроны, фотоиндуцированное поглощение, модель Маркуса–Холстейна, поляронный транспорт, захват на ловушки, теория встреч, кинетика релаксации поляронов, среднее время жизни.

DOI: 10.31857/S0207401X24020044 EDN: WIUINC

1. ВВЕДЕНИЕ

Транспорт и захват на ловушки поляронов малого радиуса играют ключевую роль в формировании замечательных свойств кристаллов ниобата лития (НЛ), столь широко используемых для многочисленных практических приложений, таких как интегральная и нелинейная оптика, оптоэлектроника, голография, фотогальваника, оксидный катализ [1–8].

Стандартный кристалл НЛ конгруэнтной композиции содержит большое количество точечных дефектов, таких как вакансии в подрешетке лития (V_{Li}^-), антисайт-дефекты (Nb_{Li}^{5+} — ион ниобия занимает вакансию в подрешетке лития), различные внешние добавки и примеси. Соответственно, все это создает условия для существования трех типов поляронов в кристалле НЛ [9]: свободные поляроны (Φ) формируются на регулярных узлах подрешетки ниобия Nb_{Nb}^{5+} , связанные поляроны (P) захватываются на антисайты Nb_{Li}^{5+} , на соответствующих соседних узлах $Nb_{Nb}^{5+}:Nb_{Li}^{5+}$, как композиция свободных и связанных поляронов могут образовываться устойчивые образования — биполяроны. Кроме того, на примесных центрах могут образовываться примесные поляроны. В частности, весьма распространенным случаем

являются $Fe_{Li}^{2+/3+}$ -центры, которые играют роль глубоких ловушек для фотовозбужденных электронов и поляронов. При поглощении высокоэнергетических фотонов, вызывающих межзонные переходы, возможно образование дырочных поляронов, локализованных на O^- -центрах.

Современные эксперименты по спектроскопии индуцированного светом поглощения с временным разрешением позволяют селективно наблюдать кинетику релаксации заселенности поляронов в широком диапазоне времен [9, 10]. Однако интерпретация экспериментальных данных с микроскопической точки зрения весьма затруднена из-за сложности механизма взаимодействия различных типов носителей заряда и их захвата на ловушки. Феноменологический анализ кинетики с помощью так называемых “растянутых” экспоненциальных функций Кольрауша–Вильяма–Уоттса не дает ничего нового в физическом понимании [10]. Моделирование методом Монте-Карло, к сожалению, не дает ответа на вопрос о микроскопической детализации кинетического механизма захвата поляронов на ловушки, без чего невозможно понять общие кинетические закономерности процесса [11]. Кроме

того, при отсутствии аналитических решений возникает проблема тестирования численных расчетов.

Чтобы исправить ситуацию в настоящей работе мы решаем задачу расчета кинетики релаксации поляронов, исходя из микроскопического описания динамики полярона с помощью модели стохастических прыжков, задаваемых неадиабатической вероятностью Маркуса–Холстейна [12, 13]. В настоящей работе мы фокусируемся на часто реализуемой на практике ситуации легирования кристалла ниобата лития ионами железа. Можно считать, что в такой системе при достаточно низких интенсивностях лазерного возбуждения все фотоиндуцированные заряды генерируются из примесных центров Fe^{2+} , что позволяет исключить из рассмотрения локализованные на антисайтах дырочные поляроны и более сложные образования — биполяроны, образующиеся в процессе ассоциации свободных и связанных поляронов. При такой постановке задачи в системе остаются три активных игрока: свободные и связанные поляроны, способные обратимо переходить друг в друга, и ловушки, ионы Fe^{3+} , на которые необратимо захватываются оба типа поляронов.

В настоящей работе мы решили эту задачу аналитически. Получены явные кинетические зависимости свободных и связанных поляронов от микроскопических параметров взаимодействия, температуры и концентрации примесных узлов и вакансий. Вычислены средние времена жизни поляронов, их температурная и концентрационная зависимости.

2. КИНЕТИЧЕСКИЕ УРАВНЕНИЯ

Введем обозначения для нашей реагирующей системы: А — антисайт $\text{Nb}_{\text{Li}}^{5+}$ -подрешетки лития, В — регулярный сайт $\text{Nb}_{\text{Nb}}^{4+}$ -подрешетки ниобия, F — свободный полярон $\text{Nb}_{\text{Nb}}^{4+}$, P — связанный полярон $\text{Nb}_{\text{Li}}^{5+}$, T — активная ловушка $\text{Fe}_{\text{Li}}^{2+}$, T_f — заполненная ловушка $\text{Fe}_{\text{Li}}^{2+}$. Термические перескоки поляронов, их трансформацию и захват на ловушки мы будем описывать неадиабатической вероятностью Маркуса–Холстейна между начальным (*i*) и конечным (*f*) состояниями [12, 13]:

$$W_{if}(r) = w_{if} \exp\left(-\frac{2r}{L_{if}}\right), \quad (1)$$

$$w_{if} \equiv w_{if}(T) = \left(\frac{\pi}{kT\lambda_{if}}\right)^{1/2} \frac{I_{if}^2}{\hbar} \exp\left(-\frac{U_{if}}{kT}\right).$$

Здесь I_{if} — резонансный интеграл; L_{if} — характерный масштаб перекрытия волновых функций начального и конечного состояний; $\lambda_{if} = E_i + E_f$ — энергия реорганизации решетки, равная сумме энергии упругой деформации решетки в начальном и конечном состояниях; U_{if} — прыжковый барьер, равный энергии активации прыжка из начального в конечное состояние. В теории Маркуса прыжковый барьер является квадратичной функцией энергии реорганизации среды, λ_{if} , и теплового эффекта реакции $J_{if} = E_f + \varepsilon_f - E_i - \varepsilon_i$:

$$U_{if} = \frac{(\lambda_{if} - J_{if})^2}{4\lambda_{if}} = \frac{(2E_f + \varepsilon_f - \varepsilon_i)^2}{4(E_i + E_f)}, \quad (2)$$

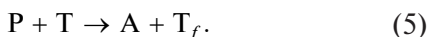
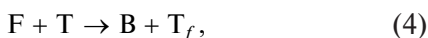
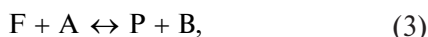
где ε_i , ε_f — дополнительные энергии кулоновского притяжения примесных центров (для свободных поляронов она равна нулю).

В эксперименте максимум пика поглощения, связанного с поляронами *i*-типа, наблюдается на частоте $M_i = 2E_i + \varepsilon_i$. Полуширина полосы поглощения при этом равна $\delta E_i = 2(E_i \hbar \omega_{LO}^i \ln 2)^{1/2}$, где ω_{LO}^i — частота продольных колебаний оптических фононов, участвующих в образовании поляронов *i*-типа. Измерение M_i и δE_i , в принципе, позволяет определить E_i и ε_i , если известно значение ω_{LO}^i . Однако этот параметр обычно точно не известен, поэтому невозможно прямое определение E_i и ε_i из спектроскопических данных. Последние должны корректироваться кинетическими измерениями, поскольку кинетика релаксации поляронов существенно зависит от прыжковых барьеров (2). Для конкретных расчетов в настоящей работе мы воспользуемся литературными данными, приведенными в [9–11]: $E_F = 0.54$ эВ, $E_P = 0.75$ эВ, $\varepsilon_P = 0.19$ эВ, $E_{Fe} = 0.7$ эВ, $\varepsilon_{Fe} = 1.22$ эВ.

В формулах (1), (2) индексы “*i*”, “*f*” могут принимать значения (F, P, T). Однако мы сразу исключим из рассмотрения процессы обратного выпрыгивания поляронов из глубоких ловушек ($T_f \rightarrow F$, $T_f \rightarrow P$), так как прыжковый барьер этих процессов составляет более 1 эВ. Мы также исключим из рассмотрения прыжки примесных поляронов между Fe^{3+} -ловушками ввиду малой концентрации последних. Таким образом, в нашей системе поляронов остается шесть различных вероятностей термических перескоков, описывающих следующие процессы: миграции Ф-поляронов по регулярным сайтам (W_{FF} , $U_{FF} = 0.27$ эВ), миграции П-поляронов по антисайтам (W_{PP} ,

$U_{pp}=0.375$ эВ), захвата на ловушки Ф- и П-поляронов (W_{FT} , $U_{FT}=0.0039$ эВ; W_{PT} , $U_{PT}=0.0037$ эВ), и, наконец, процессы обратимой трансформации Ф- и П-поляронов друг в друга (W_{FP} , $U_{FP}=0.157$ эВ; W_{PF} , $U_{PF}=0.547$ эВ).

Процессы трансформации поляронов и их захват на ловушки описываются следующим механизмом реакции:



Согласно условиям эксперимента в момент времени $t=0$ создается начальная концентрация Ф-поляронов $[F]_0$ и ведется наблюдение за концентрацией Ф- и П-поляронов, изменяющейся со временем. Мы будем интересоваться кинетикой свободных, $N_F(t)=[F]_t/[F]_0$, и связанных, $N_P(t)=[P]_t/[F]_0$ -поляронов.

В пределе быстрой миграции, когда доставка поляронов в зону реакций не лимитирует течение последних (так называемый кинетический предел), исследуемая кинетика может быть описана кинетическими уравнениями, составленными по закону действующих масс. Вводя концентрацию антисайтов — $[A]_0=\rho_A$, регулярных сайтов — $[B]_0=\rho_B$, и считая, что концентрация ловушек $[T]_0=c$ гораздо больше концентрации свободных и связанных поляронов, мы можем записать кинетические уравнения в следующем виде:

$$\frac{dN_F(t)}{dt} = -k_{FP}\rho_A N_F(t) + k_{PF}\rho_B N_P(t) - k_{FT}c N_F(t), \quad (6)$$

$$\frac{dN_P(t)}{dt} = k_{FP}\rho_A N_F(t) - k_{PF}\rho_B N_P(t) - k_{PT}c N_P(t). \quad (7)$$

Здесь кинетические константы скорости k_{if} не зависят от подвижности поляронов, а являются результатом интегрирования соответствующих вероятностей перескока $W_{if}(r)$ по зоне реакции около расстояния наибольшего сближения R_{if} пары i, f -реагентов:

$$k_{if} = 4\pi \int_{R_{if}}^{\infty} dr r^2 W_{if}(r) = \pi L_{if}^3 w_{if}(T) e^{-2R_{if}/L_{if}} \left[1 + \frac{2R_{if}}{L_{if}} + \left(\frac{2R_{if}}{L_{if}} \right)^2 \right]. \quad (8)$$

Важным обстоятельством является то, что константы скорости прямой (k_{FP}) и обратной (k_{PF}) реакций, равно как и вероятности элементарных прыжков $W_{FP}(r)$ и $W_{PF}(r)$, должны удовлетворять принципу детального баланса [14]:

$$\frac{W_{PF}(r)}{W_{FP}(r)} = \frac{k_{PF}}{k_{FP}} = \exp\left(\frac{U_{FP}-U_{PF}}{k_B T}\right) = \gamma. \quad (9)$$

Это автоматически уменьшает число независимых параметров системы, так как накладываются жесткие условия на соответствие элементарных параметров прямой и обратной реакции: $L_{FP}=L_{PF} \equiv L$; $R_{FP}=R_{PF} \equiv R$; $I_{FP}=I_{PF}$; $\lambda_{FP}=\lambda_{PF}$.

В общем случае произвольной подвижности поляронов, когда процессы (3)–(5) могут контролироваться доставкой реагентов в зоны реакций, в системе возникают многочастичные корреляции в расположениях реагентов, учет которых сильно усложняет решение проблемы. В этом случае формально точные уравнения, которым подчиняется на кинетика, можно записать, вводя в правой части уравнений (6), (7) отклонения парной функции распределения $f_{ij}(r, t)$ от произведения концентраций (парные π -формы) [15]:

$$[X_i][X_f] \rightarrow f_{if}(r, t) = [X_i][X_f] + \pi_{if}(r, t). \quad (10)$$

Парные π -формы описывают корреляции относительного расположения реагентов, возникающие в однородной системе в результате сближения и взаимодействия реагентов. Очевидно, что в начальный момент времени в однородно распределенной системе корреляции равны нулю. Они появляются в процессе реагирования и при выходе реакционной системы на квазистационарный уровень достигают максимальных пространственных масштабов, равных характерным размерам соответствующих реакционных зон, R_Q^i , многочастичной системы. Эти реакционные радиусы в конечном счете и определяют стационарные константы скорости $K_{ij} = 4\pi D_i R_Q^i$ миграционно-контролируемых реакций. Соответственно, на больших относительных расстояниях реагентов корреляции всегда равны нулю: $\pi_{ij}(r, t=0) = \pi_{ij}(r \rightarrow \infty, t) = 0$.

Подставляя выражения (10) в (6), (7) и учитывая (8), после некоторых преобразований можно получить интегро-дифференциальные кинетические уравнения, строго учитывающие возникновение парных корреляций, возникающих при протекании бимолекулярных реакций (3)–(5):

$$\frac{dN_F(t)}{dt} = -\int_0^t R_{FP}(t-\tau)[\rho_A N_F(\tau) - \rho_B \gamma N_P(\tau)]d\tau - c \int_0^t R_{FT}(t-\tau)N_F(\tau)d\tau, \quad (11)$$

$$\frac{dN_P(t)}{dt} = \int_0^t R_{FP}(t-\tau)[\rho_A N_F(\tau) - \rho_B \gamma N_P(\tau)]d\tau - c \int_0^t R_{PT}(t-\tau)N_F(\tau)d\tau. \quad (12)$$

Лаплас-образы ядер $\tilde{R}_{ij}(s)$ кинетических уравнений здесь определяются через алгебраические комбинации лаплас-образов π -форм $\tilde{\pi}_{ij}(r, s)$ и кинетики следующим образом:

$$\tilde{R}_{FP}(s) = \int d^3r W_{FP}(r) \times \left\{ 1 + \frac{\gamma \tilde{\pi}_{BP}(r, s) - \tilde{\pi}_{AF}(r, s)}{[\rho_A \tilde{N}_F(s) - \rho_B \gamma \tilde{N}_P(s)]} \right\} = \gamma \tilde{R}_{PF}(s), \quad (13)$$

$$\tilde{R}_{FT}(s) = \int d^3r W_{FT}(r) \left[1 + \frac{\tilde{\pi}_{FT}(r, s)}{c \tilde{N}_F(s)} \right], \quad (14)$$

$$\tilde{R}_{PT}(s) = \int d^3r W_{PT}(r) \left[1 + \frac{\tilde{\pi}_{PT}(r, s)}{c \tilde{N}_P(s)} \right]. \quad (15)$$

Заметим, что, несмотря на то, что ядра $\tilde{R}_{FP}(s)$ и $\tilde{R}_{PF}(s)$ в соотношении (13) обратимой реакции (3) сложным образом зависят от характера относительного сближения реагентов, для них остается в силе принцип детального баланса (9).

Кинетические уравнения (11), (12) не замкнуты, так как функции $\tilde{\pi}_{ij}(r, s)$ в общем случае подчиняются бесконечной системе уравнений, описывающих динамику многочастичных корреляций в реагирующей системе [15]. В литературе существует достаточное количество работ, посвященных различным способам обрыва бесконечной системы уравнений и замыкания кинетических уравнений для различных видов элементарных бимолекулярных реакций [16–19]. Для исследуемой многостадийной реакции (3)–(5) мы воспользуемся приближением интегральной теории встреч [14], состоящим в пренебрежении всеми трехчастичными корреляциями в уравнениях для парных π -форм [17]. Прделав такую процедуру, мы получаем систему уравнений для парных π -форм:

$$\frac{\partial \pi_{AF}(r, t)}{\partial t} = \hat{L}_F \pi_{AF} - W_{FP}(r)[\pi_{AF} + \rho_A N_F(t)] + W_{PF}(r)[\pi_{BP} + \rho_B N_P(t)], \quad (16)$$

$$\frac{\partial \pi_{BP}(r, t)}{\partial t} = \hat{L}_P \pi_{BP} + W_{FP}(r)[\pi_{AF} + \rho_A N_F(t)] - W_{PF}(r)[\pi_{BP} + \rho_B N_P(t)], \quad (17)$$

$$\frac{\partial \pi_{FT}(r, t)}{\partial t} = \hat{L}_F \pi_{FT}(r, t) - W_{FT}(r) \times [\pi_{FT}(r, t) + c N_F(t)], \quad (18)$$

$$\frac{\partial \pi_{PT}(r, t)}{\partial t} = \hat{L}_P \pi_{PT}(r, t) - W_{PT}(r) \times [\pi_{PT}(r, t) + c N_P(t)], \quad (19)$$

где $\hat{L}_i$ — операторы движения поляронов. Нетрудно заметить, что система уравнений распадается на три невязимодействующие части: связанные уравнения (16), (17), описывающие динамику корреляций, возникающих в обратимой реакции (3), и два независимых уравнения (18), (19), описывающих захват Φ - и P -поляронов на ловушки (4), (5).

Таким образом, мы получили замкнутую систему кинетических уравнений (11)–(19), описывающую кинетику релаксации свободных и связанных поляронов с учетом динамики парных корреляций, возникающих в процессе их сближения и взаимодействия. Отметим, что уравнения справедливы в том случае, когда характерные радиусы парных корреляций, описанные вокруг реагентов, не перекрываются в объеме, что и является условием отсутствия корреляций высшего порядка. Это условие означает, что малы так называемые параметры бинарности ξ_{ij} каждой элементарной стадии многостадийной реакции (1)–(3):

$$\xi_{ij} = \frac{4\pi}{3} (R_Q^{ij})^3 [X_j] \ll 1. \quad (20)$$

Это условие достигается в случае достаточно малых концентраций либо в ситуации достаточно быстрого движения поляронов.

Условие бинарного описания (20) фактически означает, что средние времена парных встречи реагентов, $\tau_c^{ij} = (R_Q^{ij})^2 / D_i$, задающее масштаб изменения ядер в (11), (12), гораздо меньше средних времен между встречами, $\tau_f^{ij} = (4\pi D_i R_Q^{ij} [X_j])^{-1}$, которые определяются обратными стационарными скоростями соответствующих реакций: $\tau_c^{ij} / \tau_f^{ij} \ll 1$. Из этого следует, что при выполнении условия (20) кинетика реагирующей системы за достаточно короткие времена τ_c^{ij} выходит на квазистационар с константами скорости

$$K_{ij} = \tilde{R}_{ij}(s=0) = \int_0^\infty R_{ij}(t) dt. \quad (21)$$

Кинетические уравнения (11), (12) при этом переходят в следующие:

$$\frac{dN_F(t)}{dt} = -K_{FP}[\rho_A N_F(t) - \rho_B \gamma N_P(t)] - K_{FT} c N_F(t), \quad (6a)$$

$$\frac{dN_P(t)}{dt} = K_{FP}[\rho_A N_F(t) - \rho_B \gamma N_P(t)] - K_{PT} c N_P(t). \quad (7a)$$

Фактически, они дублируют уравнения (6), (7) с точностью до переопределения кинетических констант скоростей элементарных стадий на соответствующие стационарные константы: $k_{ij} \rightarrow K_{ij}$.

3. КОНСТАНТЫ СКОРОСТИ ЗАХВАТА НА ЛОВУШКИ

Прежде чем приступить к расчету ядер (13)–(15) кинетических уравнений (11), (12), мы должны определить операторы движения поляронов. Свободные поляроны движутся посредством стохастических прыжков по регулярным узлам Nb_{Nb}^{5+} кубической подрешетки ниобия с вероятностью $W_{FF}(r)$ в единицу времени. В зависимости от того, как пространственный масштаб этих прыжков соотносится с характерным размером области затухания вероятности захвата на ловушки, $W_{FF}(r)$, формируется механизм реакции. Наиболее вероятные прыжки поляронов происходят между ближайшими соседними узлами подрешетки, разделенными расстоянием $d = 3.765A$. Для поляронов малого радиуса характерный масштаб затухания вероятности должен быть меньше или порядка постоянной решетки: $L_{FF}/2 \leq d$. Поэтому приближенно можно считать, что захват Ф-поляронов на ловушки происходит по диффузионному механизму [14], когда полярон проходит зону реакции посредством многих прыжков малого масштаба. В этом случае оператор движения в уравнениях (16), (18) имеет вид

$$\hat{L}_F = D_F \frac{1}{r} \frac{\partial^2}{\partial r^2} r, \quad D_F = \frac{1}{6} \sum_j W_{FF}(r_j) r_j^2. \quad (22)$$

Суммирование в (22) идет по всем узлам кубической подрешетки ниобия.

Связанные поляроны могут перемещаться только по антисайтам Nb_{Li}^{5+} , которые составляют

только 1% от регулярных узлов подрешетки лития. Поэтому среднее расстояние между ними, определяющее характерный масштаб прыжка полярона, гораздо больше постоянной решетки:

$$\lambda = \left(\frac{4\pi}{3} \rho_A \right)^{-1/3} \approx 10.5A \gg d.$$

Таким образом, связанный полярон проходит в тушащий слой реакции шириной $L_{PT}/2$ одним большим прыжком, и захват на ловушку происходит быстрее формирования коэффициента диффузии. Такой механизм называется прыжковым механизмом реакции [14]. В пределе больших масштабов λ прыжковый оператор определяется следующим образом:

$$\hat{L}_P f(r) = -\frac{1}{\tau_{PP}} [f(r) - f(r \rightarrow \infty)]. \quad (23)$$

Здесь τ_{PP} — среднее время между прыжками полярона по неупорядоченной системе антисайтов. Оно равно интегралу от кинетики эмиграции носителей из первоначально занятого узла решетки. Заметим, что эта кинетика в неупорядоченной системе неэкспоненциальна. Введение оператора (23) означает, что мы переходим к марковскому описанию процесса случайных блужданий с экспоненциальной функцией эмиграции. Физически это эквивалентно введению эффективной упорядоченной решетки антисайтов со скоростью ухода $1/\tau_{PP}$, одинаковой для каждого центра.

В литературе попытки расчета τ_{PP} предпринимались в рамках разных теорий примесной прыжковой проводимости [20–24]. Было показано, что существенной особенностью этой величины является экспоненциальная зависимость от концентрации примесных центров. Последнее обуславливает существование порога протекания — критического расстояния между примесями, r_C , больше которого невозможно образование бесконечного перколяционного кластера в неупорядоченной системе: $\tau_{PP} \sim \exp(2r_C/L_{PP})$, $r_C \sim \rho_A^{-1/3}$. В настоящее время считается, что наиболее точно критическое расстояние оценивается теорией перколяции: $r_C \approx 1.39\lambda$ [20]. Более полное выражение для τ_{PP} с учетом предэкспоненциального множителя получается в рамках самосогласованной диаграммной техники, предложенной в работе [25]:

$$\tau_{PP} = \frac{1}{2w_{PP}(T)} \exp\left(\frac{2r_C}{L_{PP}}\right). \quad (24)$$

Двойка в знаменателе появляется из-за обратимости прыжков поляронов, а значение r_c получается несколько заниженным по сравнению с результатом перколяционной теории. В настоящей работе мы будем использовать выражение (24) с перколяционной оценкой r_c .

Проводя преобразование Лапласа над уравнением (18) и подставляя в него (22), мы получаем неоднородное диффузионное уравнение с экспоненциально зависящей от расстояния вероятностью реакции:

$$s\tilde{\pi}_{\text{FT}}(r,s) = D_F \frac{1}{r} \frac{\partial^2}{\partial r^2} r\tilde{\pi}_{\text{FT}}(r,s) - W_{\text{FT}}(r)[\tilde{\pi}_{\text{FT}}(r,s) + c\tilde{N}_F(s)], \quad (25)$$

которое надо решать с граничными условиями

$$4\pi d^2 D_F \left. \frac{d\tilde{\pi}_{\text{FT}}(r,s)}{dr} \right|_{r=R} = 0, \quad \pi_{\text{FT}}(r \rightarrow \infty, s) = 0.$$

Аналитическое решение подобного (25) уравнения было получено в работах [26, 27], где рассматривался фотоиндуцированный перенос электрона с последующим образованием зарядовой пары, ассоциирующей в эксиплекс [28]. Мы не будем его здесь приводить в силу его объемности. Как уже было отмечено, это решение достаточно быстро выходит на стационарную стадию, на которой формируется стационарная константа скорости захвата поляронов:

$$K_{\text{FT}} = \tilde{R}_{\text{FT}}(s=0) = 4\pi D_F R_Q^{\text{FT}}, \quad (26)$$

$$R_Q^{\text{FT}} = R + L_{\text{FT}} \left(\ln \frac{x_0}{2} + C \right) + \frac{K_0(x_0) - (x_0 R/L_{\text{FT}}) K_1(x_0)}{I_0(x_0) + (x_0 R/L_{\text{FT}}) I_1(x_0)}, \quad (27)$$

где $C = 0.5772$ — константа Эйлера. Здесь введен безразмерный параметр

$$x_0 = \sqrt{\frac{w_{\text{FT}}(T) L_{\text{FT}}^2}{D_F}}. \quad (28)$$

Под корнем в (28) стоит произведение вероятности захвата на время диффузионного прохождения полярона через тушащий слой L_{FT} , поэтому этот параметр характеризует эффективность диффузионного захвата. При быстрой диффузии параметр x_0 мал. В этом случае, разлагая функции Бесселя в ряд, можно показать, что радиус захвата при $x_0 \rightarrow 0$ стремится к нулю: $R_Q^{\text{FT}} \rightarrow k_{\text{FT}}/(4\pi D_F)$. В этом пределе константа скорости K_{FT} переходит

в кинетическую константу: $K_{\text{FT}} \rightarrow k_{\text{FT}}$. Напротив, когда $x_0 \gg 1$, эффективный радиус “выдвигается” далеко за пределы контакта реагентов, т.е. $R_Q^{\text{FT}} \gg R$, и захват полярона контролируется диффузией:

$$R_Q^{\text{FT}} = R + L_{\text{FT}} \left(\ln \frac{x_0}{2} + C \right); \quad x_0 \gg 1.$$

Заметим, что выражение (27) для стационарного диффузионного радиуса реакции впервые было получено в работе [29].

Для связанных поляронов после подстановки оператора (23) в уравнение (19) и преобразования Лапласа получается алгебраическое уравнение. Подставляя его решение в (15) и переходя к пределу $s \rightarrow 0$, получаем выражение для константы скорости прыжкового захвата на ловушки [14]:

$$K_{\text{PT}} = \tilde{R}_{\text{PT}}(s=0) = 4\pi \int_d^\infty \frac{W_{\text{PT}}(r)}{1 + W_{\text{PT}}(r)\tau_{\text{PP}}} r^2 dr. \quad (29)$$

Подобные интегралы встречаются в статической физике при рассмотрении функции распределения Ферми–Дирака с “температурой” $L_{\text{PT}}/2$, “химическим потенциалом” — радиусом эффективного прыжкового захвата полярона R_w^{PT} , который определяется из условия $W_{\text{PT}}(R_w^{\text{PT}})\tau_{\text{PP}} = 1$. Подставляя значения $W_{\text{PT}}(r)$ из (1) и τ_{PP} из (24), получаем выражение

$$R_w^{\text{PT}} = \frac{L_{\text{PT}}}{2} \ln[w_{\text{PT}}(T)\tau_{\text{PP}}] = \frac{L_{\text{PT}}}{2} \left[\frac{2r_c}{L_{\text{PP}}} + \frac{U_{\text{PP}} - U_{\text{PT}}}{kT} + \frac{1}{2} \ln \left(\frac{\lambda_{\text{PP}}}{4\lambda_{\text{PT}}} \right) \right]. \quad (30)$$

Как следует из соотношения (30), первое слагаемое зависит от концентрации антисайтов, второе — от температуры. Прыжковый радиус растет как при уменьшении концентрации антисайтов, так и при уменьшении температуры ($U_{\text{PP}} > U_{\text{PT}}$). Для конгруэнтных кристаллов $r_c \sim 14.6 \text{ \AA} \gg L_{\text{PP}} \sim d$, поэтому условие эффективного захвата полярона: $R_w^{\text{PT}} \gg L_{\text{PP}} \sim d$, реализуется при любых температурах за счет малой концентрации антисайтов. В этой ситуации интегрирование в (29) дает следующее выражение для константы скорости:

$$K_{\text{PT}} = \frac{4\pi}{3\tau_{\text{PP}}} (R_w^{\text{PT}})^3 \left[1 + \left(\frac{\pi L_{\text{PT}}}{2R_w^{\text{PT}}} \right)^2 - \left(\frac{d}{R_w^{\text{PT}}} \right)^3 \right]. \quad (31)$$

В отличие от диффузионного случая константа скорости прыжкового захвата пропорциональна

объему реакционной зоны, умноженному на частоту прыжков.

4. КОНСТАНТЫ СКОРОСТИ ОБРАТИМОЙ РЕАКЦИИ

Ядро обратимой реакции определяется решением системы уравнений (16), (17). Производя преобразование Лапласа над уравнениями и выражая из (17) $\tilde{\pi}_{BP}(r, s)$ через $\tilde{\pi}_{AF}(r, s)$, получаем соотношения

$$s\tilde{\pi}_{AF}(r, s) = D_F \frac{1}{r} \frac{\partial^2}{\partial r^2} r\tilde{\pi}_{AF}(r, s) - \frac{W_{FP}(r)}{1 + W_{FP}(r)\tilde{\tau}(s)} [\tilde{\pi}_{AF}(r, s) - \Delta\tilde{N}(s)], \quad (32)$$

$$\tilde{\pi}_{BP}(r, s) = \frac{1}{(s + 1/\tau_P)} \left[\frac{W_{FP}(r)}{1 + W_{FP}(r)\tilde{\tau}(s)} \right] \times \times [\tilde{\pi}_{AF}(r, s) - \Delta\tilde{N}(s)]. \quad (33)$$

Здесь введены следующие обозначения:

$$\Delta\tilde{N}(s) = \rho_B \gamma \tilde{N}_P(s) - \rho_A \tilde{N}_F(s), \\ \tilde{\tau}(s) = \gamma \tau_{PP} / (1 + s\tau_{PP}).$$

Далее, воспользовавшись определением (13) ядра $\tilde{R}_{FP}(s)$, переходя к пределу $s \rightarrow 0$ и вводя новую функцию

$$n(r) = \lim_{s \rightarrow 0} \left[1 + \frac{s\tilde{\pi}_{AF}(r, s)}{s\Delta\tilde{N}(s)} \right], \quad (34)$$

можно получить выражения для константы скорости обратимой реакции:

$$K_{FP} = \tilde{R}_{FP}(0) = \gamma \tilde{R}_{PF}(0) = \int d^3r \frac{W_{FP}(r)}{1 + W_{FP}(r)\tau} n(r). \quad (35)$$

Здесь $\tau = \tilde{\tau}(s=0) = \gamma \tau_{PP}$. Функция (34) подчиняется однородному дифференциальному уравнению

$$D_F \frac{1}{r} \frac{d^2}{dr^2} r n(r) - \frac{W_{FP}(r)}{1 + W_{FP}(r)\tau} n(r) = 0 \quad (36)$$

с граничными условиями:

$$n(r \rightarrow \infty) = 1, \quad \left. \frac{dn(r)}{dr} \right|_{r=R} = 0.$$

Таким образом, задача об определении константы скорости обратимой реакции свелась к решению уравнения (36) вместо двух уравнений — (32) и (33). Решение этого уравнения с экспоненциально зависящей от расстояния вероятностью

(1) было получено в работе [29] для расчета константы скорости необратимой реакции при учете квантовой динамики парных встреч. Впоследствии такое же уравнение было получено для описания перехода между диффузионным и прыжковым механизмами необратимой реакции в работах [30, 31]. Для нашего случая, после соответствующего переопределения параметров, решение уравнения (36) приводит к следующему выражению для константы скорости обратимой реакции (2):

$$K_{FP} = 4\pi D_F R_Q^{FP}, \quad (37)$$

где для эффективного радиуса реакции справедливо выражение

$$R_Q^{FP} = R + \frac{L}{2} [\ln Z + 2C + 2\psi(v) + v^{-1} + 2\pi \operatorname{ctg}(\pi v) \Lambda(Z, \eta, v)], \quad (38)$$

$$\Lambda(Z, \eta, v) = \left[1 - \frac{\Gamma^2(-v)\Gamma(2v)}{\Gamma^2(v)\Gamma(-2v)} Z^{2v} \frac{\varphi(-v)}{\varphi(v)} \right]^{-1},$$

$$\varphi(v) = F(v, v, 1 + 2v, -Z^{-1}) - 2\eta v F(v, 1 + v, 1 + 2v, -Z^{-1}).$$

Здесь $F(v, v, 1 + 2v, -Z^{-1})$ — гипергеометрическая функция первого рода [32].

Полученное решение (37), (38) зависит от трех параметров:

$$Z = W_{FP}(R)\tau = W_{PF}(R)\tau_{PP}, \\ \eta = R/L, \quad v = L/(2\sqrt{D_F\tau}). \quad (39)$$

Как следует из (39), параметр Z характеризует глубину протекания прямой реакции за время τ (обратной реакции — за время τ_{PP}) в той точке, где вероятность максимальна, т.е. на контакте. Параметр η соотносит радиус контакта R и толщину тушащего слоя L , разделяя таким образом дистанционные и контактные реакции. И, наконец, параметр v соизмеряет масштаб диффузионного перемещения за время τ с величиной L , разграничивая механизмы реакции по способу пересечения реакционной зоны. При $v \gg 1$, когда тушащий слой пересекается реагентами посредством серии прыжков малого масштаба, реализуется диффузионный механизм реакции. Это происходит при достаточно низких температурах. Можно показать, что при этом эффективный радиус (38) приобретает вид, аналогичный (27), (28) с точностью до переопределения параметров

$w_{\text{FT}}(T) \rightarrow w_{\text{FP}}(T)$, $L_{\text{FP}} \rightarrow L$. Таким образом, при низких температурах константа скорости K_{FP} определяется каналом прямой реакции, контролируемой диффузией свободных поляронов. В противоположном пределе, $v \ll 1$, который реализуется при высоких температурах, общие выражения (37), (38) переходят к прыжковому виду (29) с эффективным прыжковым радиусом, определенным из соотношения $W_{\text{PF}}(R_w^{\text{PF}})\tau_{\text{PP}} = 1$. В результате выражение для K_{FP} принимает вид

$$K_{\text{FP}} = \gamma^{-1} \frac{4\pi}{3\tau_{\text{PP}}} (R_w^{\text{PF}})^3 \left[1 + \left(\frac{\pi L}{2R_w^{\text{PF}}} \right)^2 - \left(\frac{R}{R_w^{\text{PF}}} \right)^3 \right]. \quad (40)$$

Как легко убедиться, в этом пределе константа скорости контролируется прыжковой миграцией связанных поляронов. Заметим, что в отличие от R_w^{PT} из (30), R_w^{PF} уменьшается при снижении температуры, так как $U_{\text{PP}} < U_{\text{PF}}$. Поэтому в общем случае произвольной температуры может реализоваться как ситуация сильного или слабого взаимодействия, так и диффузионного или прыжкового механизма реакции.

5. СРЕДНИЕ ВРЕМЕНА ЖИЗНИ

Прежде чем приступить к расчету кинетики, проанализируем температурные зависимости средних времен жизни свободных и связанных поляронов:

$$\begin{aligned} \tau_{\text{F}} &= \int_0^{\infty} N_{\text{F}}(t) dt = \tilde{N}_{\text{F}}(s=0), \\ \tau_{\text{P}} &= \int_0^{\infty} N_{\text{P}}(t) dt = \tilde{N}_{\text{P}}(s=0). \end{aligned} \quad (41)$$

С учетом (11), (12), (21) легко показать, что они подчиняются следующим соотношениям:

$$\begin{aligned} \tau_{\text{F}} &= \left[cK_{\text{FT}} + \rho_{\text{A}} K_{\text{FP}} \left(\frac{cK_{\text{PT}}}{cK_{\text{PT}} + \gamma\rho_{\text{B}} K_{\text{FP}}} \right) \right]^{-1}, \\ \tau_{\text{P}} &= \frac{\rho_{\text{A}} K_{\text{FP}}}{cK_{\text{PT}} + \gamma\rho_{\text{B}} K_{\text{FP}}} \tau_{\text{F}}. \end{aligned} \quad (42)$$

Легко увидеть, что времена жизни определяются соотношениями четырех скоростей реакций (1)–(3): cK_{FT} , cK_{PT} , $\rho_{\text{A}} K_{\text{FP}}$, $\gamma\rho_{\text{B}} K_{\text{FP}}$. В знаменателе выражения для τ_{F} первое слагаемое описывает канал гибели Φ -поляронов на ловушках, второе — канал трансформации в Π -поляроны с учетом возможного возврата назад. В определении τ_{P} первый множитель характеризует вероятность

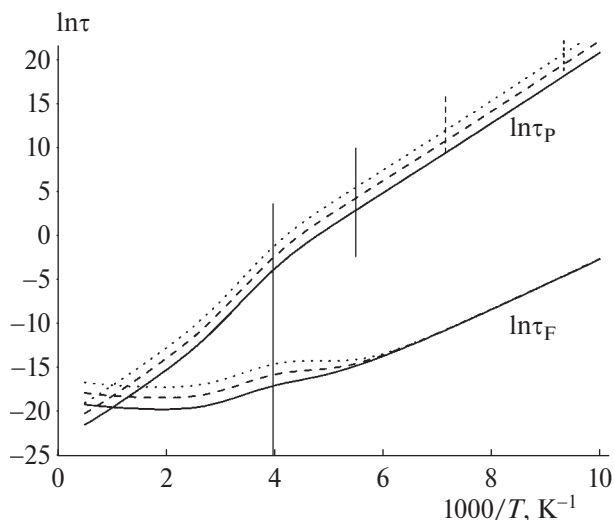


Рис. 1. Зависимость времен жизни свободных и связанных поляронов от обратной температуры при разных концентрациях ловушек c . Сплошные линии — $c = 1.9$ мол. %, штриховые линии — $c = 0.5$ мол. %, точки — $c = 0.16$ мол. %. Короткими вертикальными линиями обозначены границы бинарного приближения $\xi_{\text{PT}} = (4\pi/3)(R_w^{\text{PT}})^3 c < 1$ для трех концентраций.

остаться полярону в Π -состоянии, несмотря на возможный захват на ловушки или возврат в Φ -состояние.

При низких температурах скорость обратного переноса $\gamma\rho_{\text{B}} K_{\text{FP}}$, по сравнению со скоростью захвата Π -поляронов на ловушки cK_{PT} , становится мала, поэтому дробь в знаменателе τ_{F} сокращается. В результате конкурируют только две диффузионно-контролируемые скорости: cK_{FT} и $\rho_{\text{A}} K_{\text{FP}}$. Температурная зависимость обеих в основном определяется активационной зависимостью коэффициента диффузии $D_{\text{F}} \sim \exp(-U_{\text{FF}}/kT)$, но в зависимости от параметров взаимодействия и концентраций эти скорости могут сильно различаться. В этом случае τ_{F} будет определяться большей из скоростей, однако в любом случае $\tau_{\text{F}} \sim \exp(U_{\text{FF}}/kT)$. Для связанных поляронов при низких температурах будет реализовываться зависимость $\tau_{\text{P}} = \tau_{\text{F}} \rho_{\text{A}} K_{\text{FP}} / cK_{\text{PT}}$, поэтому в любом случае при низких температурах $\tau_{\text{P}} \sim \exp(U_{\text{PP}}/kT)$.

При повышении температуры скорость обратного переноса $\gamma\rho_{\text{B}} K_{\text{FP}}$ как более активированная начинает преобладать над скоростью тушения Π -поляронов на ловушках cK_{PT} , поэтому вторым слагаемым в знаменателе выражения для τ_{F} можно пренебречь. В этом случае основным каналом гибели Φ -поляронов является захват на ловушки:

$\tau_F \sim (cK_{FT})^{-1}$. Соответственно, время жизни П-полярона при высоких температурах определяется равновесным соотношением: $\tau_P \sim \tau_F \rho_A / (\gamma \rho_B)$.

На рис. 1 изображена зависимость времен жизни от обратной температуры при разных концентрациях ловушек. Переход между двумя температурными интервалами, описанными выше, происходит в окрестности $T = 250$ К (длинная вертикальная черта). Справа от нее при низких температурах $\tau_F \sim (\rho_A K_{FP})^{-1} \sim \exp(U_{FF}/kT)$, т.е. не зависит от концентрации ловушек, а $\tau_P \sim (cK_{PT})^{-1} \sim \exp(U_{PP}/kT)$. В этой области Ф-поляроны быстро переходят в связанное П-состояние и затем медленно гибнут на ловушках. Время жизни τ_P превышает секундный диапазон; таким образом происходит консервация поляронов в П-состоянии. Основной канал реакции $F \rightarrow P \rightarrow T$.

При $T > 250$ К поведение времен жизни качественно меняется: вначале $\tau_F \sim (cK_{FT})^{-1} \sim \exp(U_{FF}/kT)$, но при дальнейшем повышении температуры K_{FT} выходит на кинетический предел $k_{FT} \sim \exp(-U_{FT}/kT)$, который ввиду малости $U_{FT} = 0.004$ эВ практически не зависит от температуры. Напротив, в силу детального баланса (9), (13) гибель связанных поляронов слева от длинной вертикальной черты сильно активирована:

$$\tau_P \sim \frac{\rho_A}{\rho_B} \exp\left(\frac{U_{PF} - U_{FP} + U_{FF}}{kT} = \frac{0.66}{kT}\right), \quad (43a)$$

$$300 \text{ К} > T > 250 \text{ К},$$

$$\tau_P \sim \frac{\rho_A}{\rho_B} \exp\left(\frac{U_{PF} - U_{FP} + U_{FT}}{kT} = \frac{0.394}{kT}\right), \quad (43b)$$

$$T > 300 \text{ К}.$$

Таким образом, при высоких температурах населенности свободных и связанных поляронов эффективно размешиваются благодаря быстрой обратимой реакции. Поляроны консервируются в П-состоянии, и в дальнейшем их гибель лимитируется обратным переходом в Ф-состояние и дальнейшим захватом на ловушки из свободного состояния $F \rightarrow T$.

Следует отметить, что в силу того, что радиус захвата П-поляронов на ловушки R_w^{PT} , определенный выражением (30), достаточно быстро растет с уменьшением температуры, при низких температурах может нарушаться критерий бинарного описания этого канала: $\xi_{PT} = (4\pi/3)(R_w^{PT})^3 c \ll 1$.

На рис. 1 границы бинарного описания указаны для трех различных концентраций. Описание реакции захвата П-поляронов при достижении этих границ нужно учитывать многочастичные эффекты.

6. КИНЕТИКА РЕЛАКСАЦИИ ПОЛЯРОНОВ

Легко показать, что решение (6a), (7a) имеет биэкспоненциальный характер:

$$N_F(t) = A_1 \exp(s_1 t) + A_2 \exp(s_2 t), \quad (44)$$

$$N_P(t) = \frac{\rho_A K_{FP}}{(s_1 - s_2)} [\exp(s_1 t) - \exp(s_2 t)], \quad (45)$$

где

$$A_1 = \frac{cK_{PT} + \gamma \rho_B K_{FP} + s_1}{s_1 - s_2},$$

$$A_2 = \frac{cK_{PT} + \gamma \rho_B K_{FP} + s_2}{s_2 - s_1},$$

$$s_{1,2} = -cK_{FT} + \frac{\delta - \Lambda \pm \sqrt{(\delta + \Lambda)^2 - 4\gamma \rho_B K_{FP} \delta}}{2},$$

и введено обозначение

$$\Lambda = (\rho_A + \gamma \rho_B) K_{FP}, \quad \delta = c(K_{FT} - K_{PT}). \quad (46)$$

Первая величина в (46) является суммой прямой и обратной скоростей обратимой реакции, тогда как вторая равна разности скоростей гибели Ф- и П-поляронов на ловушках. Кинетика (44), (45) содержит два физически различных предельных случая, которые реализуются в зависимости от соотношения между этими параметрами.

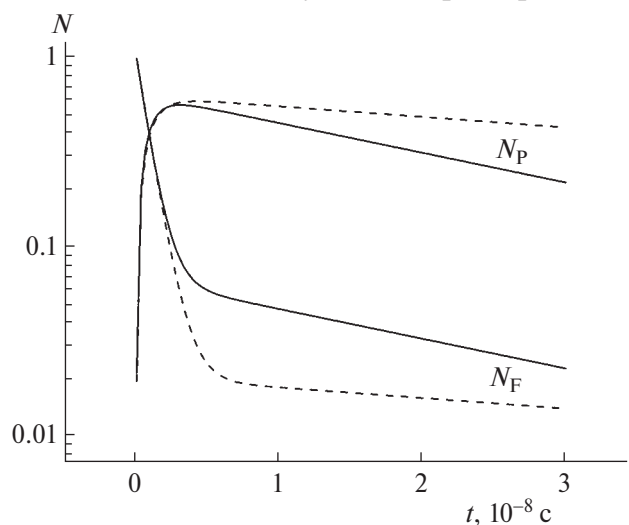


Рис. 2. Кинетические кривые релаксации населенностей свободных и связанных поляронов при концентрации ловушек $c = 1.9$ мол. %; при $T = 700$ К (сплошные линии) и $T = 600$ К (штриховые линии).

Первый случай: $\Lambda \gg |\delta|$. Он соответствует быстрому установлению равновесия в обратимой реакции. В этом случае кинетика имеет вид

$$N_F(t) = N_F^{eq} \exp(-\bar{W}_{eq}t) + N_P^{eq} \exp(-\bar{W}_{rel}t), \quad (47)$$

$$N_P(t) = N_P^{eq} [\exp(-\bar{W}_{eq}t) - \exp(-\bar{W}_{rel}t)]. \quad (48)$$

Здесь величины N_F^{eq} и N_P^{eq} есть равновесные населенности поляронов, достигаемые в ходе обратимой трансформации в случае полного отсутствия ловушек:

$$N_F^{eq} = \frac{\gamma \rho_B}{\rho_A + \gamma \rho_B}, \quad N_P^{eq} = \frac{\rho_A}{\rho_A + \gamma \rho_B}. \quad (49)$$

Они здесь играют роль весовых коэффициентов как в самой биэкспоненциальной кинетике, так и в скоростях затухания:

$$\begin{aligned} \bar{W}_{rel} &= \Lambda + N_P^{eq} c K_{FT} + N_F^{eq} c K_{PT}, \\ \bar{W}_{eq} &= N_F^{eq} c K_{FT} + N_P^{eq} c K_{PT}. \end{aligned} \quad (50)$$

Первая стадия кинетики (47), (48) — быстрая релаксация к квазиравновесным населенностям (49) со скоростью $\bar{W}_{rel}$ из (50), равной сумме скоростей двух каналов реакции: $F \rightarrow P \rightarrow T$ и $P \rightarrow F \rightarrow T$. Последующая стадия — более медленное затухание населенностей (49) с одинаковой равновесной скоростью $\bar{W}_{eq}$, которая является суммой равновесных скоростей захвата Φ - и P -поляронов на ловушки.

Противоположная предельная ситуация, $\Lambda \ll |\delta|$, соответствует быстрому захвату на ловушки поляронов одного типа (в нашем случае Φ -поляронов), что может реализоваться при высоких концентрациях ловушек. Кинетика в этом пределе может быть записана в следующем виде:

$$N_F(t) = (1 - A) \exp(-\bar{W}_F t) + A \exp(-\bar{W}_P t), \quad (51)$$

$$N_P(t) = \frac{\rho_A K_{FP}}{\delta} [\exp(-\bar{W}_P t) - \exp(-\bar{W}_F t)]. \quad (52)$$

Здесь весовой коэффициент равен $A = \gamma \rho_B \times K_{FP} \Lambda / \delta^2 \ll 1$, а скорости релаксации являются сугубо индивидуальными для каждого типа поляронов:

$$\bar{W}_F = c K_{FT} + \rho_A K_{FP}, \quad \bar{W}_P = c K_{PT} + \rho_B K_{PF}. \quad (53)$$

Вначале происходит быстрое и глубокое затухание Φ -поляронов и увеличение населенности P -поляронов со скоростью $\bar{W}_F$, а затем — более медленное затухание кинетики обоих типов поляронов со одинаковой скоростью $\bar{W}_P$. Быстрый

асимметричный захват поляронов одного типа не дает установиться равновесию в обратимой реакции, в результате чего релаксация (51), (52) происходит со скоростями (53), каждая из которых является суммой скоростей соответствующих реакционных каналов.

Типичное поведение кинетики релаксации изображено на рис. 2. Для обоих предельных случаев при понижении температуры разница между начальной и конечной скоростями релаксации, становится все большей, а опустошение населенности свободных поляронов за короткий начальный участок времени — все глубже. Соответственно, становится все более медленным затухание на последующем заключительном интервале, приводящее к существенному увеличению времени жизни связанных поляронов. В пределе низких температур трансформация свободных поляронов в связанное состояние становится практически необратимой.

7. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы стартовали от общей модели случайных блужданий по регулярным сайтам и антисайтам кристалла, обусловленных термическими пере-скоками с вероятностями Маркуса—Холстейна (1), (2) между эквивалентными и тремя неэквивалентными состояниями (Φ , P , T) поляронов. Введение парных корреляционных форм (10) и марковских операторов движения (22) и (23) свободных и связанных поляронов соответственно, позволило нам сформулировать замкнутые уравнения интегральной теории встреч (11)–(19), описывающие кинетику релаксации поляронов с учетом динамики парных корреляций, возникающих в процессе сближения и взаимодействия всех реагирующих состояний (3)–(5). Мы рассчитали константы скорости диффузионного захвата Φ -поляронов K_{FT} (26), (27), прыжкового захвата P -поляронов K_{PT} (29)–(31) на ловушки; а также константу скорости K_{FP} (37), (38) реакции обратимой трансформации (3). Насколько нам известно, задача об определении константы скорости обратимой реакции с неконтактной вероятностью аналитически в данной работе была решена впервые. Было показано, что при низких температурах константа скорости K_{FP} определяется каналом прямой реакции $F \rightarrow P$, контролируемой диффузией свободных поляронов, и имеет вид, аналогичный (26), (27). Напротив, при вы-

соких температурах $K_{\text{ФР}}$ определяется (см. (40)) каналом обратной реакции $P \rightarrow F$, контролируемой прыжками связанных поляронов по неупорядоченной системе антисайтов. Аналитически рассчитаны и проанализированы времена жизни (42) и кинетика релаксации поляронов (44)–(46). Показано, что при низких температурах происходит консервация поляронов в связанном состоянии, характеризующемся аномально низкой скоростью релаксации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Imlau M., Badorreck H., Merschjann C.* // Appl. Phys. Rev. 2015. V. 2. P. 040606.
2. Photorefractive Materials and Their Applications / Eds. Günter P.; Huignard J.P., V. 1. N.Y., USA: Springer, 2006. V. 113. P. 0342–4111.
3. *Bazzan M., Sada C.* // Appl. Phys. Rev. 2015. V. 2. P. 040603.
4. *He J., Franchini C., Rondinelli J.M.* // Chem. Mater. 2016. V. 28. P. 25.
5. *Tisdale W.A., Williams K.J., Timp B.A.* // Science. 2010. V. 328. P. 1543.
6. *Pelaez M., Nolan N.T., Pillai S.C. et al.* // Appl. Catal., B 2012. V. 125. P. 331.
7. *Migani A., Blancafort L.* // J. Amer. Chem. Soc. 2016. V. 138. P. 16165.
8. *Zhong Y., Trinh M.T., Chen R. et al.* // Nat. Commun. 2015. V. 6. P. 1.
9. *Guilbert L., Vittadello L., Bazzan M. et al.* // J. Phys. Condens. Matter. 2018. V. 30. P. 125701.
10. *Vittadello L., Bazzan M., Messerschmidt S. et al.* // Crystals. 2018. V. 8. P. 294.
11. *Vittadello L., Guilbert L., Fedorenko S., Bazzan M.* // Ibid. 2021. V. 11. P. 302.
12. *Marcus R.* // J. Chem. Phys. 1956. V. 24. P. 966.
13. *Holstein T.* // Ann. Phys. 1959. V. 8. P. 343.
14. *Burshtein A.I.* // Adv. Chem. Phys. 2004. V. 129. P. 105.
15. *Балееску Р.* Равновесная и неравновесная статистическая механика. М.: Мир, 1978.
16. *Kipriyanov A.A., Igoshin O.V., Doktorov A.B.* // Physica A. 1999. V. 268. P. 567.
17. *Gopich I.V., Szabo A.* // J. Chem. Phys. 2002. V. 117. P. 507.
18. *Lee S., Karplus M.* // Ibid. 1987. V. 86. P. 1883.
19. *Yang M., Lee S., Shin K.J.* // Ibid. 1998. V. 108. P. 9069.
20. *Шкловский Б.И., Эфрос А.Л.* Электронные свойства легированных полупроводников. М.: Наука, 1979.
21. *Мотт Н., Дэвис Э.* Электронные процессы в некристаллических веществах. М.: Мир, 1982.
22. *Movaghar B., Sauer G.W.* // J. Phys. C. 1980. V. 13. P. 4933.
23. *Брыксин В.В.* // ФТТ. 1980. Т. 22. С. 2441.
24. *Брыксин В.В.* // ФТТ. 1984. Т. 26. С. 1362.
25. *Gochanour C.R., Andersen H.C., Fayer M.D.* // J. Chem. Phys. 1979. V. 70. P. 4254.
26. *Fedorenko S.G., Khokhlova S.S., Burshtein A.I.* // J. Phys. Chem. A 2012. V. 116. P. 3.
27. *Fedorenko S.G., Burshtein A.I.* // J. Chem. Phys. 2014. V. 141. P. 114504.
28. *Fedorenko S.G., Burshtein A.I.* // J. Phys. Chem. A. 2010. V. 114. P. 4558.
29. *Докторов А.Б., Буриштейн А.И.* // ЖЭТФ. 1975. Т. 68. С. 1349.
30. *Докторов А.Б., Киприянов А.А., Буриштейн А.И.* // ЖЭТФ. 1978. Т. 74. С. 1184.
31. *Буриштейн А.И., Докторов А.Б., Киприянов А.А. и др.* // ЖЭТФ. 1985. Т. 88. С. 878.
32. *Градиштейн И.С., Рыжик И.М.* Таблицы интегралов, сумм и произведений. М.: Физматгиз, 1962.

KINETICS OF POLARON CAPTURE BY TRAPS IN A LITHIUM NIOBATE CRYSTAL

S. Fedorenko*

*Voevodsky Institute of Chemical Kinetics and Combustion, Siberian Branch of Russian Academy of Science,
Institutskaya 3, 630090, Novosibirsk, Russia*

**E-mail: fedorenk@kinetics.nsc.ru*

The problem of reversible transformation and trapping of small-radius polarons in a lithium niobate crystal is considered within the framework of the integral encounter theory which is binary in the concentration of reagents. Analytical solutions are obtained for the relaxation kinetics of polarons, their lifetimes, and the rate constants of the corresponding channels of a multistage reaction controlled by polaron mobility. The temperature and concentration dependences of the observed quantities are analyzed. It is shown that at low temperatures polarons accumulate in a bound state characterized by an anomalously low relaxation rate.

Keywords: lithium niobate, free and bound polarons, hopping mobility, capture by traps, Marcus—Holstein's probability, encounter theory, polaron survival probability, average life-time.

REFERENCES

1. Imlau M., Badorreck H., Merschjann C. // *Appl. Phys. Rev.* 2015. V. 2. P. 040606.
2. Günter P., Huignard J.P. // *Photorefractive Materials and Their Applications 1*. Springer, NY, USA, 2006. V. 113. P. 0342–4111.
3. Bazzan M., Sada C. // *Appl. Phys. Rev.* 2015. V. 2. P. 040603.
4. He J., Franchini C., Rondinelli J.M. // *Chem. Mater.* 2016. V. 28. P. 25.
5. Tisdale W.A., Williams K.J., Timp B.A. // *Science* 2010. V. 328, P. 1543.
6. Pelaez M., Nolan N.T., Pillai S.C. et al. // *Appl. Catal. B Environ.* 2012. V. 125, P. 331.
7. Zhong Y., Trinh M.T., Chen R. et al. // *J. Am. Chem. Soc.* 2016. V. 138. P. 16165.
8. Zhong Y., Trinh M.T., Chen R. et al. // *Nat. Commun.* 2015. V. 6, P. 1.
9. Guilbert L., Vittadello L., Bazzan M. et al. // *J. Phys. Condens. Matter.* 2018. V. 30. P. 125701.
10. Vittadello L., Bazzan M., Messerschmidt S. et al. // *Crystals*. 2018. V. 8. P. 294.
11. Vittadello L., Guilbert L., Fedorenko S., Bazzan M. // *Crystals*. 2021. V. 11. P. 302.
12. Marcus R. // *J. Chem. Phys.* 1956. V. 24. P. 966.
13. Holstein T. // *Ann. Phys.* 1959. V. 8. P. 343.
14. Burshtein A.I. // *Adv. Chem. Phys.* 2004. V. 129. P. 105.
15. Balescu R. *Equilibrium and Non-Equilibrium Statistical Mechanics*. Wiley, New-York, 1975.
16. Kipriyanov A.A., Igoshin O.V., Doktorov A.B. // *Physica A*. 1999. V. 268. P. 567.
17. Gopich I.V., Szabo A. // *J. Chem. Phys.* 2002. V. 117. P. 507.
18. Lee S., Karplus M. // *J. Chem. Phys.* 1987. V. 86. P. 1883.
19. Yang M., Lee S., Shin K.J. // *J. Chem. Phys.* 1998. V. 108. P. 9069.
20. Shklovskii B.I., Efros A.L. *Electronic Properties of Doped Semiconductors*. Berlin, Springer-Verlag 1984.
21. Mott N.F., Davis E.A. *Electron Process in Non-Crystalline Materials*. Oxford, Clarendon Press, 1979.
22. Movaghar B., Sauer G.W. // *J. Phys. C*. 1980, V. 13. P. 4933.
23. Bryksin V.V. // *Fiz. Tverd. Tela*. 1980. V. 22. P. 2441.
24. Bryksin V.V. // *Fiz. Tverd. Tela*. 1984. V. 26. P. 1362.
25. Gochanour C.R., Andersen H.C., Fayer M.D. // *J. Chem. Phys.* 1979. V. 70. P. 4254.
26. Fedorenko S.G., Khokhlova S.S., Burshtein A.I. // *J. Phys. Chem. A* 2012. V. 116. P. 3.
27. Fedorenko S.G., Burshtein A.I. // *J. Chem. Phys.* 2014. V. 141. P. 114504.
28. Fedorenko S.G., Burshtein A.I. // *J. Phys. Chem. A*. 2010. V. 114. P. 4558.
29. Doktorov A.B., Burshtein A.I. // *Sov. Phys. JETP* 1976. V. 41. P. 671.
30. Doktorov A.B., Kipriyanov A.A., Burshtein A.I. // *Sov. Phys. JETP* 1978. V. 47. P. 623.
31. Burshtein A.I., Doktorov A.B., Kipriyanov A.A. et al. // *Sov. Phys. JETP* 1985. V. 61. P. 516.
32. Gradshteyn I.S., Ryzhik I.M. *Table of Integrals, Sums, Series and Derivatives*. Berlin, VEB Deutscher Verlag, 1963.

УДК 544.522+546.93

ФОТОХИМИЯ КОМПЛЕКСА IrCl_6^{3-} В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

© 2024 г. Г. И. Жданкин^{1,2}, В. П. Гривин¹, В. Ф. Плюснин^{1,2},
Ю. П. Центалович³, Е. М. Глебов^{1*}

¹ Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского Сибирского отделения
Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Международный томографический центр Сибирского отделения
Российской академии наук, Новосибирск, Россия

*E-mail: glebov@kinetics.nsc.ru

Поступила в редакцию 15.10.2022;

после доработки 18.10.2022;

принята в печать 20.10.2022

Методами стационарного и лазерного импульсного фотолиза исследована фотохимия комплекса $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ в водных растворах. В результате поглощения светового кванта протекают параллельные процессы фотоакватации и фотоионизации. Акватированный электрон ϵ_{aq}^- , образующийся с квантовым выходом $\phi = 0.12$ (возбуждение на длине волны 266 нм), преимущественно гибнет в реакциях с исходным комплексом и растворенным кислородом. Измерена константа скорости реакции захвата ϵ_{aq}^- комплексом $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$. Основными конечными продуктами фотолиза являются комплексы Ir(III) с различным составом лигандов, а также комплексы Ir(IV), доля которых составляет несколько процентов. Формирование конечных продуктов происходит во временном диапазоне от миллисекунд до секунд.

Ключевые слова: гексахлороиридат(III), водные растворы, фотохимия, фотоионизация, акватированный электрон, лазерный импульсный фотолиз.

DOI: 10.31857/S0207401X24020053 EDN: WHZGPH

ВВЕДЕНИЕ

В экспериментах по лазерному импульсному фотолизу часто бывает необходимым регистрировать короткоживущие промежуточные частицы, не имеющие поглощения в доступном спектральном диапазоне. Для этого используют в качестве ловушек соединения, реагирующие с целевыми интермедиатами с образованием легко регистрируемых продуктов. При этом существенным моментом является регистрация не только самого продукта, но и кинетики его образования. Иллюстрацией такого подхода было использование в качестве ловушки дикатиона метилвиологена MV^{2+} , который применялся для регистрации гидроксильного радикала [1, 2] и радикалов-восстановителей [3, 4]. В реакции с целевыми радикалами метилвиологен образует имеющие характерные спектры поглощения радикалы $\bullet\text{MV}(\text{OH})^{2+}$ и $\text{MV}^{\bullet+}$ соответственно.

Метилвиологен не может, однако, быть использован в качестве ловушки на радикалов, обладающих окислительными свойствами (кроме $\bullet\text{OH}$). В частности, одной из труднодоступных в

экспериментах по лазерному импульсному фотолизу частиц является азидильный радикал $\text{N}_3^\bullet$. Этот интермедиат представляет большой интерес, поскольку он предположительно возникает при фотолизе диазидных комплексов платины(IV), перспективных для использования в фотохимии-отерапии злокачественных опухолей [5, 6]. Радикал $\text{N}_3^\bullet$ имеет полосу поглощения с максимумом на длине волны $\lambda = 274$ нм, полушириной 20 нм и коэффициентом молярного поглощения, равным $2025 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ [7, 8]. Зарегистрировать такой интермедиат на фоне большого поглощения исходных соединений чаще всего невозможно. В частности, в наших работах по фотохимии диазидных комплексов платины(IV) сделать это не удалось [9, 10]. Образование азидильного радикала при фотолизе подобных комплексов было доказано методом спиновых ловушек [11], однако эксперименты со спиновыми ловушками не являются кинетическими.

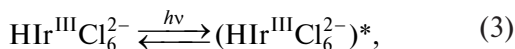
Для регистрации труднодоступных радикалов-окислителей (в частности, радикала $\text{N}_3^\bullet$) в экспериментах по лазерному импульсному фотолизу

представляется перспективным использовать анион $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$. Он реагирует с $\text{N}_3^\bullet$:



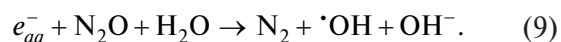
с высокой константой скорости (в литературе имеются две ссылки: $k_1 = 5.5 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ [12] и $k_1 = 4.6 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ [13]). Продуктом реакции является анион $[\text{Ir}^{\text{IV}}\text{Cl}_6]^{2-}$, имеющий интенсивное поглощение в видимой области спектра [14]. Регистрация кинетики его образования в экспериментах по лазерному импульсному фотолизу диазидных комплексов платины должна позволить сделать количественные выводы о процессах с участием радикала $\text{N}_3^\bullet$ в соответствующих системах.

Однако применение комплекса $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ в качестве ловушки радикалов-окислителей осложняется наличием фотохимической активности самого комплекса и ее слабой изученностью. Если фотохимия и фотофизика комплекса $[\text{Ir}^{\text{IV}}\text{Cl}_6]^{2-}$ в водных растворах исследована достаточно подробно (см. обзоры [15, 16] и ссылки в них), то имеющиеся в литературе сведения о фотохимии $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ носят фрагментарный характер. Было показано [17], что фотолиз комплекса $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ в растворах концентрированной соляной кислоты приводит к окислению иридия до состояния со степенью окисления +4 и выделению молекулярного водорода. Квантовый выход фотоокисления сильно зависит от длины волны возбуждения и pH среды. Авторы работы [17] предположили, что реакционным интермедиатом является возбужденное состояние протонированной формы комплекса с внутримолекулярным переносом заряда на ион металла. Предложенный в [17] механизм фотолиза представлен следующими уравнениями:



Имеются данные о том, что комплекс $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ фотоактивен не только в кислых растворах, но и при значении pH, близком к нейтральному, однако механизм фотолиза кардинально меняется.

Сообщалось [18], что облучение водных растворов $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ в области $\lambda = 254 \text{ нм}$ приводит к фотоионизации. В эксперименте по ламповому импульсному фотолизу был зарегистрирован акватированный электрон [18]. В экспериментах по стационарному фотолизу $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ в присутствии N_2O авторы работы [18] квантовый выход молекулярного азота, ϕ , оценили равным квантовому выходу акватированного электрона: $\phi = 0.03$. Схема процессов описывается уравнениями



В работе [18], выполненной более 50 лет назад на экспериментальной базе того времени, не было проведено полное исследование фотохимии комплекса $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$. В данной работе мы представляем подробное исследование фотохимии водных растворов этого комплекса методами стационарного и лазерного импульсного фотолиза.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Источником анионов $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ была соль $\text{Na}_3\text{IrCl}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ производства компании Sigma-Aldrich (USA). Для приготовления растворов использовалась деионизированная вода. При необходимости растворы продували аргоном для удаления растворенного кислорода.

Электронные спектры поглощения (ЭСП) регистрировали на спектрофотометрах Agilent 8453 производства компании Agilent Technologies (USA) и Varian Cary 50 производства Varian Inc. (USA). В экспериментах по стационарному фотолизу в качестве источника света использовалась ртутная лампа низкого давления (95% излучения приходится на полосу с максимумом при $\lambda = 254 \text{ нм}$).

Большинство экспериментов по наносекундному лазерному импульсному фотолизу проводили на установке с возбуждением четвертой гармоникой неодимового лазера (рабочая длина волны — 266 нм, длительность импульса — 5 нс, энергия лазерных импульсов 1–10 мДж). Световые пучки лазера и зондирующего источника под небольшим углом ($\sim 2^\circ$) сходятся на кювете с исследуемым веществом; диаметр облучаемой области образца равен 3 мм. Детальное описание установки приведено в работе [19]. В ряде экспериментов использовалась аналогичная установка лазерного импульсного фотолиза Центра коллек-

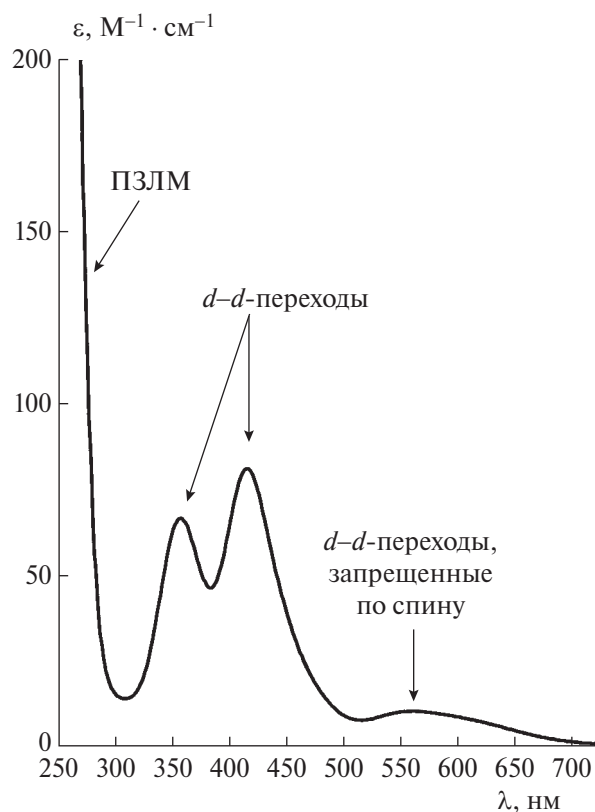


Рис. 1. УФ-спектр комплекса $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ в водном растворе.

тивного пользования “Масс-спектрометрические исследования” СО РАН, описанная в работах [20, 21]. Энергию лазерных импульсов измеряли с помощью измерителя мощности и энергии светового излучения SOLO 2 (Gentec).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Лазерный импульсный фотолиз

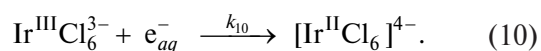
Основное состояние комплекса $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ имеет симметрию ${}^1A_{1g}(2t_{2g})^6$. Электронный спектр поглощения комплекса в водном растворе (рис. 1) совпадает с представленными в литературе [14, 17, 22]. Справедливость выполнения закона Ламберта–Бэра была проверена в рабочем диапазоне концентраций 10^{-3} – 10^{-2} М. Малоинтенсивные полосы с максимумами при 416 и 358 нм соответствуют разрешенным по спину d – d -переходам ${}^1A_{1g} \rightarrow {}^1T_{1g}$ и ${}^1A_{1g} \rightarrow {}^1T_{2g}$ [17]. Очень слабое поглощение в области 500–700 нм обусловлено запрещенными по спину d – d -переходами ${}^1A_{1g} \rightarrow {}^3T_{1g}$ и ${}^1A_{1g} \rightarrow {}^3T_{2g}$ [17]. Поглощение в синей области является хвостом интенсивной полосы переноса заряда лиганд–металл (ПЗЛМ) $\pi(\text{Cl}) \rightarrow 2e_{2g}$ с максимумом при $\lambda = 206$ нм [14]. Облучение в экспе-

риментах по лазерному импульсному фотолизу (266 нм) соответствовало именно этой полосе.

Результаты эксперимента по лазерному импульсному фотолизу проиллюстрированы на рис. 2. Кинетические кривые промежуточного поглощения в видимой области (рис. 2а) содержат быстрый участок с характерным временем спада промежуточного поглощения < 1 мкс и постоянное поглощение, не меняющееся во временной шкале эксперимента (до 1 мс).

Быстрый участок (более подробно показанный на рис. 3а) соответствует поглощению акватированного электрона. Последний имеет очень широкую полосу поглощения с максимумом при $\lambda = 720$ нм (максимальный молярный коэффициент поглощения $\varepsilon_{720} = 2.27 \cdot 10^4 \text{ М}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ [23]), которая проявляется во всем видимом диапазоне. Разностный спектр, зарегистрированный на участке кинетической кривой, где наблюдалось постоянное поглощение (рис. 2б), соответствует спектру комплекса $[\text{Ir}^{\text{IV}}\text{Cl}_6]^{2-}$ [14] (штриховая линия на рис. 2б); молярный коэффициент поглощения полосы с максимумом при $\lambda = 489$ нм составляет $4000 \text{ М}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ [24]. Таким образом, наблюдаемые в результате фотовозбуждения спектральные изменения соответствуют реакции (8). Зависимость поглощения возникающего комплекса $[\text{Ir}^{\text{IV}}\text{Cl}_6]^{2-}$ от энергии лазерного импульса является линейной (рис. 4), что соответствует одноквантовому процессу фотоионизации (возможные при большой плотности мощности лазерного излучения двухквантовые процессы могут быть исключены). Первичный квантовый выход фотоионизации $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ под действием света с $\lambda = 266$ нм (реакция (2)), определенный по значению возникающего поглощения комплекса $[\text{Ir}^{\text{IV}}\text{Cl}_6]^{2-}$, составил $\phi_1^{266} = 0.12 \pm 0.1$.

Рассмотрим процесс гибели акватированного электрона. При больших (на уровне миллимолей) концентрациях гексахлороиридата(III) существенной является реакция с образованием комплекса $[\text{Ir}^{\text{II}}\text{Cl}_6]^{4-}$:



Для определения константы скорости реакции (10) начальные участки кинетических кривых, соответствующие гибели акватированного электрона, аппроксимировали экспоненциальной функцией (примеры приведены на рис. 3а). Наблюдаемая константа скорости первого порядка

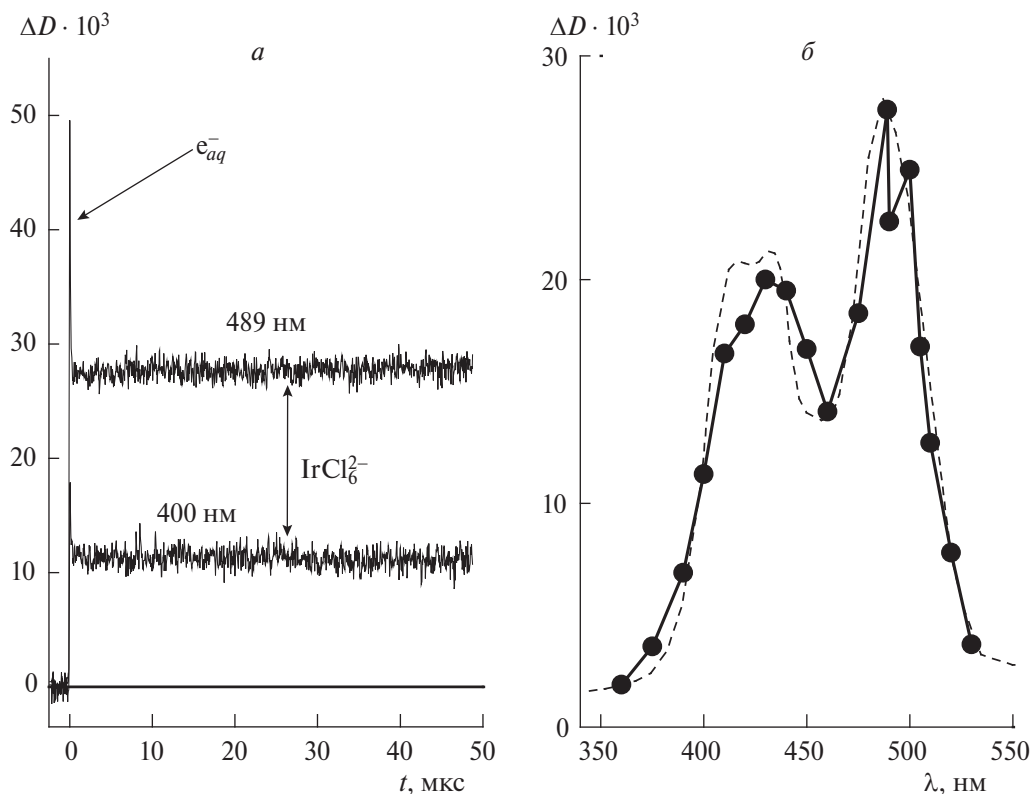


Рис. 2. Результаты эксперимента по лазерному импульсному фотолизу (266 нм, 5.3 мДж/импульс) комплекса $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ в водном растворе ($1.0 \cdot 10^{-3}$ М, кювета с длиной оптического пути 1 см, естественное содержание кислорода): *a* — примеры кинетических кривых, *б* — спектр промежуточного поглощения (точки, соединенные сплошной линией) на стационарном участке кинетических кривых (время задержки между возбуждающим и зондирующим импульсами > 3 мкс). Штриховая линия — форма спектра комплекса $[\text{Ir}^{\text{IV}}\text{Cl}_6]^{2-}$.

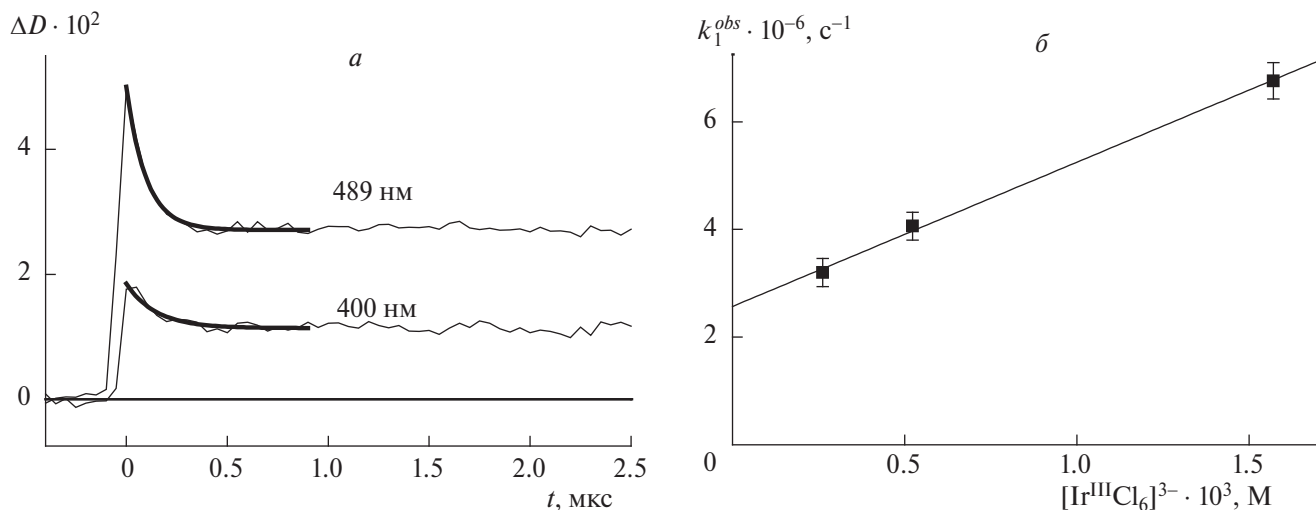


Рис. 3. Определение константы скорости реакции $e_{aq}^- + [\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ в эксперименте по лазерному импульсному фотолизу: *a* — примеры кинетических кривых гибели акватированного электрона (начальные участки кривых рис. 2*a*) — экспериментальные кинетические кривые и их аппроксимация экспоненциальными функциями (гладкие кривые); *б* — зависимость наблюдаемой константы (первого порядка) скорости гибели промежуточного поглощения от концентрации $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ — экспериментальные точки и линейная аппроксимация.

Таблица 1. Значения константы скорости реакции (10), литературные данные относятся к нулевой ионной силе I

$k_{10}^0, \text{M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$	Ссылка	Примечание	Метод
$3.0 \cdot 10^9$	[26]		импульсный радиолиз
$6.4 \cdot 10^9$	[27]		
$2.5 \cdot 10^9$	[28]	экстраполяция данных авторов к значению $I = 0$ по уравнению (11)	
$(1.4 \pm 0.4) \cdot 10^9$	данная работа		лазерный импульсный фотолиз

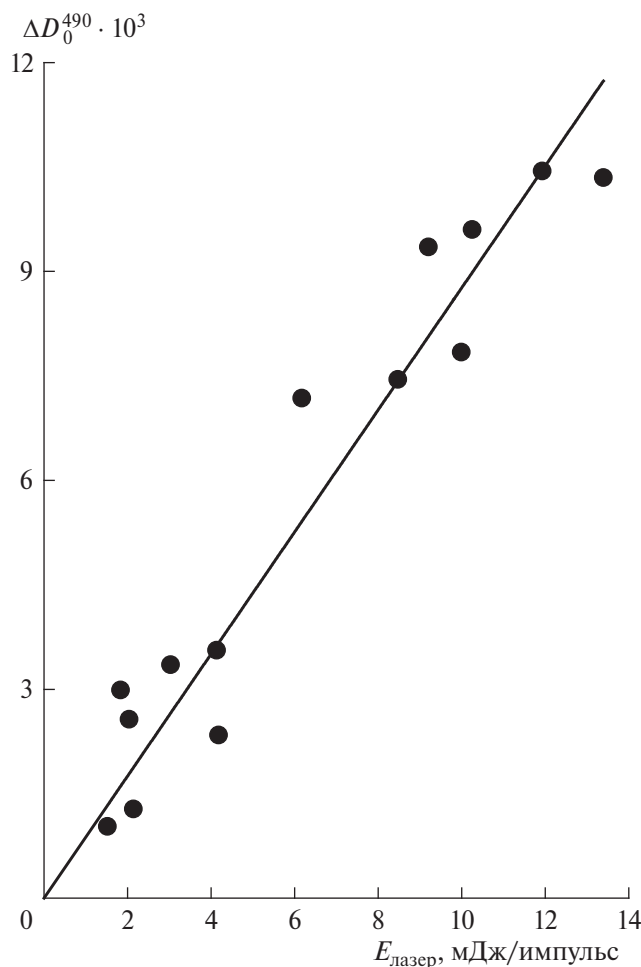


Рис. 4. Результаты эксперимента по лазерному импульсному фотолизу (266 нм) комплекса $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ в водном растворе ($1.6 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, кювета с $l = 1 \text{ см}$, раствор продут аргоном). Зависимость начального поглощения D_0 (490 нм) образующегося комплекса $[\text{Ir}^{\text{IV}}\text{Cl}_6]^{2-}$ от энергии лазерного импульса.

линейно зависит от концентрации комплекса $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ (рис. 3б). По тангенсу угла наклона прямой рис. 3б получили значение константы скорости реакции (10): $k_{10} = (2.7 \pm 0.2) \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$ (отсечение прямой соответствует каналам гибели e_{aq}^- , не связанным с исходным комплексом).

Зависимость константы скорости ионной реакции (10) от ионной силы как правило описывается уравнением Бренстеда–Бьеррума [25]:

$$\frac{k}{k_0} = \exp\left(\frac{8.38 \cdot 10^6 z_A z_B f(I)}{(\epsilon T)^{3/2}}\right), \quad (11)$$

где k и k_0 ($\text{M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$) — значения константы скорости при текущем значении ионной силы I и при ее стремлении к нулю, z_A и z_B — заряды реагентов, ϵ — диэлектрическая проницаемость растворителя, T — абсолютная температура (в нашем случае 298 K), $f(I) = I^{1/2}/(1 + I^{1/2})$ — от ионной силы раствора $I = (z_+^2 c_+ + z_-^2 c_-)/2$, z_+ , z_- , c_+ , c_- — заряды и концентрации ионов (в нашем случае — Na^+ и $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$).

Ионная сила раствора в экспериментах (рис. 3б) менялась в пределах $(1.6 - 9.4) \cdot 10^{-3} \text{ M}$. Из уравнения Бренстеда–Бьеррума (11) следует, что в этом диапазоне концентраций отношение k/k_0 находится в пределах 1.31–1.87. Экстраполируя полученное в эксперименте значение k_{10} на нулевую ионную силу, получаем значение $k_{10}^0 = (1.4 \pm 0.4) \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$. Это значение намного меньше имеющихся в литературе данных по константе скорости этой реакции (см. [26–28] и табл. 1), полученных в XX веке методом импульсного радиолиза. Завышение констант скорости, полученных методом импульсного радиолиза, объясняется наличием неучтенных каналов гибели целевой частицы.

Спектральных проявлений комплекса $[\text{Ir}^{\text{II}}\text{Cl}_6]^{4-}$ нами не обнаружено. В литературе также нет таких данных. Однако, как будет видно из дальнейшего, реакции этого комплекса, по всей видимости, определяют конечный состав продуктов фотолиза $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$.

Стационарный фотолиз нейтральных водных растворов

Изменения ЭСП комплекса $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ в водном растворе в результате облучения светом в области $\lambda = 254 \text{ нм}$ показаны на рис. 5. Вид спектральных изменений зависит от наличия растворенного кислорода.

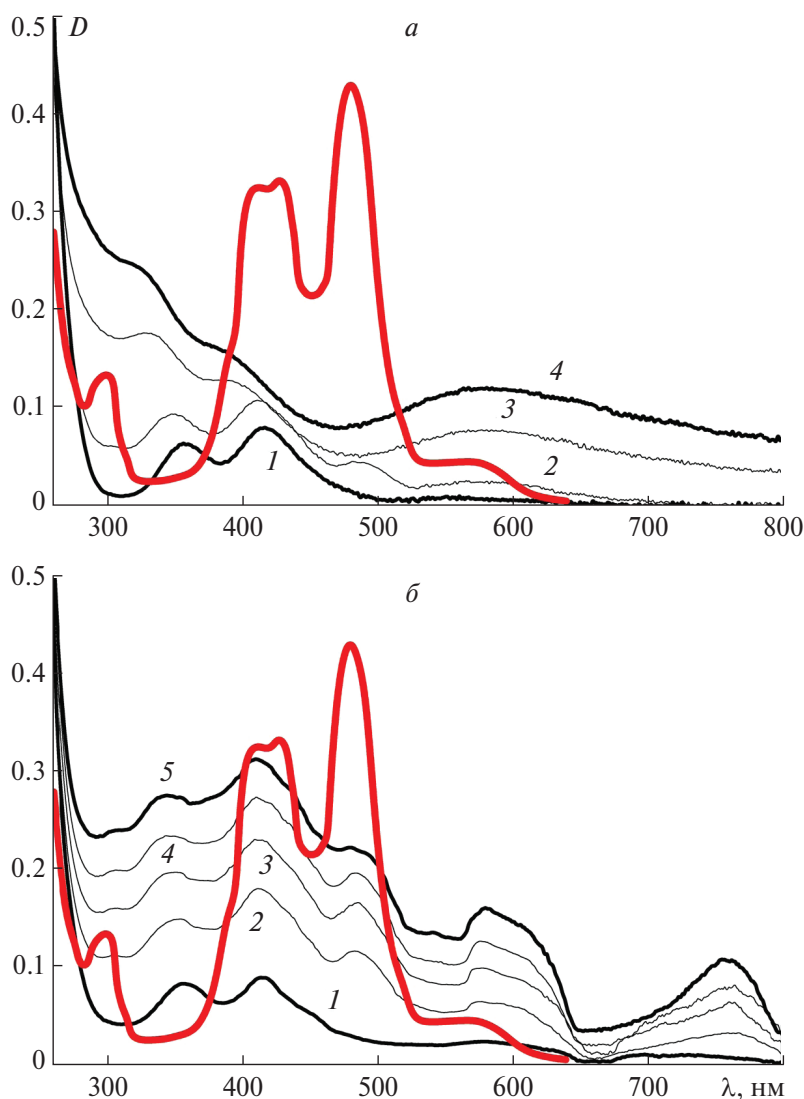


Рис. 5. Изменения ЭСП в ходе стационарного фотолиза (254 нм) комплекса $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ в водном растворе, концентрация — $1.1 \cdot 10^{-3}$ М, кювета $l = 1$ см: *а* — раствор, продуваемый аргоном, кривые 1–4 соответствуют 0, 15, 90, 180 мин облучения; *б* — воздушно-насыщенный раствор, кривые 1–5 соответствуют времени облучения 0, 11, 21, 31, 41 мин. Спектр комплекса $[\text{Ir}^{\text{IV}}\text{Cl}_6]^{2-}$ представлен на обеих панелях жирными (красными) кривыми, соответствующими окислению 10% исходного комплекса.

В обескислороженных растворах (рис. 5*а*) возникают полосы с максимумами в области $\lambda = 325$ и 390 нм (проявляются в виде плеча) и широкая полоса с максимумом в области $\lambda = 580$ нм. Исходя из первичного процесса (8), наблюдаемого в эксперименте по лазерному импульсному фотолизу, следовало ожидать появления характерного поглощения комплекса $[\text{Ir}^{\text{IV}}\text{Cl}_6]^{2-}$. Жирные (красные) кривые на рис. 5 соответствуют поглощению $[\text{Ir}^{\text{IV}}\text{Cl}_6]^{2-}$, которое возникло бы в результате окисления 10% исходного комплекса. Видно, что в обескислороженных растворах комплекс $[\text{Ir}^{\text{IV}}\text{Cl}_6]^{2-}$ не образуется. Не приходится говорить и об образовании акватированных комплексов

$\text{Ir}(\text{IV})$ состава $\text{Ir}^{\text{IV}}(\text{Cl}^-)_n(\text{H}_2\text{O}/\text{OH}^-)_{6-n}$. Все такие комплексы, подобно $[\text{Ir}^{\text{IV}}\text{Cl}_6]^{2-}$, имеют интенсивные полосы переноса заряда в видимой области спектра [29–33]. Акватированные комплексы $\text{Ir}(\text{III})$, подобно $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$, имеют в области 320–400 нм $d-d$ -полосы с молярными коэффициентами поглощения $\varepsilon \sim 70\text{--}100 \text{ М}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ [31, 33]. Поглощение в области $\lambda = 325$ и 390 нм, согласно [31], может принадлежать комплексам $\text{trans}-[\text{Ir}^{\text{III}}(\text{OH}_2)_2\text{Cl}_4]^-$, $\text{cis}-[\text{Ir}^{\text{III}}(\text{OH}_2)_2\text{Cl}_4]^-$, $1,2,6-[\text{Ir}(\text{OH}_2)_3\text{Cl}_3]$ и $1,2,3-[\text{Ir}(\text{OH}_2)_3\text{Cl}_3]$. Наличие широкой полосы в области 500–600 нм тоже характерно для этих комплексов. Скорее всего,

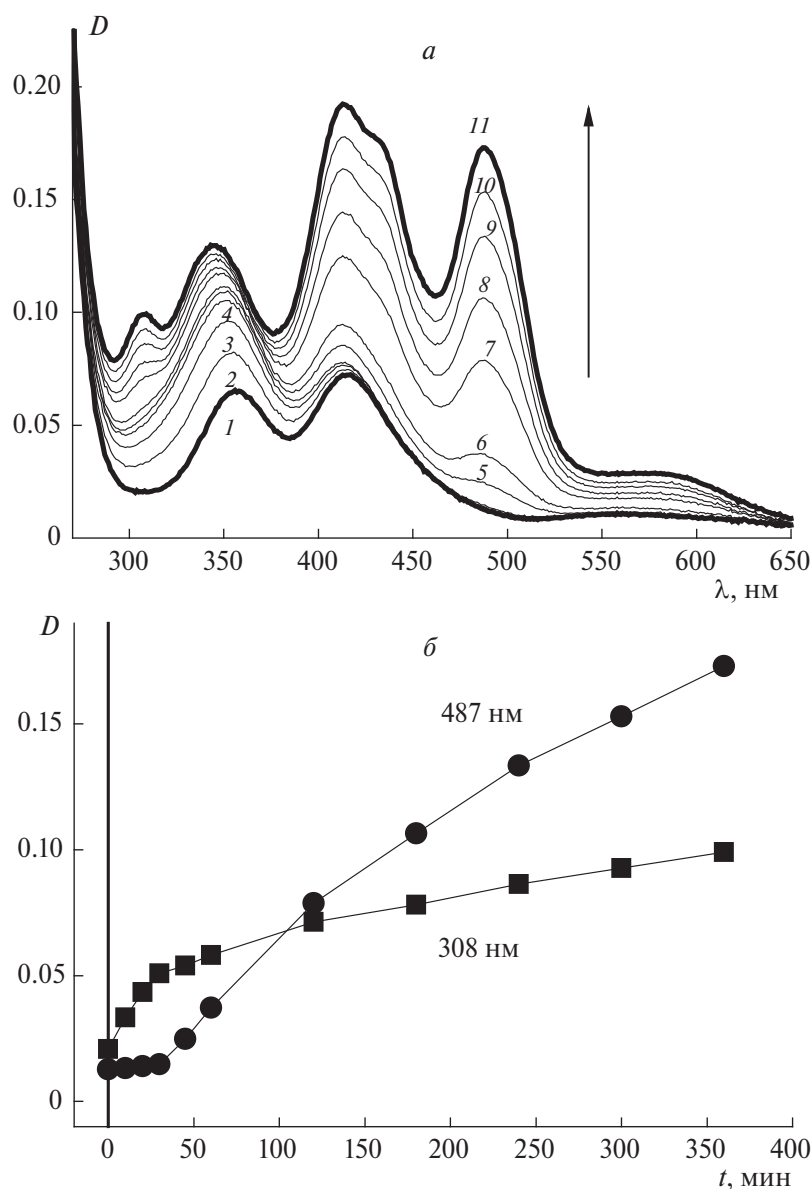


Рис. 6. Результаты эксперимента по стационарному фотолизу (254 нм). Изменение ЭСП в ходе облучения комплекса $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ в 2.5 М водном растворе HClO_4 с концентрацией $8.9 \cdot 10^{-4}$ М (кювета с $l = 1$ см, воздушно-насыщенный раствор). *a* — Изменение ЭСП в ходе облучения, кривые 1–11 соответствуют времени облучения 0, 10, 20, 30, 45, 60, 120, 180, 240, 300, 360 мин; *б* — динамика изменения поглощения на длинах волн 308 и 487 нм.

в продуктах фотолиза представлены различные смешанные водно-хлоридные комплексы $\text{Ir}(\text{III})$.

При наличии в растворах кислорода (рис. 5б) при глубоком фотолизе образуются полосы поглощения с максимумами в области $\lambda = 305$ нм (плечо), 345, 410, 486, 580 и 786 нм. В этом случае в продуктах может присутствовать смесь комплексов $\text{Ir}(\text{III})$ и небольшого количества $\text{Ir}(\text{IV})$. В частности, моноаквакомплекс $[\text{Ir}^{\text{III}}(\text{OH}_2)\text{Cl}_5]^{2-}$ имеет полосы поглощения с максимумами при $\lambda = 345$ и 400 нм ($\epsilon \sim 100 \text{ М}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ [31]). Продукты

$\text{Ir}(\text{IV})$ могут быть представлены как комплексом $[\text{Ir}^{\text{IV}}\text{Cl}_6]^{2-}$, так и различными акватированными комплексами, но их суммарная доля не может превышать нескольких процентов от количества исходного соединения.

Таким образом, мы видим, что после первичного процесса фотоионизации (8) в системе протекают различные термические реакции, определяющие сложный состав продуктов. Временной диапазон этих реакций — от нескольких миллисекунд до секунд.

Стационарный фотолиз кислых растворов

В сильноокислых растворах реакция восстановления Ir(III) акватированным электроном (9) не является существенной ввиду перехвата электрона протонами по реакции 12.



Большинство имеющихся в литературе значений константы скорости этой реакции лежит в интервале $(2.2-2.4) \cdot 10^{10} \text{ М}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ [25]. Поэтому фотолиз кислых растворов комплекса $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ должен протекать по-другому.

Изменения ЭСП в ходе фотолиза $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ в 2.5 М растворе HClO_4 показаны на рис. 6а. Фотокинетические кривые на характерных длинах волн (308 и 487 нм) приведены на рис. 6б. При небольших глубинах фотореакции наблюдается рост поглощения в области $\lambda = 300-420 \text{ нм}$, что характерно для продуктов акватации комплекса $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$. Далее начинается рост поглощения в видимой области, являющегося характерным для комплексов Ir(IV); соответствующая фотокинетическая кривая при $\lambda = 487 \text{ нм}$ является S-образной. Однако доля образовавшихся комплексов Ir(IV), как и в случае фотолиза растворов с нейтральным значением pH, не превышает нескольких процентов от количества исходного комплекса. Из этого следует, что механизм фотолиза кислых растворов $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ лишь в небольшой степени может быть описан уравнениями (2)–(7) из работы [17].

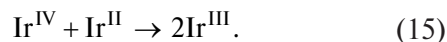
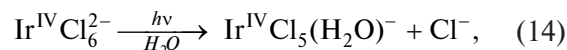
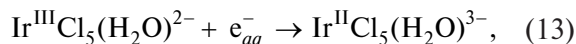
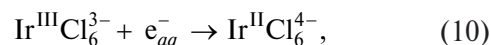
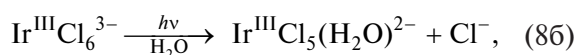
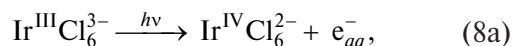
Необходимо отметить, что использование соли MgClO_4 вместо хлорной кислоты не приводило к изменению картины фотолиза, т.е. существенным фактором является именно наличие кислоты, а не увеличение ионной силы раствора.

Предполагаемый механизм фотолиза

На основе данных экспериментов по стационарному и лазерному импульсному фотолизу предлагается следующий механизм фотолиза комплекса $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ (для удобства восприятия мы повторяем уравнения первичных процессов).

Обескислороженные растворы

Продуктами фотолиза являются различные акватированные комплексы трехвалентного иридия состава $\text{Ir}^{\text{III}}(\text{Cl}^-)_n(\text{H}_2\text{O}/\text{OH}^-)_{6-n}$. Механизм фотопревращений представлен следующими реакциями:



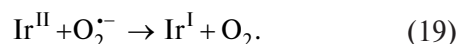
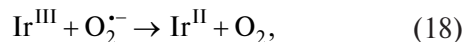
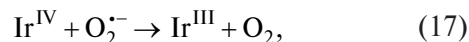
Существование параллельных первичных фотопроцессов фотоионизации и фотоакватации исходного комплекса (8а), (8б) следует соответственно из данных по лазерному импульсному фотолизу и по стационарному фотолизу кислых растворов. В результате захвата акватированного электрона комплексами Ir(III) в реакциях (10), (13) образуются интермедиаты Ir(II). При продолжительном стационарном облучении возможен вторичный процесс фотоакватации $[\text{Ir}^{\text{IV}}\text{Cl}_6]^{2-}$ (реакция (14) [15, 16]). Конечные продукты образуются в результате реакций диспропорционирования, обозначенных схематически уравнением (15), и, возможно, дальнейшей термической акватации некоторых комплексов Ir(III).

Водные растворы при наличии кислорода

При фотолизе водных растворов $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ с естественным содержанием кислорода ($2.4 \cdot 10^{-4} \text{ М}$ [34]) необходимо учитывать реакции окисления комплексов Ir(III) и Ir(IV) и даже, возможно, Ir(II) супероксид-анионом $\text{O}_2^{\cdot-}$, образующимся в реакции



с высокой константой скорости $k_{16} = (1.8 \div 2.2) \cdot 10^{10} \text{ М}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ [25]. Это усложняет реакционную схему. К реакциям, протекающим в обескислороженных растворах, нужно добавить следующие процессы:

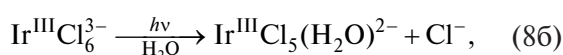
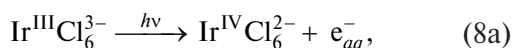
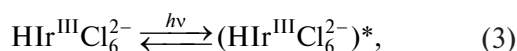
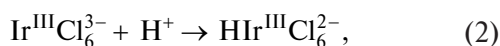


Уравнения реакций (17)–(19) записаны схематически, без учета состава лигандов (Cl^- , H_2O , OH^-). В литературе нет информации об этих ре-

акциях, однако более сложный состав продуктов фотолиза $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ в кислородсодержащих растворах свидетельствует о высокой вероятности их протекания. Кроме того, поглощение в области $\lambda > 550$ нм может принадлежать биядерным пероксокомплексам $\text{Ir}(\text{III}, \text{III})$, $\text{Ir}(\text{III}, \text{IV})$ и $\text{Ir}(\text{IV}, \text{IV})$ [35]. Возможное образование таких соединений еще более усложняет механизм фотолиза.

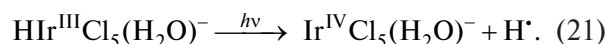
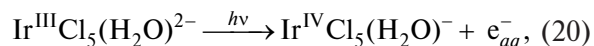
Кислые растворы

Подробное исследование фотохимии $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ в кислых растворах находится вне рамок данной работы, поэтому приводимые ниже соображения носят предварительный характер. Считая, что в растворе, согласно [17], устанавливается равновесие (2) между протонированной и депротонированной формами комплекса $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$, можно предположить наличие нескольких фотохимических реакций, а именно (3), (4) и (8). Акватированный электрон, если и образуется в реакции (8а), быстро конвертируется в атом водорода по реакции (12):



По начальным участкам фотокинетических кривых (рис. 6б) можно сделать вывод о том, что вклад реакций фотоокисления (3), (4а) и (8а) пренебрежимо мал по сравнению с реакциями фотоаквации (3), (4б), (8б). Таким образом, механизм фотолиза кислых растворов $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ (реакции (2)–(7), предложенный в работе [17], в наших условиях (2.5 М HClO_4) не является основным, а может представлять собой только лишь миноритарный канал фотореакции. Авторы работы [17] наблюдали количественное образование комплекса $[\text{Ir}^{\text{IV}}\text{Cl}_6]^{2-}$ при фотолизе $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ в 12 М HCl . Сравнение наших данных с данными работы [17] свидетельствует о малости константы устойчивости комплекса $[\text{HIr}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{2-}$.

В наших условиях продукты окисления $\text{Ir}(\text{III})$ до $\text{Ir}(\text{IV})$ скорее всего возникают во вторичных фотохимических реакциях.



Это объясняет S-образность фотокинетической кривой при $\lambda = 487$ нм (рис. 6б). Конечный выход продуктов фотоокисления, как было указано ранее, составляет несколько процентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе данных стационарных и импульсных экспериментов мы предлагаем механизм фотолиза комплекса $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ в водных растворах. Показано, что протекают параллельные реакции фотоаквации и фотоионизации исходного комплекса. Акватированный электрон, возникший в результате фотоионизации, в зависимости от условий проведения реакции преимущественно захватывается либо исходным комплексом с образованием интермедиата $\text{Ir}(\text{II})$, либо растворенным кислородом с образованием супероксид-аниона. Формирование конечных продуктов фотолиза в реакциях с участием комплексов иридия различной валентности и $\text{O}_2^{\bullet-}$ происходит во временном диапазоне от миллисекунд до секунд. В кислых (~2.5 М хлорной кислоты) растворах тоже протекают параллельные процессы фотоаквации и фотоионизации, однако механизм не соответствует предложенному в работе [17] для фотолиза $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ в 12 М HCl .

Для верификации предложенного механизма фотолиза требуется проведение дальнейших времязрешенных экспериментов во временном диапазоне от миллисекунд до секунд, а также экспериментов по лазерному импульсному фотолизу в кислых растворах.

Использование комплекса $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ в экспериментах по лазерному импульсному фотолизу в качестве ловушки для регистрации труднодоступных радикалов-окислителей, что было побудительным мотивом для написания данной работы, возможно при условии заведомого отсутствия прямого фотолиза $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$.

Работа поддержана Российским научным фондом (грант № 22-23-00248).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhang X., Wu F., Deng N. et al. // *React. Kinet. Catal. Lett.* 2008. V. 94. № 2. P. 207.
2. Tyutereva Yu.E., Grivin V.P., Xu J. et al. // *Environ. Sci. Poll. Res.* 2021. V. 47. P. 67891.
3. Ву Ф., Денг Н., Глебов Е.М. и др. // *Изв. РАН, Сер. хим.* 2007. № 5. С. 866.
4. Чанг С., Гонг Я., Ву Ф. и др. // *Изв. РАН, Сер. хим.* 2009. № 9. С. 1771.
5. Bednarski P.J., Mackay F.S., Sadler P.J. // *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* 2007. V. 7. № 1. P. 75.
6. Gurruchaga-Pereda J., Martínez A., Terenzi A., Salassa L. // *Inorg. Chim. Acta.* 2019. V. 495. 118981.
7. Alfassi Z.B., Shuler R.H. // *J. Phys. Chem.* 1985. V. 89. № 15. P. 3359.
8. Neta P., Huie R.E., Ross A.B. // *J. Phys. Chem. Ref. Data.* 1988. V. 17. № 3. P. 1027.
9. Shushakov A.A., Pozdnyakov I.P., Grivin V.P. et al. // *Dalton Trans.* 2017. V. 46. № 29. P. 9440.
10. Zhdankin G.I., Grivin V.P., Plyusnin V.F. et al. // *Mendeleev Commun.* 2023. V. 33. № 1. P. 61.
11. Butler J.S., Woods J.A., Farrer N.J. et al. // *J. Amer. Chem. Soc.* 2012. V. 134. № 40. P. 16508.
12. Ram M.S., Stanbury D.M. // *J. Phys. Chem.* 1986. V. 90. № 16. P. 3691.
13. DeFelippis M.R., Murthy C.P., Faraggi M., Klapper M.H. // *Biochemistry.* 1989. V. 28. № 11. P. 4847.
14. Jorgensen C.K. // *Mol. Phys.* 1959. V. 2. № 3. P. 309.
15. Glebov E.M., Pozdnyakov I.P., Plyusnin V.F., Khmelinskii I. // *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.* 2015. V. 24. P. 1.
16. Глебов Е.М. // *Изв. АН. Сер. хим.* 2022. № 5. С. 858.
17. Eidem P.K., Maverick A.W., Gray H.B. // *Inorg. Chim. Acta.* 1981. V. 50. № 1. P. 59.
18. Waltz W.L., Adamson A.W. // *J. Phys. Chem.* 1969. V. 73. № 12. P. 4250.
19. Pozdnyakov I.P., Plyusnin V.F., Grivin V.P. et al. // *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 2006. V. 182. № 1. P. 75.
20. Tsentalovich Y.P., Sherin P.S., Kopylova L.V. et al. // *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2011. V. 52. № 10. P. 7687.
21. Savina E.D., Tsentalovich Yu.P., Sherin P.S. // *Free Rad. Biol. Med.* 2020. V. 152. P. 482.
22. Poulsen I.A., Garner C.S. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1962. V. 84. № 10. P. 2032.
23. Hare P.M., Price E.A., Bartels D.M. // *J. Phys. Chem. A.* 2008. V. 112. № 30. P. 6800.
24. Glebov E.M., Plyusnin V.F., Tkachenko N.V., Lemmetyinen H. // *Chem. Phys.* 2000. V. 257. № 1. P. 79.
25. Buxton G.V., Greenstock C.L., Philip Helman W., Ross A.B. // *J. Phys. Chem. Ref. Data.* 1988. V. 17. № 2. P. 513.
26. Anbar M., Hart E.J. // *Adv. Chem. Ser.* 1968. V. 81. P. 79.
27. Broszkiewicz R.K. // *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1973. № 17. P. 1799.
28. Crawford Ch.L., Gholami M.R., Roberts S.L., Hanrahan R.J. // *Radiat. Phys. Chem.* 1992. V. 40. № 3. P. 205.
29. Treinin A., Hayon E. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1975. V. 97. № 7. P. 1716.
30. Коваленко Н.Л., Рогин Н.Д., Мальчиков Г.Д. // *ЖНХ.* 1982. Т. 27. № 4. С. 986.
31. El-Awady A.A., Bounsall E.J., Garner C.S. // *Inorg. Chem.* 1967. V. 6. № 1. P. 79.
32. Pelizetti E., Mentasti E., Pratauro E. // *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* 1978. V. 2. № 7. P. 620.
33. Бусько Е.А., Бурков К.А., Калинин С.К. // *Журн. аналит. хим.* 1974. Т. 29. № 2. С. 340.
34. Glebov E.M., Pozdnyakov I.P., Grivin V.P. et al. // *Photochem. Photobiol. Sci.* 2011. V. 10. № 3. P. 425.
35. Панкратов Д.А., Комозин П.Н., Киселев Ю.М. // *ЖНХ.* 2011. Т. 56. № 11. С. 1877.

PHOTOCHEMISTRY OF IrCl_6^{3-} COMPLEX IN AQUEOUS SOLUTIONS

G. I. Zhdankin^{1,2}, V. P. Grivin², V. F. Plyusnin^{1,2}, Yu. P. Tsentalovich³, E. M. Glebov^{2*}

¹Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

²Voevodsky Institute of Chemical Kinetics and Combustion, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences Novosibirsk, Russia

³International Tomography Center, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences Novosibirsk, Russia

*E-mail: glebov@kinetics.nsc.ru

The photochemistry of the $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ complex in aqueous solutions was studied by the methods of stationary and laser flash photolysis. As the result of a light quantum absorption, parallel processes of photoaquatation and photoionization occur. The aquated electron e_{aq}^- , which is formed with a quantum yield of 0.12 (excitation at 266 nm), is predominantly decayed in reactions with the initial complex and dissolved oxygen. The rate constant of e_{aq}^- capture by the $[\text{Ir}^{\text{III}}\text{Cl}_6]^{3-}$ complex was measured. The main final photolysis products are Ir(III) complexes with different compositions of ligands, as well as several percents of Ir(IV) complexes. The formation of final products occurs in the time range from milliseconds to seconds.

Keywords: hexachloroiridate(III), aqueous solutions, photochemistry, photoionization, aquated electron, laser flash photolysis.

REFERENCES

- Zhang X., Wu F., Deng N. et al. // React. Kinet. Catal. Lett. 2008. V. 94. № 2. P. 207.
- Tyutereva Yu.E., Grivin V.P., Xu J et al. // Environ. Sci. Poll. Res. 2021. V. 47. P. 67891.
- Wu F., Deng N., Glebov E.M. et al. // Russ. Chem. Bull., Int. Edit. 2007. V. 56. № 5. P. 900 (Engl. Transl.).
- Zhang X., Gong Y., Wu F. et al. Russ. Chem. Bull., Int. Edit. 2009. V. 58. № 9. P. 1828 (Engl. Transl.).
- Bednarski P.J., Mackay F.S., Sadler P.J. // Anti-Cancer Agents Med. Chem. 2007. V. 7. № 1. P. 75.
- Gurruchaga-Pereda J., Martínez A., Terenzi A., Salassa L. // Inorg. Chim. Acta. 2019. V. 495. Article 118981.
- Alfassi Z.B., Shuler R.H. // J. Phys. Chem. 1985. V. 89. № 15. P. 3359.
- Neta P., Huie R.E., Ross A.B. // J. Phys. Chem. Ref. Data. 1988. V. 17. № 3. P. 1027.
- Shushakov A.A., Pozdnyakov I.P., Grivin V.P. et al. Dalton Trans. 2017. V. 46. № 29. P. 9440.
- Zhdankin G.I., Grivin V.P., Plyusnin V.F. et al. // Mendeleev Commun. 2022. Accepted.
- Butler J.S., Woods J.A., Farrer N.J. et al. // J. Am. Chem. Soc. 2012. V. 134. № 40. P. 16508.
- Ram M.S., Stanbury D.M. // J. Phys. Chem. 1986. V. 90. № 16. P. 3691.
- DeFelippis M.R., Murthy C.P., Faraggi M., Klapper M.H. // Biochemistry. 1989. V. 28. № 11. P. 4847.
- Jorgensen C.K. // Mol. Phys. 1959. V. 2. № 3. P. 309.
- Glebov E.M., Pozdnyakov I.P., Plyusnin V.F., Khmelinskii I. // J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev. 2015. V. 24. P. 1.
- Glebov E.M. // Russ. Chem. Bull. Int. Edit. 2022. V. 71. № 5. P. 858 (Engl. Transl.).
- Eidem P.K., Maverick A.W., Gray, H.B. // Inorg. Chim. Acta. 1981. V. 50. № 1. P. 59.
- Waltz W.L., Adamson A.W. // J. Phys. Chem. 1969. V. 73. № 12. P. 4250.
- Pozdnyakov I.P., Plyusnin V.F., Grivin V.P. et al. // J. Photochem. Photobiol. A: Chem. 2006. V. 182. № 1. P. 75.
- Tsentalovich Y.P., Sherin P.S., Kopylova L.V. et al. // IOVS (Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.). 2011. V. 52. № 10. P. 7687.
- Savina E.D., Tsentalovich Yu.P., Sherin P.S. // Free Rad. Biol. Med. 2020. V. 152. P. 482.
- Poulsen I.A., Garner C.S. // J. Am. Chem. Soc. 1962. V. 84. № 10. P. 2032.
- Hare P.M., Price E.A., Bartels D.M. // J. Phys. Chem. A. 2008. V. 112. № 30. P. 6800.
- Glebov E.M., Plyusnin V.F., Tkachenko N.V., Lemmetyinen H. // Chem. Phys. 2000. V. 257. № 1. P. 79.
- Buxton G.V., Greenstock C.L., Philip Helman W., Ross A.B. // J. Phys. Chem. Ref. Data. 1988. V. 17. № 2. P. 513.
- Anbar M., Hart E.J. // Adv. Chem. Ser. 1968. V. 81. P. 79.
- Broszkiewicz R.K. // J. Chem. Soc. Dalton Trans. 1973. № 17. P. 1799.
- Crawford Ch.L., Gholami M.R., Roberts S.L., Hanrahan R.J. // Radiat. Phys. Chem. 1992. V. 40. № 3. P. 205.
- Treinin A., Hayon E. // J. Am. Chem. Soc. 1975. V. 97. № 7. P. 1716.
- Kovalenko N.L., Rogin N.D., Malchikov G.D. // Zhurn. Neorg. Khim. (Russian Journal of Inorganic Chemistry) // 1982. V. 27. № 4. P. 986 (in Russian).
- El-Awady A.A., Bounsall E.J., Garner, C.S. // Inorg. Chem. 1967. V. 6. № 1. P. 79.
- Pelizzetti E., Mentasti E., Pramauro E. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1978. V. 2. № 7. P. 620.
- Bus'ko E.A., Burkov K.A., Kalinin S.K. // Zhurn. Anal. Khim. (Russian Journal of Analytical Chemistry. 1974. V. 29. № 2. P. 340 (in Russian).
- Glebov E.M., Pozdnyakov I.P., Grivin V.P. et al. // Photochem. Photobiol. Sci. 2011. V. 10. № 3. P. 425.
- Pankratov D.A., Komozin P.N., Kiselev Yu.M. // Russ. J. Inorg. Chem. 2011. V. 56. № 11. P. 1794 (Engl. Transl.).

УДК 577.352;615.322

ЛИПИД-ОПОСРЕДОВАННОЕ ВЛИЯНИЕ ГЛИЦИРРИЗИНА НА СВОЙСТВА ТРАНСМЕМБРАННОГО ДОМЕНА Е-БЕЛКА ВИРУСА SARS-COV-2

© 2024 г. П. А. Кононова^{1,2}, О. Ю. Селютина^{1,3*}, Н. Э. Поляков^{1,3}

¹Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского Сибирского отделения
Российской академии наук, Новосибирск, Россия

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³Институт химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения
Российской академии наук, Новосибирск, Россия

*E-mail: olga.gluschenko@gmail.com

Поступила в редакцию 06.10.2022;
после доработки 17.10.2022;
принята в печать 20.10.2022

В работе исследовано взаимодействие глицирризина с трансмембранным доменом Е-белка вируса SARS-CoV-2 (E-protein Trans-Membrane domain (ETM)) в гомогенном водном растворе и в модельной липидной мембране с использованием методов селективного ядерного эффекта Оверхаузера (selective NOESY) и ЯМР-релаксации. Методом селективного NOESY показано наличие взаимодействия глицирризина с ETM в водном растворе, что согласуется с литературными данными моделирования, которые указывают на возможность проникновения молекулы глицирризина внутрь канала, образованного молекулами ETM. Однако данный вывод не подтверждается экспериментами NOESY в модельных липидных мембранах–бицеллах. При этом методом ЯМР-релаксации обнаружено влияние глицирризина на подвижность как липидов, так и молекул ETM в бицеллах. Это позволяет сделать предположение, что глицирризиновая кислота оказывает влияние на активность Е-белка коронавируса опосредованно, через липиды.

Ключевые слова: глицирризин, вирус SARS-CoV-2, Е-белок коронавируса, липидные мембраны, ядерный магнитный резонанс.

DOI: 10.31857/S0207401X24020065 EDN: WHQXFH

ВВЕДЕНИЕ

В связи с серьезной эпидемической ситуацией в настоящее время по всему миру исследовательскими группами ведется поиск перспективных лекарственных препаратов, активных против вируса SARS-CoV-2. Ряд исследований указывают на перспективность использования различных ингибиторов слияния вирусных частиц с плазматической мембраной клетки [1, 2]. Хотя большая часть этих исследований посвящены S-белку вируса, который связывается с клеточной мембраной носителя, наличие у коронавирусов липидной оболочки позволяет предполагать, что ингибиторы липид-опосредованного слияния мембран также могут быть перспективными противовирусными агентами.

Вирион коронавируса представляет собой сферическую частицу, которая содержит в своей структуре булавовидные отростки (шипы, S-белок), белки оболочки (Е-белки), мембранный белок (М-белок), нуклеокапсидный белок

(N-белок). При этом, хотя ингибирование синтеза Е-белка приводит к 20-ти — 200-кратному снижению выхода вирусных частиц из клетки, роль его в функционировании вирусных частиц остается не ясна [3]. Некоторые результаты показывают, что Е-белки коронавирусов выполняют свои функции на внутриклеточных мембранах, где происходит сборка вируса [3]. Во время репликации Е-белок в избытке экспрессируется внутри инфицированной клетки, но в оболочку вириона включается лишь небольшая часть. Большая часть белка локализована в месте внутриклеточного переноса, где он участвует в сборке и создании вирионов коронавирусов [4]. Клетки, инфицированные коронавирусом, часто имеют деформации мембранных структур, такие как искривления мембраны и двухмембранные везикулы [4]. Предполагается, что такие перестройки мембраны связаны с функциями Е-белка, который, встраиваясь в мембрану клетки-хозяина, индуцирует искривление мембраны и слипание двух мембранных

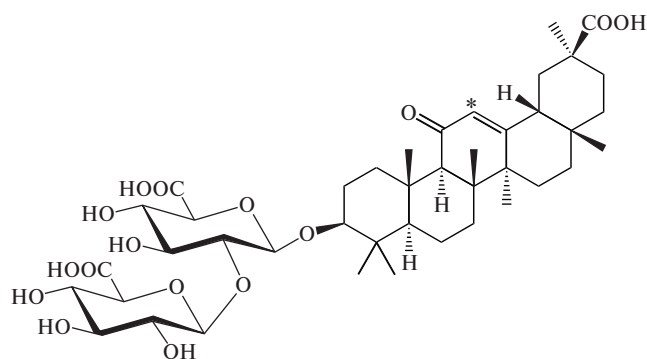


Рис. 1. Структурная формула глицирризина. Звездочкой отмечен протон, возбуждение которого проводилось в экспериментах sNOESY.

структур с образованием, соответственно, двух-мембранных везикул [4].

Недавние исследования в модельных мембранах подтвердили гипотезу влияния Е-белка на кривизну липидного бислоя [5]. Кроме того, данный белок относится к виropоринам, которые, встраиваясь в мембрану инфицированной клетки, образуют олигомеры, которые, в свою очередь, формируют поры в мембране. Блокирование ионных каналов, которые формируют олигомеры Е-белка, связывают со снижением репликации коронавирусов [6–8]. В настоящее время уже ведутся работы по исследованию структуры и функций Е-белка вируса SARS-CoV-2, а также его взаимодействия с различными ингибиторами растительного происхождения [7]. В том числе, проверяется и гипотеза таргетного воздействия тритерпенового гликозида глицирризина на Е-белок коронавируса [9].

Глицирризин (глицирризиновая кислота (ГК), рис. 1) — главный биологически активный компонент экстракта корня солодки [10–12]. Существует множество данных о ее противовирусной активности [13–15], в том числе активности против вируса SARS-CoV-1 [16]. В последнее время появился ряд работ, указывающих на перспективность применения ГК для терапии SARS-CoV-2 [17, 18]. Кроме того, имеются данные об активности производных ГК, моно-, ди- и триникотинатов, в отношении вируса SARS-CoV-2 *in vitro* [19]. Несмотря на обилие исследований активности ГК против различных ДНК- и РНК-вирусов, механизм ее противовирусного действия остается неясным. Было показано, что влияние ГК на вирус герпеса, ассоциированного с сарко-

мой Капоши, связан с ингибированием синтеза вирусных РНК [20].

В ряде работ было обнаружено влияние ГК на репликацию различных вирусов [21, 22]. Однако тот факт, что противовирусная активность глицирризиновой кислоты обнаруживается в отношении различных слабовзаимосвязанных ДНК- и РНК-вирусов позволяет предположить, что этот эффект связан не только с влиянием ГК на синтез РНК. Было установлено, что при добавлении ГК через 6 ч после заражения клеток вирусом Эпштейна–Барра, противовирусного действия не наблюдается [23]. В то же время при добавлении ГК сразу после заражения и последующем промывании клеток спустя 5 ч противовирусный эффект остается необратимым. Исходя из этого делают вывод, что ГК избирательно блокирует проникновение вируса в клетку, поскольку этот процесс происходит примерно в первые 5 ч после заражения. В случае вируса респираторного синдрома свиней было показано, что действие ГК связано в основном со стадией проникновения вируса и мало влияет на стадии его поглощения и высвобождения [24].

В ряде исследований было показано, что ГК и ее производные предотвращают проникновение ряда вирусов через плазматическую мембрану [16, 23, 25–27]. Кроме того, было установлено, что действие ГК приводит к снижению текучести клеточных мембран [25, 28]. Также установлено, что ГК способна ингибировать высвобождение вирусных частиц из зараженной клетки [29]. Таким образом, одним из возможных механизмов противовирусного действия глицирризина является препятствование слияния липидной оболочки вируса с плазматической мембраной клетки хозяина. Мы полагаем, что мембраномодифицирующая способность ГК может опосредованно влиять и на активность Е-белка, встроенного в липидную оболочку вируса. Поэтому, в связи с неясной до конца ролью Е-белка в функционировании и патогенезе коронавирусов в целом и SARS-CoV-2, в частности, требуются комплексные исследования как взаимодействия самого белка с липидной мембраной, так и влияния различных ингибиторов на эти взаимодействия и на активность Е-белка *in vitro*.

В представленной работе мы попытались показать наличие прямого, либо липид-опосредованного взаимодействия ГК с трансмембранным

доменом Е-белка коронавируса (E-protein Trans-Membrane domain, (ETM)) в гомогенном водном растворе и в модельной липидной мембране, используя методы селективного ядерного эффекта Оверхаузера и ЯМР-релаксации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в бицеллах 1,2-ди-миристоил-sn-глицеро-3-фосфохолина (ДМФХ)/1,2-дигексаноил-sn-глицеро-3-фосфохолина (ДФФХ), оба производства компании Avanti (USA) и чистоты > 99% (рис. 1). Трансмембранный домен Е-белка вируса SARS-CoV-2 (ETM, аминокислотная последовательность ETGTLIVNSVLL FLAFVVFLVLTALAILTALR, чистота — 96%) был синтезирован на заказ компанией Pepmic (Suzhou, China; <http://www.pepmic.com/>). Порошковые компоненты (липиды, ETM) растворяли в хлороформе; растворитель сушили и полученную пленку растворяли в дейтерированной воде (D_2O) производства компании Sigma-Aldrich (чистота — 99.9%). Для ускорения образования бицелл проводили три цикла заморозки–разморозки. Соотношение ДМФХ : ДФФХ составляло 1 : 2, при этом общая концентрация липидов была равна 12 мМ. В гидратированные образцы добавляли 1 мМ ГК, рН полученных образцов — 3.8.

Спектры 1H - и ^{31}P -ЯМР, а также селективные NOESY получены на ЯМР-спектрометре Avance HD III производства компании Bruker (USA)

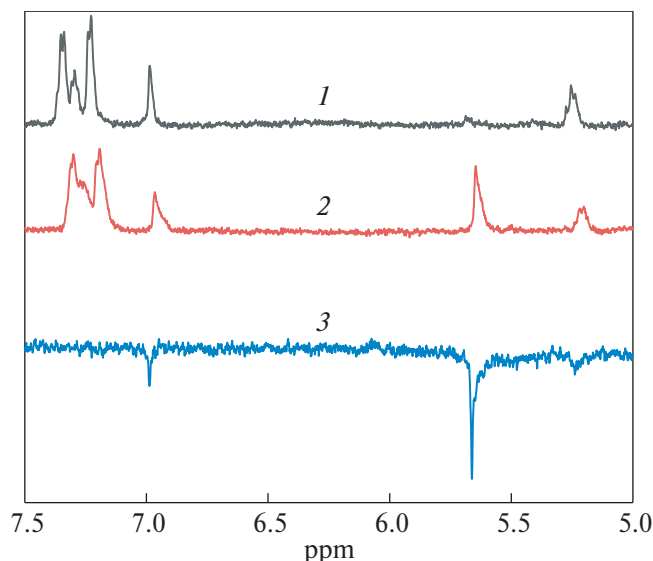


Рис. 2. Фрагменты спектров 1H -ЯМР для образцов, содержащих 1 мМ ETM (1), 1 мМ ГК и 1 мМ ETM (2), и sNOESY для образца, содержащего 1 мМ ГК и 1 мМ ETM (3) в D_2O ; рН 3.5.

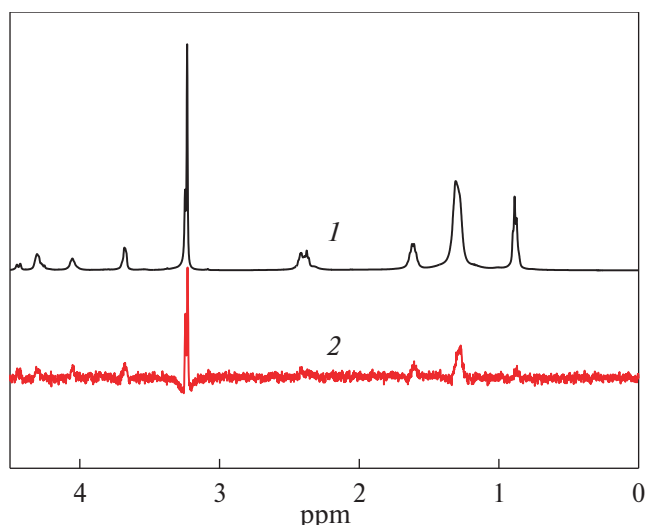


Рис. 3. Фрагменты спектров 1H -ЯМР (1) и sNOESY (2) для образца, содержащего 1 мМ ГК в бицеллах ДМФХ/ДФФХ; рН 3.5.

с рабочей частотой 500 МГц на ядрах 1H . Времена релаксации T_1 были найдены с использованием стандартной последовательности импульсов инверсии–восстановления.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Взаимодействие ГК и ETM в водном растворе

На первом этапе работы взаимодействие молекулы ГК с трансмембранным доменом Е-белка было исследовано в гомогенной водной среде методом селективной спектроскопии ядерного эффекта Оверхаузера, (selective Nuclear Overhauser Effect correlation Spectroscopy (sNOESY)). Эксперименты показали наличие кросс-пиков между протонами ГК и ETM. Фрагменты 1H -ЯМР-спектров и спектров смеси ГК и ETM в водной среде с рН 3.5 приведены на рис. 2. Проводилось возбуждение протона ГК, обозначенного звездочкой (*) на рис. 1 (сигнал при $\delta = 5.6$ ppm). Кросс-пики наблюдались для протонов остатка фенилаланина (сигнал при $\delta = 7$ ppm). Этот результат говорит о наличии нековалентного взаимодействия молекул ГК с ETM в растворе.

Взаимодействие ГК и ETM в модельной липидной мембране

Далее были проведены эксперименты sNOESY по исследованию взаимодействия ГК и ETM с липидной мембраной, а также сделана попытка обнаружить взаимодействие ГК с ETM внутри липидного бислоя. Ранее полученные данные

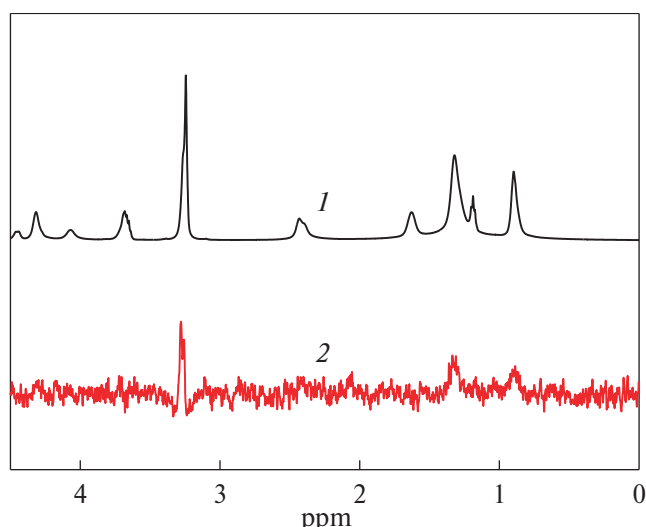


Рис. 4. Фрагменты спектров ^1H -ЯМР (1) и sNOESY (2) для образца, содержащего 0.5 мМ ЕТМ в бицеллах ДМФХ/ДГФХ; pH 3.5.

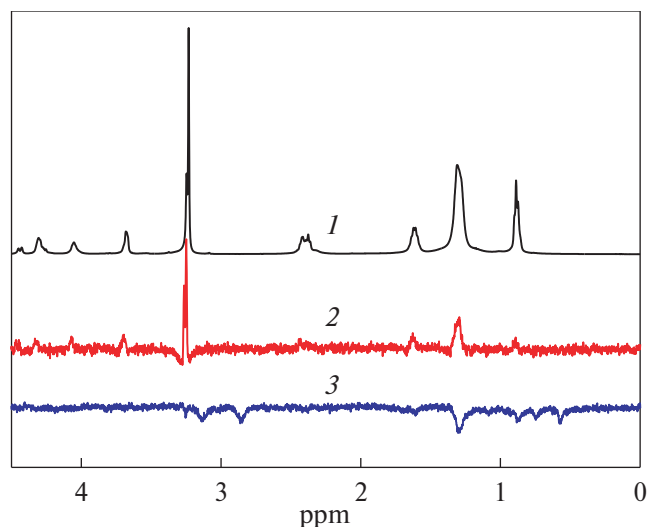


Рис. 5. Фрагменты спектров ^1H -ЯМР (1) и sNOESY (2, 3) для образцов, содержащих 1 мМ ГК (1, 2) и 1 мМ ГК + 0.5 мМ ЕТМ (3) в бицеллах ДМФХ/ДГФХ; pH 3.5.

Таблица 1. Времена спин-решеточной релаксации ядер липидов

Образец	Время, мс			
	CH_3	CH_2	P	$\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$
Чистый липид	1370 ± 70	1120 ± 40	1450 ± 70	810 ± 40
Липид + 0.5 мМ ЕТМ	1050 ± 80	940 ± 40	1320 ± 70	750 ± 50
Липид + 0.5 мМ ЕТМ+1 мМ ГК	920 ± 50	850 ± 30	1270 ± 50	745 ± 40

указывали на то, что ГК способна проникать внутрь липидного бислоя [30–32], однако этот вывод основывался преимущественно на косвенных данных (изменение подвижности липидов в присутствии ГК), а также на данных молекулярного моделирования. На рис. 3 приведены фрагменты ^1H -ЯМР- и sNOESY-спектров бицелл ДМФХ/ДГФХ в присутствии 1 мМ ГК. Как и в случае водного раствора производилось возбуждение протона ГК при $\delta = 5.6$ ppm. Наблюдаются кросс-пики между протонами ГК и протонами CH_3 -, CH_2 - и $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ -групп липидов.

Также наблюдались кросс-пики между протонами фенилаланина ЕТМ и протонами CH_3 -, CH_2 - и $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ -групп липидов в бицеллах ДГФХ/ДМФХ (рис. 4).

При совместном добавлении ЕТМ и ГК для протона, обозначенного звездочкой на рис. 1, наблюдаются те же кросс-пики, что и в отсутствие ЕТМ (рис. 5). Для протонов фенилаланина ЕТМ в присутствии ГК исчезает кросс-пик с поверхностными $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ -группами липидов (3.2 ppm), т.е., вероятно, происходит изменение

локализации молекулы ЕТМ в мембране. Для протонов фенилаланина ЕТМ наблюдаются кросс-пики с CH_3 -, CH_2 -группами липидов; Это означает, что ЕТМ по-прежнему находится внутри липидного бислоя. При этом кросс-пиков между сигналами ГК и ЕТМ не наблюдается.

Поэтому для получения дополнительной информации о влиянии ГК на трансмембранный домен Е-белка и липидную оболочку данная система была исследована методом ЯМР-релаксации. Были проведены измерения времени спин-решеточной релаксации (T_1) для протонов липидов и для фосфора для образцов, содержащих 1 мМ ГК, 0.5 мМ ЕТМ и 1 мМ ГК + 0.5 мМ ЕТМ. Результаты приведены в табл. 1.

При добавлении ГК происходит уменьшение времени спин-решеточной релаксации ядер в “хвостах” липидов, при этом времена релаксации ядер “голов” липидов не изменяются. Согласно литературным данным время спин-решеточной релаксации липидов в липосомах определяется высокочастотными колебаниями ацильной цепи [33, 34]. Кроме того, измерение времени релакса-

ции протонов фенилаланина ЕТМ показало существенное его уменьшение в присутствии ГК

Липид + 0.5 мМ ЕТМ: (585 ± 45) мс

Липид + 0.5 мМ ЕТМ + 1 мМ ГК: (230 ± 60) мс

Таким образом, встраивание ГК в липидную мембрану, содержащую молекулы ЕТМ, приводит к уменьшению подвижности липидов и ЕТМ, что, в свою очередь, может оказывать влияние на активность ЕТМ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методом селективного NOESY показано наличие взаимодействия ГК с трансмембранным доменом Е-белка коронавируса в водном растворе. Данный результат согласуется с литературными данными моделирования, которые указывают на возможность проникновения молекулы глицеризина внутрь канала, образованного молекулами ЕТМ. Однако данный результат не подтверждается экспериментами NOESY в модельных липидных мембранах — не было обнаружено кросс-пиков молекул ГК с молекулами ЕТМ в бицеллах ДМФХ/ДГФХ. При этом методом ЯМР-релаксации обнаружено влияние ГК на подвижность как липидов, так и самих молекул ЕТМ в бицеллах, содержащих 0.5 мМ ЕТМ. Это говорит о том, что ГК может оказывать влияние на активность Е-белка опосредованно, через липиды. Еще один результат данной работы полученное методом селективного NOESY доказательство проникновения молекулы ГК внутрь липидного бислоя в дополнение к данным, полученным ранее методом ЯМР-релаксации и молекулярного моделирования [25–27].

Работа выполнена при финансовой поддержке Советом по грантам Президента Российской Федерации (грант № МК-1580.2021.1.3).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Baglivo M., Baronio M., Natalini G. et al. // *Acta Biomed.* 2020. V. 91. № 1. P. 161.
2. Tang T., Bidon M., Jaimes J.A., Whittaker G.R., Daniel S. // *Antiviral Res.* 2020. V. 178. P. 104792.
3. Venkatagopalan P., Daskalova S.M., Lopez L.A., Dolezal K.A., Hogue B.G. // *Virology.* 2015. V. 478. P. 75.
4. Schoeman D., Fielding B.C. // *Viol. J.* 2019. V. 16. № 1. P. 69.
5. Mehregan A., Pérez-Conesa S., Zhuang Y. et al. // *Biochim. Biophys. Acta-Biomembr.* 2022. V. 1864. № 10. P. 183994.
6. Wilson L., Gage P., Ewart G. // *Virology.* 2006. V. 353. № 2. P. 294.
7. Gupta M.K., Vemula S., Donde R. et al. // *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2021. V. 39. № 7. P. 2617.
8. Pervushin K., Tan E., Parthasarathy K. et al. // *PLOS Pathog.* 2009. V. 5. № 7. P. e1000511.
9. Chernyshev A. Pre-print. 2020. 10.26434/chemrxiv.12286421.v1
10. Толстиков Г.А., Балтина Л.А., Гранкина В.П., Кондратенко Р.М., Толстикова Т.Г. Новосибирск: Изд-во "Гео", 2007.
11. Shibata S. // *Yakugaku Zasshi.* 2000. V. 120. № 10. P. 849.
12. Selyutina O.Y., Polyakov N.E. // *Inten. J. Pharm.* 2019. V. 559. P. 271.
13. Fiore C., Eisenhut M., Krausse R. et al. // *Phytother. Res.* 2008. V. 22. № 2. P. 141.
14. Sun Z.G., Zhao T.T., Lu N., Yang Y.A., Zhu H.L. // *Mini Rev. Med. Chem.* 2019. V. 19. № 10. P. 826.
15. Pompei R., Pani A., Flore O., Marcialis M.A., Loddo B. // *Experientia.* 1980. V. 36. № 3. P. 304.
16. Hoefer G., Baltina L., Michaelis M. et al. // *J. Med. Chem.* 2005. V. 48. № 4. P. 1256.
17. Chrzanowski J., Chrzanowska A., Graboń W. // *Phyther. Res.* 2021. V. 35. № 2. P. 629.
18. Bailly C., Vergoten G. // *Pharmacol. Ther.* 2020. V. 214. P. 107618.
19. Fomenko V.V., Rudometova N.B., Yarovaya O.I. et al. // *Molecules.* 2022. V. 27. № 1. P. 295.
20. Kang H., Lieberman P.M. // *J. Virol.* 2011. V. 85. № 21. P. 11159.
21. Sekizawa T., Yanagi K., Itoyama Y. // *Acta Virol.* 2001. P. 51.
22. Baba M., Shigeta S. // *Antiviral Res.* 1987. V. 7. № 2. P. 99.
23. Lin J.C. // *Ibid.* 2003. V. 59. № 1. P. 41.
24. Duan E., Wang D., Fang L. et al. // *Ibid.* 2015. V. 120. P. 122.
25. Harada S. // *Biochem. J.* 2005. V. 392. P. 191.
26. Crance J.M., Lévêque F., Bizziagos E. et al. // *Antiviral Res.* 1994. V. 23. № 1. P. 63.
27. Sui X., Yin J., Ren X. // *Ibid.* 2010. V. 85. № 2. P. 346.
28. Wolkerstorfer A., Kurz H., Bachhofner N., Szolar O.H.J. // *Ibid.* 2009. V. 83. № 2. P. 171.
29. Matsumoto Y., Matsuura T., Aoyagi H. et al. // *PLoS One.* 2013. V. 8. № 7. P. e68992.
30. Selyutina O.Y., Shelepova E.A., Paramonova E.D. et al. // *Arch. Biochem. Biophys.* 2020. V. 686. P. 108368.
31. Selyutina O.Y., Apanasenko I.E., Kim A.V. et al. // *Coll. Surf. B. Biointerfaces.* 2016. V. 147. P. 459.
32. Selyutina O.Y., Apanasenko I.E., Polyakov N.E. // *Russ. Chem. Bull.* 2015. V. 64. № 7. P. 1555.
33. Ellena J.F., Lepore L.S., Cafiso D.S. // *J. Phys. Chem.* 1993. V. 97. № 12. P. 2952.
34. Lepore L.S., Ellena J.F., Cafiso D.S. // *Biophys. J.* 1992. V. 61. № 3. P. 767.

LIPID-MEDIATED EFFECT OF GLYCYRRHIZIN ON THE PROPERTIES OF THE TRANSMEMBRANE DOMAIN OF THE E-PROTEIN OF THE SARS-COV-2 VIRUS

P. A. Kononova^{1, 2}, O. Yu. Selyutina^{1, 3*}, N. E. Polyakov^{1, 3}

¹Voevodsky Institute of Chemical Kinetics and Combustion, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

²Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy
of Sciences, Novosibirsk, Russia

*E-mail: olga.gluschenko@gmail.com

The interaction of glycyrrhizin with the transmembrane domain of the E-protein of the SARS-CoV-2 virus (E-protein Trans-Membrane domain, ETM) in a homogeneous aqueous solution and in a model lipid membrane was studied using the selective nuclear Overhauser effect (selective NOESY) and NMR relaxation methods. The selective NOESY showed the presence of the interaction of glycyrrhizin with ETM in an aqueous solution, which is consistent with the literature modeling data, which indicate the possibility of penetration of the glycyrrhizin molecule into the channel formed by the ETM molecules. However, this conclusion is not confirmed by NOESY experiments in model lipid membranes, DMPC/DHPC bicelles. At the same time, the NMR relaxation method revealed the effect of glycyrrhizin on the mobility of both lipids and ETM molecules in bicelles. This suggests that GA affects the activity of the coronavirus E-protein indirectly through lipids.

Keywords: glycyrrhizin, SARS-CoV-2, coronavirus E-protein, lipid membranes, NMR, NOESY.

REFERENCES

1. Baglivo M., Baronio M., Natalini G. et al. // *Acta Biomed.* 2020. V. 91. № 1. P. 161.
2. Tang T., Bidon M., Jaimes J.A., Whittaker G.R., Daniel S. // *Antiviral Res.* 2020. V. 178. P. 104792.
3. Venkatagopalan P., Daskalova S.M., Lopez L.A., Dolezal K.A., Hogue B.G. // *Virology.* 2015. V. 478. P. 75.
4. Schoeman D., Fielding B.C. // *Viol. J.* 2019. V. 16. № 1. P. 69.
5. Mehregan A., Perez-Conesa S., Zhuang Y. et al. // *Biochim. Biophys. Acta-Biomembr.* 2022. V. 1864. № 10. P. 183994.
6. Wilson L., Gage P., Ewart G. // *Virology.* 2006. V. 353. № 2. P. 294.
7. Gupta M.K., Vemula S., Donde R. et al. // *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2021. V. 39. № 7. P. 2617.
8. Pervushin K., Tan E., Parthasarathy K. et al. // *PLOS Pathog.* 2009. V. 5. № 7. P. e1000511.
9. Chernyshev A. Pre-print. 2020. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.12286421.v110>.
10. G.A. Tolstikov, L.A. Baltina, V.P. Grankina et al. Novosibirsk. Geo Publishing (2007) (in russian).
11. Shibata S. // *Yakugaku Zasshi.* 2000. V. 120. № 10. P. 849.
12. Selyutina O.Y., Polyakov N.E. // *Inten. J. Pharm.* 2019. V. 559. P. 271.
13. Fiore C., Eisenhut M., Krausse R. et al. // *Phytother. Res.* 2008. V. 22. № 2. P. 141.
14. Sun Z.G., Zhao T.T., Lu N., Yang Y.A., Zhu H.L. // *Mini Rev. Med. Chem.* 2019. V. 19. № 10. P. 826.
15. Pompei R., Pani A., Flore O., Marcialis M.A., Loddo B. // *Experientia.* 1980. V. 36. № 3. P. 304.
16. Hoefer G., Baltina L., Michaelis M. et al. // *J. Med. Chem.* 2005. V. 48. № 4. P. 1256.
17. Chrzanowski J., Chrzanowska A., Graboń W. // *Phyther. Res.* 2021. V. 35. № 2. P. 629.
18. Bailly C., Vergoten G. // *Pharmacol. Ther.* 2020. V. 214. P. 107618.
19. Fomenko V.V., Rudometova N.B., Yarovaya O.I. et al. // *Molecules.* 2022. V. 27. № 1. P. 295.
20. Kang H., Lieberman P.M. // *J. Virol.* 2011. V. 85. № 21. P. 11159.
21. Sekizawa T., Yanagi K., Itoyama Y. // *Acta Virol.* 2001. P. 51.
22. Baba M., Shigeta S. // *Antiviral Res.* 1987. V. 7. № 2. P. 99.
23. Lin J.C. // *Ibid.* 2003. V. 59. № 1. P. 41.
24. Duan E., Wang D., Fang L. et al. // *Ibid.* 2015. V. 120. P. 122.
25. Harada S. // *Biochem. J.* 2005. V. 392. P. 191.
26. Crance J.M., Leveque F., Bizjagos E. et al. // *Antiviral Res.* 1994. V. 23. № 1. P. 63.
27. Sui X., Yin J., Ren X. // *Ibid.* 2010. V. 85. № 2. P. 346.
28. Wolkerstorfer A., Kurz H., Bachhofner N., Szolnar O.H.J. // *Ibid.* 2009. V. 83. № 2. P. 171.
29. Matsumoto Y., Matsuura T., Aoyagi H. et al. // *PLoS One.* 2013. V. 8. № 7. P. e68992.
30. Selyutina O.Y., Shelepova E.A., Paramonova E.D. et al. // *Arch. Biochem. Biophys.* 2020. V. 686. P. 108368.
31. Selyutina O.Y., Apanasenko I.E., Kim A.V. et al. // *Coll. Surf. B. Biointerfaces.* 2016. V. 147. P. 459.
32. Selyutina O.Y., Apanasenko I.E., Polyakov N.E. // *Russ. Chem. Bull.* 2015. V. 64. № 7. P. 1555.
33. Ellena J.F., Lepore L.S., Cafiso D.S. // *J. Phys. Chem.* 1993. V. 97. № 12. P. 2952.
34. Lepore L.S., Ellena J.F., Cafiso D.S. // *Biophys. J.* 1992. V. 61. № 3. P. 767.34.

УДК 57.037

АЭРОБНЫЙ РАСПАД ДИМЕТИЛТИОМОЧЕВИННОГО НИТРОЗИЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА В ПРИСУТСТВИИ АЛЬБУМИНА И ГЛУТАТИОНА

© 2024 г. А. Ю. Кормухина^{1,2*}, А. Б. Кусяпкулова^{1,2},
Н. С. Емельянова¹, О. В. Покидова¹, Н. А. Санина^{1,2,3}

¹Федеральный исследовательский центр химической физики и медицинской химии
Российской академии наук, Черноголовка, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³Научно-образовательный центр “Медицинская химия” Московского государственного
областного университета, Мытищи, Россия

*E-mail: alex.kormukhina2015@yandex.ru

Поступила в редакцию 07.10.2022;
после доработки 18.10.2022;
принята в печать 20.10.2022

Нитрозильные комплексы железа (НКЖ), природные “депо” монооксида азота (NO), образуются при действии эндогенного NO на активные центры негемовых [2Fe–2S]-белков. Их синтетические низкомолекулярные аналоги являются перспективными соединениями для использования в качестве лекарственных средств для терапии социально значимых заболеваний. В настоящей работе исследовано влияние бычьего сывороточного альбумина (BSA) и восстановленного глутатиона (GSH) на распад нитрозильного комплекса железа с *N,N'*-диметилтиомочевинными лигандами — [Fe(SC(NHCH₃)₂)(NO)₂]BF₄ (комплекс 1) в аэробных условиях. В спектрах поглощения двойной системы BSA–комплекс 1 наблюдается появление широкой полосы при 370–410 нм, что свидетельствует о координации аэробного продукта распада комплекса в гидрофобном кармане белка с Cys34 и His39. Методом флуоресцентной спектроскопии изучено тушение собственной флуоресценции альбумина при титровании комплексом 1. Рассчитаны константа Штерна–Фольмера $K = (2.3 \pm 0.2) \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$ и радиус Фёрстера, равный 22.4 Å. Установлено, что в присутствии GSH УФ-спектр комплекса 1 кардинально меняется: появляются два максимума — при 312 и 363 нм, характерные для глутатионового биядерного НКЖ.

Ключевые слова: нитрозильные комплексы железа, NO-доноры, бычий сывороточный альбумин, глутатион, УФ-спектроскопия, флуоресцентная спектроскопия, метод функционала плотности.

DOI: 10.31857/S0207401X24020078 EDN: WHOAEF

ВВЕДЕНИЕ

Многочисленные исследования в области биологии, химии и медицины показали, что монооксид азота (NO) участвует в различных физиологических процессах *in vivo*, таких как регуляция кровяного давления, ингибирование агрегации тромбоцитов, нейротрансмиссия и др. Применение препаратов-доноров NO относится к одному из основных подходов, направленных на снижение смертности от ряда социально значимых заболеваний [1–4]. Однако используемые на данный момент лекарственные средства обладают рядом существенных недостатков, связанных с развитием толерантности, необходимостью увеличения продолжительности действия, высокой токсичностью, неэффективностью на поздних стадиях лечения и т.д. [5, 6]. Поэтому актуальной задачей

современной науки является синтез новых соединений, экзогенных доноров NO, обладающих минимумом отмеченных недостатков и способных при этом эффективно доставлять NO к биологическим мишеням.

Нитрозильные комплексы железа (НКЖ) представляют собой гибридные молекулы, содержащие в своем составе два фармакозначимых фрагмента: серосодержащие лиганды и NO-группы. Важными преимуществами НКЖ перед другими классами экзогенных NO-доноров являются их способность самопроизвольно генерировать NO в водных растворах без дополнительной активации и действие при низких терапевтических дозах [7–10].

В ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН проводятся синтез и исследование катионных моноядерных НКЖ с алифа-

тическими производными тиомочевина и биядерных НКЖ с тиаминами, которые являются перспективными представителями синтетических низкомолекулярных НКЖ благодаря их хорошей растворимости в воде и широкому спектру фармакологической активности, включая цитотоксическую, цитопротекторную, кардиотропную, антибактериальную и т.д. [11–15].

Катионный нитрозильный комплекс железа с N,N' -диметилтиомочевинными лигандами — $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NHCH}_3)_2)_2(\text{NO})_2]\text{BF}_4$ (комплекс 1) снижает жизнеспособность клеток множественной миеломы на 70.8%. Также данный комплекс увеличивает уровень активных форм кислорода в раковых клетках в 4 раза и понижает уровень внутриклеточного глутатиона, что приводит к уменьшению роста опухолевых клеток. В связи с этим комплекс 1 представляет собой перспективное соединение для терапии онкологических заболеваний [16, 17].

Ранее было показано, что НКЖ в условиях *in vivo* будут взаимодействовать со множеством мишеней: с тиол- и гемсодержащими белками, а также с низкомолекулярными тиолами [18]. Поэтому для дальнейшего изучения механизмов действия этих комплексов необходимо четко понимать, как будет происходить их биотрансформация и какие продукты при этом могут образоваться. В работе [19] установлено, что при введении в кровь НКЖ основная их часть будет связана с альбумином — белком плазмы крови, ключевой функцией которого является перенос свободных жирных кислот, различных метаболитов, билирубина, гормонов, лекарств, и металлов [20–25]. Связывание НКЖ, как было показано ранее [26], будет происходить по единственной свободной SH-группе цистеина (Cys34), расположенной в субдомене **Ia** и по гистидиновым остаткам.

Рассматривая биологически важные тиолы, которые могут играть существенную роль в процессе трансформации НКЖ, следует выделить восстановленный глутатион (GSH), который является самым распространенным небелковым тиолом в живых организмах и выполняет множество функций. Установлено, что развитие рака, нейродегенеративных заболеваний, кистозного фиброза может быть связано с нарушением метаболизма GSH [27], а соотношение GSH/GSSG (дисульфид глутатиона) составляет основу кле-

точного окислительно-восстановительного гомеостаза [28].

Исходя из вышеизложенного, целью данной работы является изучение трансформации комплекса 1 в присутствии бычьего сывороточного альбумина (BSA) и GSH в аэробных условиях *in vitro*. Полученные результаты также позволят оценить роль кислорода, поскольку он способен реагировать с НКЖ [29] и, следовательно, может существенно влиять на процессы взаимодействия НКЖ с BSA и GSH. Проводимые исследования обладают фундаментальной и прикладной значимостью, так как помогут расширить существующие знания о процессах биотрансформации НКЖ.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В настоящем исследовании были использованы трис(гидроксиметил)аминометана производства компании Serva (Germany), бычий сывороточный альбумин (5 фракция, BIOCLLOT, Germany), диметилсульфоксид (“ЛенРеактив”, Россия), L-глутатин в восстановленной форме (Sigma-Aldrich, USA).

Техника работы в атмосфере аргона

Перед проведением опытов комплекс 1 растворяли в атмосфере аргона в анаэробном диметилсульфоксиде (ДМСО). Аргон высокой чистоты из баллона пропускали через колонку с хром-никелевым катализатором при 23 °C для дополнительной очистки. Затем удаляли воздух из рабочих растворов путем пропускания через них очищенного аргона при перемешивании на магнитной мешалке в течение 30 мин. Таким образом, создавали анаэробную среду внутри сосуда. Вся посуда, используемая для рабочих растворов, была герметично закрыта с помощью резиновых затворов RubberSepta производства компании Sigma-Aldrich (USA). Для перенесения раствора из одного сосуда в другой использовали шприцы с припаянными иглами. Избыточное давление сбрасывали с помощью иглы, для чего вводили иглы через резиновый затвор, набирали газ в шприц, выносили его из сосуда и спускали из шприца лишний газ.

Исследование кинетики распада комплекса 1 в буфере Трис-HCl

Чтобы избежать распада комплекса в присутствии кислорода, его исходный раствор готовили

в анаэробных условиях путем растворения в анаэробном абсолютном ДМСО. Растворение проводили при интенсивном перемешивании на магнитной мешалке в течение 9 мин при 23 °С. Затем 0.3 мл раствора комплекса отбирали и вводили в опытную кювету объемом 4 мл с длиной оптического пути 1 см, которая содержала 2.7 мл 0.05 М Трис-НСI буфер с pH 7.0. Конечный объем раствора комплекса в экспериментальной кювете составлял 3 мл, концентрация комплекса в конечном растворе была равна $2 \cdot 10^{-4}$ М. Контрольная кювета содержала 3 мл буфера Трис-НСI с pH 7.0.

Изучение кинетики распада комплекса 1 в присутствии BSA

Навеску BSA растворяли в 0.05 М Трис-НСI-буфере с pH 7.0. Полученный раствор добавляли в сосуд с навеской комплекса. Растворение проводили при интенсивном перемешивании на магнитной мешалке в течение 6 мин при 23 °С. Затем отбирали 0.25 мл полученного раствора белка с концентрацией $2.4 \cdot 10^{-3}$ М и вносили в опытную кювету. Концентрация комплекса в исходном растворе анаэробного ДМСО составляла $2 \cdot 10^{-3}$ М. Далее отбирали 0.3 мл полученного раствора и вносили в кювету с BSA. Конечная концентрация комплекса составила $2 \cdot 10^{-4}$ М.

Изучение кинетики распада комплекса 1 в присутствии GSH

В кварцевую кювету объемом 3 мл с длиной оптического пути 1 см вводили раствор комплекса 1 в ДМСО с концентрацией $3 \cdot 10^{-3}$ М и раствор GSH в 0.05 М Трис-НСI-буфере (pH 7.0). Конечная концентрация комплекса 1 в кювете равна $0.8 \cdot 10^{-4}$ М, а GSH – $3.2 \cdot 10^{-4}$ М.

Регистрация УФ-спектров поглощения

УФ-спектры поглощения регистрировали в диапазоне длин волн 200–600 нм через определенные интервалы времени при комнатной температуре на спектрофотометре Cary 60 UV-Vis производства компании Agilent Tech. (USA).

Изучение взаимодействия BSA с комплексом 1 методом флуоресцентной спектроскопии

Исходный раствор комплекса с концентрацией $1.5 \cdot 10^{-3}$ М готовили в анаэробных условиях, как описано выше, путем растворения в анаэробном абсолютном ДМСО. Далее разводили полученный

раствор в 1.8 мл анаэробного раствора 0.05 М Трис-НСI-буфера pH 7.0 для получения концентрации комплексов $1.5 \cdot 10^{-4}$ М. Аликвоту объемом 2.990 мл аэробного раствора BSA с концентрацией 10^{-6} М титровали при последовательном добавлении раствора комплекса 1.

Регистрация спектров флуоресценции

Спектры испускания флуоресценции регистрировали в диапазоне длин волн 300–400 нм через определенные интервалы времени при комнатной температуре. Длина волны возбуждения была выбрана равной 290 нм, ширина щели возбуждения и ширина щели испускания устанавливались равными 5 и 10 нм соответственно. Титрование проводили вручную с использованием микрошприца объемом 50 мкл. Эксперимент проводили на спектрофлуориметре Cary Eclipse производства компании Varian (USA).

Квантовохимические расчеты

Квантовохимические расчеты были выполнены с полной оптимизацией геометрии начального, конечного и промежуточного комплексов с использованием программы Gaussian 09 (версия D) [30] и метагибридного функционала TPSSH и базисного набора 6-311++G**/6–31G* с учетом сольватации в водном растворе в рамках модели поляризуемого континуума. Электронные спектры были рассчитаны с помощью теории функционала плотности, зависящей от времени (TDDFT).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Распад комплекса 1 в присутствии альбумина

В работах [29, 31] было показано, что кислород играет важную роль в процессе трансформации НКЖ. В спектрах поглощения комплекса 1 в Трис-НСI-буфере появляется широкое плечо при 280–370 нм, которое согласно квантовохимическим расчетам характерно для продуктов взаимодействия кислорода с тиомочевинной и ее производными [32]. Эффективная константа скорости для данного процесса составила $(3.7 \pm 0.4) \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$ (вставка на рис. 1).

Ранее с помощью метода квантовохимического моделирования был получен ряд кислородсодержащих НКЖ, являющихся продуктами координации кислорода по различным положениям

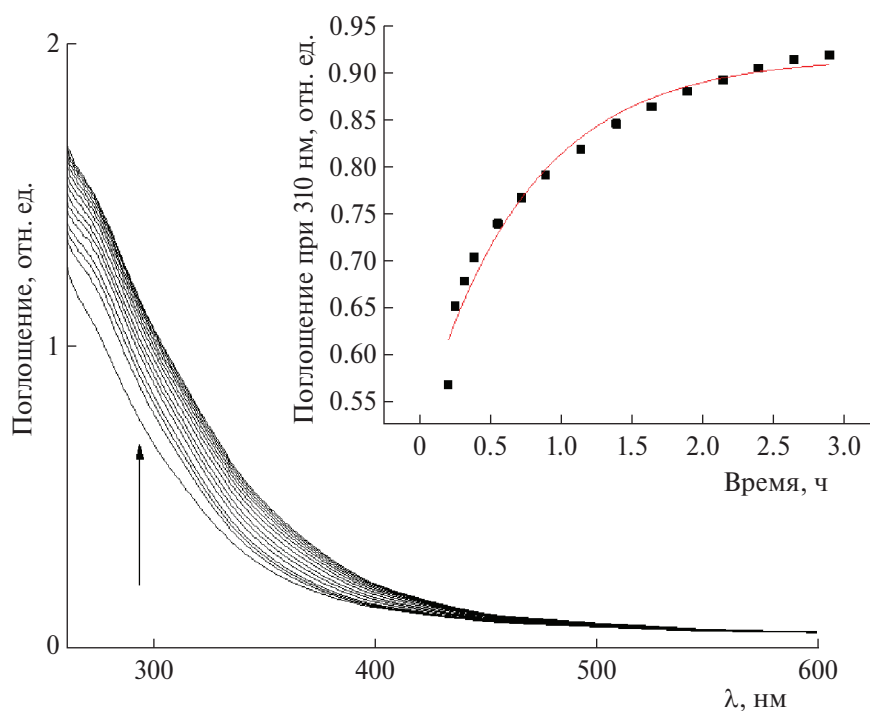


Рис. 1. Изменение спектров поглощения комплекса 1 в Трис-НСI-буфере. Условия реакции: концентрация комплекса 1 — $2 \cdot 10^{-4}$ М, температура — 23 °С, растворитель — 0.05 М Трис-НСI-буфер рН 7.0. На вставке представлена кинетическая кривая распада комплекса 1 для данного опыта. Константа скорости данного процесса составила $(3.7 \pm 0.4) \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$.

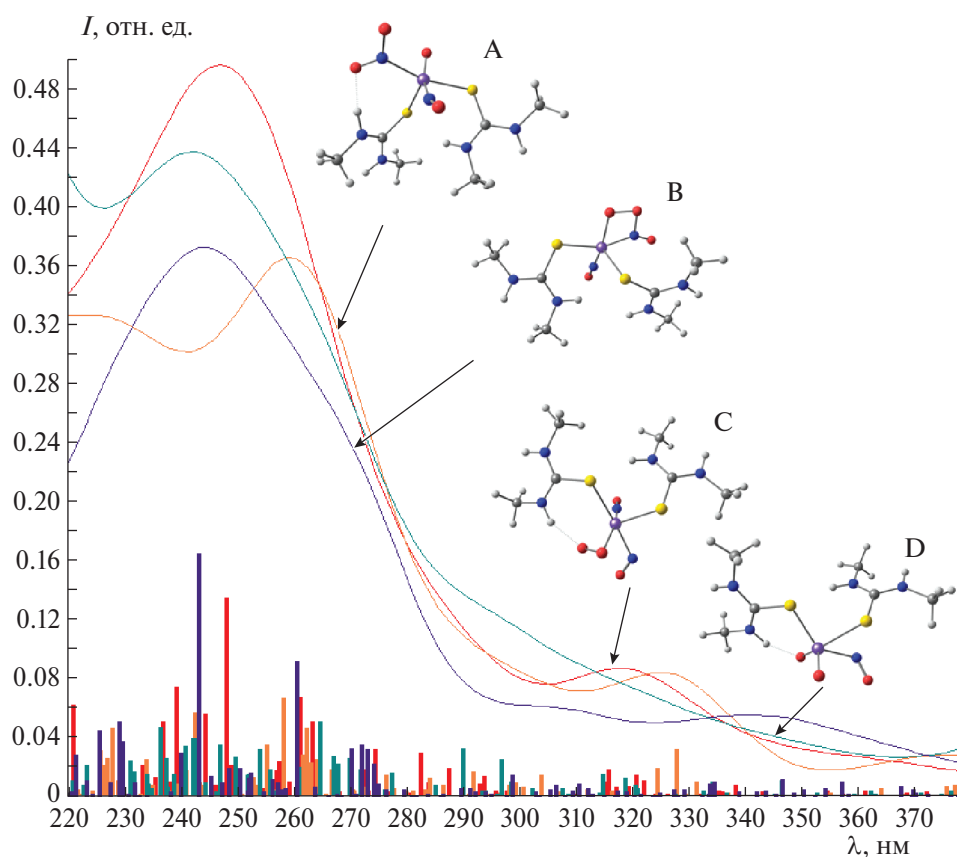


Рис. 2. TDDFT-спектры продуктов окисления комплекса 1: А, В — продукты присоединения молекулы кислорода по NO-лиганду; С, D — продукты присоединения кислорода к атому железа.

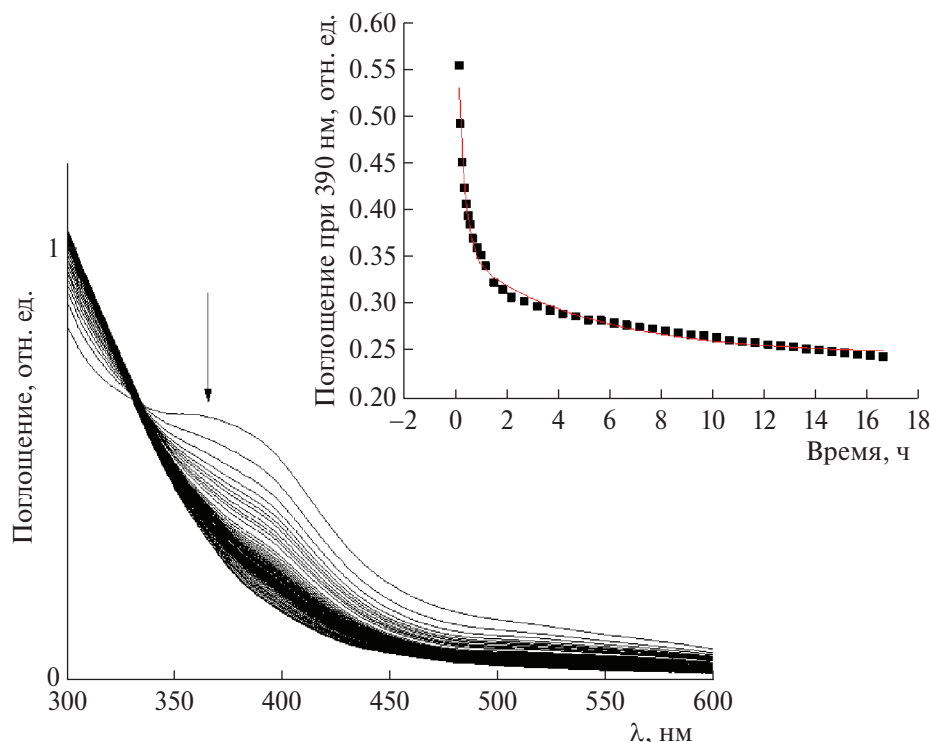


Рис. 3. Изменение спектров поглощения комплекса 1 в присутствии BSA. Условия реакции: концентрация комплекса 1 — $2 \cdot 10^{-4}$ М, концентрация BSA — $2 \cdot 10^{-4}$ М, температура — 23 °С, растворитель — 0.05 М Трис-НСI-буфер с рН 7.0. Константы скорости данного процесса составили $(1.1 \pm 0.1) \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$ и $(5.7 \pm 0.6) \cdot 10^{-5} \text{ с}^{-1}$.

в исходном комплексе 1 [33]. На рис. 2 приведены теоретические TDDFT-спектры продуктов, имеющих полосы в диапазоне 280–350 нм. Лучше всего с экспериментальным спектром (рис. 1) совпадает теоретический спектр комплекса D — $\text{Fe}(\text{NO})(\text{O})_2(\text{SC}(\text{NHCH}_3)_2)_2$, поэтому можно предположить, что он будет основным продуктом взаимодействия кислорода с исходным комплексом 1.

В присутствии альбумина наблюдается иной вид спектров поглощения (рис. 3). В данном случае сразу после смешивания реагентов появляется характерная для моноядерных НКЖ с цистеином и другими алифатическими тиолигандами [34] полоса в области 370–410 нм, что может указывать на образование высокомолекулярного комплекса, связанного с белком. Мы полагаем, что основным продуктом будет являться комплекс $\text{Fe}(\text{Cys34})(\text{His39})(\text{NO})(\text{O})_2$, полученный при координации фрагмента $[\text{Fe}(\text{NO})(\text{O})_2]$ (соединение D без тиолигандов, рис. 2) на Cys34 и His39, находящихся в гидрофобном кармане альбумина. Кроме того, в данном случае нельзя исключать связывание с аминокислотными остатками как самого железодинитрозильного фрагмента, так и других ки-

слородсодержащих продуктов, как это уже было ранее нами описано на примере НКЖ с тиосульфатными и тиомочевинными лигандами [35].

Как показано на вставке к рис. 3, данный комплекс медленно распадается; при этом кривая не выходит на плато даже спустя 18 ч. Для аппроксимации экспериментальных данных была использована функция $y(t) = y_0 + A_1 \cdot e^{-k_1 t} + A_2 \cdot e^{-k_2 t}$. Рассчитанные эффективные константы скорости составили $(1.1 \pm 0.1) \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$ и $(5.7 \pm 0.6) \cdot 10^{-5} \text{ с}^{-1}$ для двух последовательных процессов. Можно предположить, что быстрый процесс, описываемый первой константой, соответствует именно взаимодействию связанного с белком комплекса с кислородом. Наличие изобестической точки при 349 нм свидетельствует о том, что в растворе присутствует два типа поглощающих центров. При этом можно предположить, что распад комплекса будет сопровождаться нитрозилированием SH-группы Cys34.

Распад комплекса 1 в присутствии GSH

В спектрах поглощения комплекса 1 в среде с GSH наблюдается появление двух максиму-

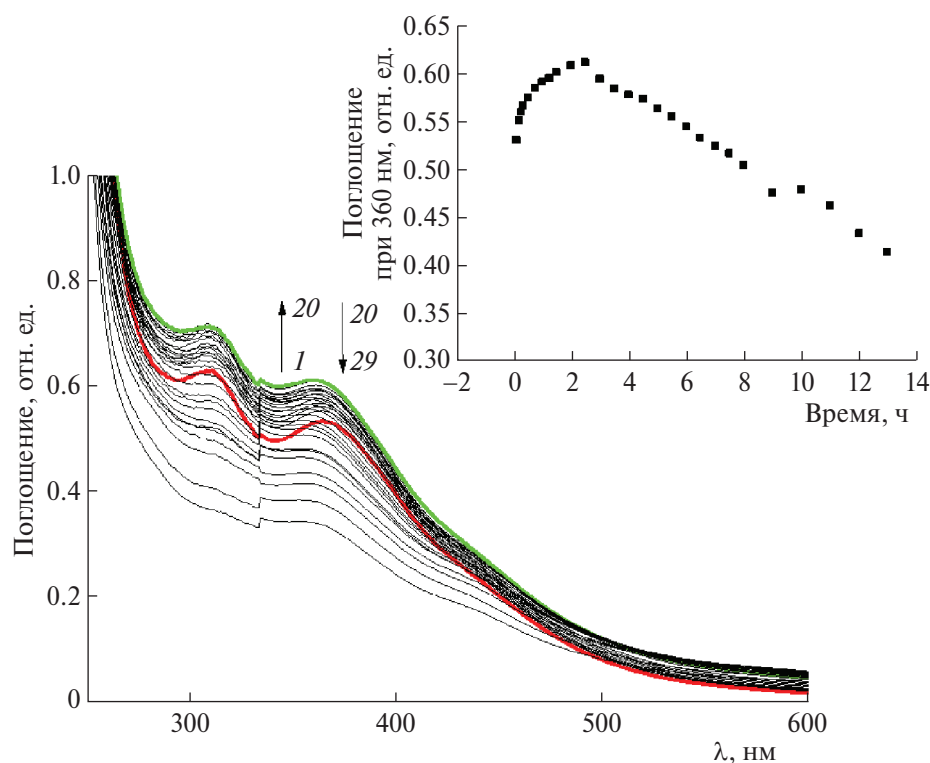


Рис. 4. Изменение спектров поглощения комплекса 1 в присутствии GSH. Условия реакции: концентрация комплекса 1 — $0.8 \cdot 10^{-4}$ М, концентрация GSH — $3.2 \cdot 10^{-4}$ М, температура — 23 °С, растворитель — 0.05 М Трис-НСl-буфер с pH 7.0. Константа скорости начального процесса составила $k = (5.3 \pm 0.6) \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$.

мов — при 312 и 363 нм (рис. 4), которые отсутствовали в исходном спектре. Такая форма спектра характерна для биядерных НКЖ с глутатионовыми и другими алифатическими лигандами [34]. В данном случае мы предполагаем, что комплекс димеризуется; при этом исходные *N,N'*-диметилтиомочевинные тиолиганды замещаются на GSH с образованием нового НКЖ с GSH-лигандами — бис-(глутатион-2-тиолат)тетранитрозилдижелезо $[\text{Fe}_2(\text{GS}^-)_2(\text{NO})_4]^{2+}$. Согласно исследованию [36] теоретический спектр комплекса $[\text{Fe}_2(\text{GS}^-)_2(\text{NO})_4]^{2+}$ в достаточной мере совпадает с экспериментальным спектром, полученным для реакционной смеси комплекса 1 с GSH.

На вставке к рис. 4 приведена кинетическая зависимость трансформации НКЖ в присутствии GSH, которая имеет сложный характер и обработана с использованием двух функций. В результате аппроксимации начального участка экспериментальных данных уравнением $y(t) = y_0 + A \cdot e^{-kt}$ получено следующее значение эффективной константы скорости: $k = (5.3 \pm 0.6) \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$. Увеличение поглощения, наблюдаемое на начальном участке кинетической кривой, по-видимому, связано с накоплением глутатионного комплекса (спектры

1–20) в реакционной смеси, а дальнейшее падение отражает его распад (спектры 21–29).

Спектры флуоресценции BSA в присутствии комплекса 1

Согласно литературным данным собственная флуоресценция BSA обусловлена наличием двух аминокислотных остатков: триптофана Trp 213 и Trp 134, которые флуоресцируют независимо друг от друга с примерно равной интенсивностью [37]. На рис. 5 показано изменение спектров флуоресценции альбумина при титровании его раствором комплекса 1. Исходная интенсивность флуоресценции белка уменьшается на 40% после окончания добавления комплекса 1. Также наблюдается небольшой сдвиг спектра в синюю область. Согласно литературным данным триптофановые остатки имеют спектры флуоресценции с максимумами в диапазоне 308–355 нм, в зависимости от их локализации [38]. Таким образом, исходя из экспериментальных данных (рис. 5), можно предположить, что Trp 213 и Trp 134 тушатся в разной степени. При этом, как и ранее [35], мы полагаем, что тушение происходит в результате координации продукта аэробного распада комплекса 1 с ами-

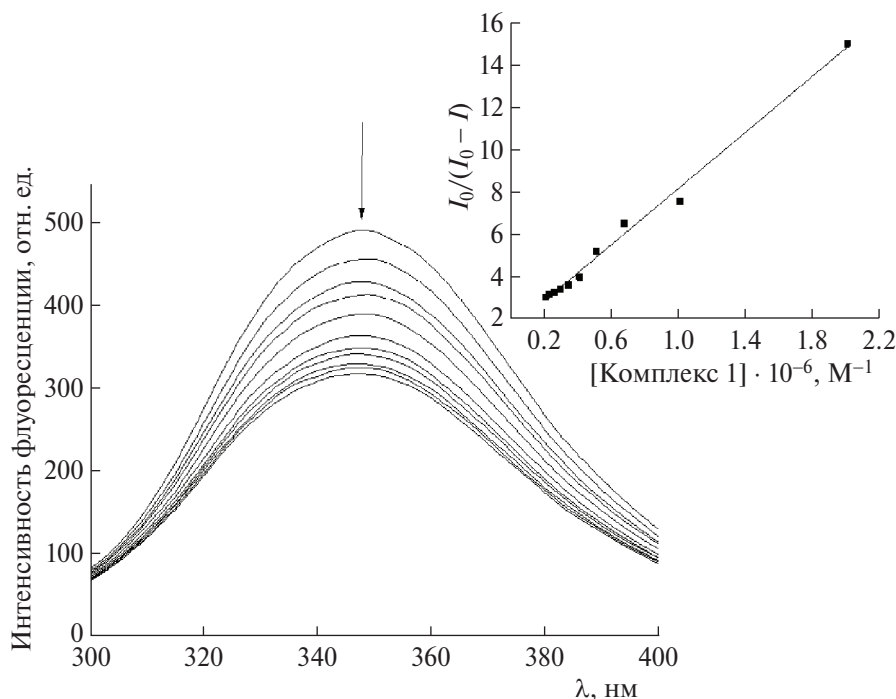


Рис. 5. Влияние комплекса 1 на спектры флуоресценции BSA. Условия: начальные концентрации комплекса 1 — 0; $0.5 \cdot 10^{-6}$; $1 \cdot 10^{-6}$; $1.5 \cdot 10^{-6}$; $2 \cdot 10^{-6}$; $2.47 \cdot 10^{-6}$; $2.95 \cdot 10^{-6}$; $3.43 \cdot 10^{-6}$; $3.91 \cdot 10^{-6}$; $4.38 \cdot 10^{-6}$; $4.86 \cdot 10^{-6}$ М, BSA — $1 \cdot 10^{-6}$ М, $\lambda_{ex} = 290$ нм, 0.05 М Трис-НСl-буфер рН 7.0, температура — 23 °С. На вставке представлена кривая Штерна—Фольмера системы BSA—комплекс 1.

нокислотными остатками Cys34 и His39 альбумина.

Экспериментальные данные были обработаны с помощью уравнения Штерна—Фольмера. Полученная кривая характеризуется изгибом вниз к оси x , что связано с наличием недоступных для тушения остатков триптофана. Поэтому для определения константы скорости тушения K_{sv} было использовано модифицированное уравнение Штерна—Фольмера:

$$\frac{I_0}{I_0 - I} = \frac{1}{f_a K_{sv} [Q]} + \frac{1}{f_a},$$

где I и I_0 — интенсивности флуоресценции в отсутствие и в присутствии тушителя, соответственно; $f_a = 0.66$ — часть флуорофора, доступная тушителю (рассчитана из аппроксимации, приведенной на вставке к рис. 5); $[Q]$ — концентрация тушителя.

На вставке рис. 5 показана линейная зависимость тушения флуоресценции BSA от концентрации комплекса 1 в координатах Штерна—Фольмера. Константа Штерна—Фольмера, рассчитанная по тангенсу угла наклона полученной прямой, равна $(2.3 \pm 0.2) \cdot 10^5 \text{ М}^{-1}$ и в нашем случае экви-

валентна константе связывания комплекса 1 с BSA.

Для анализа влияния связывания комплекса с белком на эффективность тушения каждого остатка триптофана был определен интеграл спектрального перекрытия $J(\lambda)$ общей флуоресценции триптофана белка и спектра поглощения полученного высокомолекулярного комплекса связанного с белком, а затем рассчитан радиус Фёрстера R_0 , который равен расстоянию, при котором происходит 50%-ное тушение флуоресценции [39]:

$$J(\lambda) = \left[\int_0^\infty F_D(\lambda) \varepsilon_A(\lambda) \lambda^4 d\lambda \right] \times \left[\int_0^\infty F_D(\lambda) d\lambda \right]^{-1},$$

$$R_0 = 0.211 [k^2 N^{-4} \Phi J(\lambda)]^{1/6},$$

где ε_A — коэффициент экстинкции акцептора; $F_D(\lambda)$ — спектр эмиссии донора; k^2 — коэффициент, характеризующий относительную ориентацию в пространстве переходных диполей донора и акцептора (для случайной ориентации в жидком растворе $k^2 = 0.66$ [38, 40]); N — средний показатель преломления среды в диапазоне длин волн, где спектральное перекрытие значительно

($N=1.33$); Φ — квантовый выход флуоресценции донора (квантовый выход флуоресценции остатков триптофана равен 0.13 [41]).

Рассчитанный радиус Фёрстера равен 22.4 Å. Методом молекулярного моделирования в работе [42] определены расстояния от S (Cys 34) до Tpr 134 и до Tpr 213, которые равны 21.7 Å и 33.2 Å соответственно. Поэтому в данном случае будет наблюдаться более эффективное тушение флуоресценции именно Tpr 134.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что альбумин и глутатион, подобно кислороду, принимают активное участие в процессе трансформации комплекса 1. Продукт аэробного распада комплекса 1 может координироваться с Cys34 и His39 в гидрофобном кармане BSA с образованием высокомолекулярного НКЖ $\text{Fe}(\text{Cys34})(\text{His39})(\text{NO})(\text{O})_2$, поглощающего в области 370–410 нм. В данной системе происходит эффективное тушение собственной флуоресценции белка, а рассчитанная константа Штерна–Фольмера составляет $(2.3 \pm 0.2) \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$. Показано, что в присутствии глутатиона в спектрах поглощения появляются новые полосы при 312 и 363 нм, что соответствует образованию нового биядерного НКЖ с GSH-лигандами — бис-(глутатион-2-тиолат)тетранитрозилдижелеза $[\text{Fe}_2(\text{GS}^-)_2(\text{NO})_4]^{2+}$. Константа скорости данного процесса составила $(5.3 \pm 0.6) \cdot 10^{-4} \text{ c}^{-1}$.

Мы полагаем, что продукты, образующиеся в результате трансформации комплекса 1 в присутствии GSH и BSA, являются фармакологическими активными формами исходного комплекса в организме.

Работа по исследованию трансформации комплекса в модельных биологических системах выполнена за счет гранта президента (№ МК-1634.2021.1.3.), синтез комплекса — по теме госзадания № 124020500019-2.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ванин А.Ф. // Соросов. обр. журн. 2001. Т. 7. № 11. С. 7.
2. Ignarro L.J. // Circulation Res. 2002. V. 90. № 1. P. 21.
3. Ghimire K., Altmann H.M., Straub A.C. et al. // Amer. J. Physiol. Cell Physiol. 2017. V. 312. P. 254.
4. Константинова Т.С., Шевченко Т.Ф., Барсков И.В. и др. // Хим. физика. 2021. Т.40. № 2. С. 61.
5. Needleman P., Johnson J.R. Eu. M. // J. Pharm. Exp. Therap. 1973. V. 184. P. 709.
6. Шурушина А.С., Галина А.Р., Кулиш Е.И. // Хим. физика. 2022. Т. 41. № 4. С. 63.
7. Pectol D.C., Khan S., Chupik R.B. et al. // Mol. Pharm. 2019. V. 16. P. 3178.
8. Псуха Б.Л., Нешев Н.И., Соколова Е.М. и др. // Хим. физика. 2020. Т. 39. № 7. С. 9.
9. Саратовских Е.А., Санина Н.А., Мартыненко В.М. и др. // Хим. физика. 2020. Т. 39. № 1. С. 39.
10. Chazov E.I., Rodnenkov O.V., Zorin A.V. et al. // Nitric Ox. 2012. V. 26. P. 148.
11. Sanina N.A., Shmatko N.Y., Korchagin D.V. et al. // J. Coord. Chem. 2016. V. 69. P. 812.
12. Sanina N.A., Aldoshin S.M., Shmatko N.Y. et al. // Inorg. Chem. Commun. 2014. V. 49. P. 44.
13. Akentieva N.P., Sanina N.A., Prichodchenko T.R. et al. // Dokl. Biochem. Biophys. 2019. V. 486. P. 238.
14. Gizatullin A.R., Akentieva N.P., Sanina N.A. et al. // Dokl. Biochem. Biophys. 2018. V. 483. P. 337.
15. Mumyatova V.A., Kozub G.I., Kondrat'eva T.A. et al. // Russ. Chem. Bull. 2019. V. 68. P. 1025.
16. Shmatko N.Yu., Korchagin D.V., Shilov G.V. et al. // Polyhedron. 2017. V. 137.
17. Акентьева Н.П., Санина Н.А., Приходченко Т.Р. и др. // Докл. АН. 2019. Т. 486. № 6. С. 742.
18. Lewandowska H., Kalinowska M., Brzóska K. et al. // Dalt Trans. 2011. V. 33. P. 8273.
19. Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Timoshin A.A. et al. // Methods. Enzym. 2008. V. 436. P. 445.
20. Otagiri M., Chuang V.T.G. / Albumin in Medicine. Singapore: Springer, 2016.
21. Peters J.T. // All About Albumin. 1st ed. N.Y.: Acad. Press, 1995.
22. André C., Guillaume Y.C. // Talanta. 2004. V. 63. P. 503.
23. Bal W., Sokołowska M., Kurowska E. et al. // Biochim. Biophys. Acta. 2013. V. 1830. P. 5444.
24. Patel S.U., Sadler P.J., Tucker A. // J. Amer. Chem. Soc. 1993. V. 115. P. 9285.
25. Scott B.J., Bradwell A.R. // Clin. Chem. 1983. V. 29. P. 629.
26. Boese M., Mordvintsev P.I., Vanin A.F. et al. // Biol. Chem. 1995. V. 270. P. 29244.
27. Townsend D.M., Tew K.D., Tapiero H. // Biomed. Pharm. 2003. V. 57. P. 145.
28. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д. // Успехи биол. химии. 2014. Т. 54. С. 299.
29. Pokidova O.V., Emel'yanova N.S., Psikha B.L. et al. // In. Chim. Acta. 2020. V. 502. P. 119369.
30. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B., Scuseria G.E., Robb M.A., Cheeseman J.R., Scalmani G., Barone V., Mennucci B., Petersson G.A., Nakatsuji H., Caricato M., Li X., Hratchian H.P., Izmaylov A.F., Bloino J., Zheng G.,

- Sonnenberg J.L., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Montgomery J.A., Jr., Peralta J.E., Ogliaro F., Bearpark M., Heyd J.J., Brothers E., Kudin K.N., Staroverov V.N., Keith T., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A., Burant J.C., Iyengar S.S., Tomasi J., Cossi M., Rega N., Millam J.M., Klene M., Knox J.E., Cross J.B., Bakken V., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R.E., Yazyev O., Austin A.J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J.W., Martin R.L., Morokuma K., Zakrzewski V.G., Voth G.A., Salvador P., Dannenberg J.J., Dapprich S., Daniels A.D., Farkas O., Foresman J.B., Ortiz J.V., Cioslowski J., Fox D.J. Gaussian 09. Rev. D.01. 2013.
31. Banerjee A., Sen S., Paul A. // Chem. A Europ. J. 2018. V. 24. P. 3330.
32. Emel'yanova N.S., Gutsev L.G., Pokidova O.V. et al. // Inorg. Chim. Acta. 2021. V. 524. P. 120453.
33. Емельянова Н.С., Гуцев Л.Г., Загайнова Е.А. и др. // Изв. РАН. 2022. Т. 9. С. 1.
34. Vanin A.F., Poltorakov A.P., Mikoyan V. D. et al. // Nitr. Ох. 2010. V. 23. P. 136.
35. Pokidova O.V., Emel'yanova N.S., Kormukhina A. Yu. et al. // Dalt. Trans. 2022. V. 51. P. 6473.
36. Pokidova O.V., Emel'yanova N.S., Psikha B.L. et al. // J. Mol. Str. 2019. V. 1192. P. 264.
37. Peterman B.F., Laidler K.J. // Arch. Biochem. Biophys. 1980. V. 199. P. 158.
38. Lakowicz J.R., Joseph R. Principles of Fluorescence Spectroscopy. USA: Springer, 2006.
39. Förster T. // Ann. Phys. 1948. V. 437. P. 55.
40. Chen Y., Barkley M.D. // Biochem. 1998. V. 37. P. 9976.
41. Mahammed A., Gray H. B., Weaver J. J. et al. // Bioconj. Chem. 2004. V. 15. P. 738.
42. Pokidova O.V., Luzhkov V.B., Emel'yanova N.S. et al. // Dalt. Trans. 2020. V. 49. P. 2674.

AEROBIC DECOMPOSITION OF DIMETHYLTHIOUREA NITROSYL IRON COMPLEX IN THE PRESENCE OF ALBUMIN AND GLUTATHIONE

A. Yu. Kormukhina^{1,2*}, A. B. Kusyapkulova^{1,2}, N. S. Emel'yanova^{1,2},
O. V. Pokidova¹, N.A. Sanina^{1,2,3}

¹Federal Research Center Problem of Chemical Physics and Medical Chemistry
of the Russian Academy of Sciences, Chernogolovka, Russia

²Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

³Scientific and Educational Center "Medical Chemistry" of Moscow State Regional University, Mytishchi, Russia

*E-mail: alex.kormukhina2015@yandex.ru

Nitrosyl iron complexes (NICs) are natural "depots" of NO. NICs forms by the interaction of endogenous nitric oxide (NO) and non-heme [2Fe-2S] proteins. Their synthetic analogues are promising compounds in medicines for the treatment of socially significant diseases. In this paper, the effect of bovine serum albumin (BSA) and reduced glutathione (GSH) on the decomposition of a nitrosyl iron complex with N,N'-dimethylthiourea ligands [Fe(SC(NHCH₃)₂)₂(NO)₂]BF₄ (complex 1) under aerobic conditions have been investigated. In the absorption spectra complex 1 in the presence of albumin a wide band at 370–410 nm appears, which indicates the coordination of the aerobic decay product of the complex in the hydrophobic pocket of the protein with Cys34 and His39. The quenching of albumin intrinsic fluorescence during titration with complex 1 was studied by fluorescence spectroscopy. The Stern-Vollmer constant $K = (2.3 \pm 0.2) \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$ and the Förster radius 22.4 Å were calculated. The UV-spectrum complex 1 in presence of GSH has two peaks at 312 and 363 nm, which respond glutathione binuclear NICs.

Keywords: nitrosyl iron complexes, NO donors, bovine serum albumin, glutathione, UV spectroscopy, fluorescence spectroscopy, TTDFT.

REFERENCES

1. Vanin A.F. // *Sorosov. Educ. J.* 2001. № 11. V. 7. P. 7.
2. Ignarro L.J. // *Circulation Research.* 2002. V. 90. № 1. P. 21.
3. Ghimire K., Altmann H.M., Straub A.C. et al. // *Amer. J. Physiol. Cell Physiol.* 2017. V. 312. P. 254.
4. Konstantinova T.S., Shevchenko T.F., Barskov I.V. et al. // *Russ. J. Phys. Chem.* 2021. V. 15. P. 119.
5. Needleman P., Johnson J.R. Eu. M. // *J. Pharm. Exp. Therap.* 1973. V. 184. P. 709.
6. Shurshina A.S., Galina A.P., Kulish E.I. // *Russ. J. Phys. Chem.* 2022. V. 16. P. 353.
7. Pectol D.C., Khan S., Chupik R.B. et al. // *Mol. Pharm.* 2019. V. 16. P. 3178.
8. Psikha B.L., Neshev N.I., Sokolova E.M. // *Russ. J. Phys. Chem.* 2020. V. 15. P. 571.
9. Saratovskikh E.A., Sanina N.A., Martinenko V.M. // *Russ. J. Phys. Chem.* V. 14. 2020. P. 138.
10. Chazov E.I., Rodnenkov O.V., Zorin A.V. et al. // *Nitr. Ox.* 2012. V. 26. P. 148.
11. Sanina N.A., Shmatko N.Y., Korchagin D.V. et al. // *J. Coord. Chem.* 2016. V. 69. P. 812.
12. Sanina N.A., Aldoshin S.M., Shmatko N.Y. et al. // *Inorg. Chem. Commun.* 2014. V. 49. P. 44.
13. Akentieva N.P., Sanina N.A., Prichodchenko T.R. et al. // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2019. V. 486. P. 238.
14. Gizatullin A.R., Akentieva N.P., Sanina N.A. et al. // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2018. V. 483. P. 337.
15. Mumyatova V.A., Kozub G.I., Kondrat'eva T.A. et al. // *Russ. Chem. Bull.* 2019. V. 68. P. 1025.
16. Shmatko N.Yu., Korchagin D.V., Shilov G.V. et al. // *Polyhedron.* 2017. V. 137.
17. Akent'eva N.P., Sanina N.A., Prihodchenko T.R. et al. // *Dokl. Acad. Sc.* 2019. V. 486. P. 742.
18. Lewandowska H., Kalinowska M., Brzoska K. et al. // *Dalt Trans.* 2011. V. 33. P. 8273.
19. Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Timoshin A.A. et al. // *Methods. Enzym.* 2008. V. 436. P. 445.
20. Otagiri M., Chuang V.T.G. / *Albumin in Medicine.* Singapore: Springer, 2016.
21. Peters J.T. // *All About Albumin.* 1st ed. N.Y.: Acad. Press, 1995.
22. Andre C., Guillaume Y.C. // *Talanta.* 2004. V. 63. P. 503.
23. Bal W., Sokołowska M., Kurowska E. et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2013. V. 1830. P. 5444.
24. Patel S.U., Sadler P.J., Tucker A. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1993. V. 115. P. 9285.
25. Scott B.J., Bradwell A.R. // *Clin. Chem.* 1983. V. 29. P. 629.
26. Boese M., Mordvintsev P.I., Vanin A.F. et al. // *Biol. Chem.* 1995. V. 270. P. 29244.
27. Townsend D.M., Tew K.D., Tapiero H. // *Biomed. Pharm.* 2003. V. 57. P. 145.
28. Kalinina E.V., Chernov N.N., Novichkov M.D. // *Suc. Biolog. Chem.* 2014. V. 54. P. 299.
29. Pokidova O.V., Emel'yanova N.S., Psikha B.L. et al. // *In. Chim. Acta.* 2020. V. 502. P. 119369.
30. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B., Scuseria G.E., Robb M.A., Cheeseman J.R., Scalmani G., Barone V., Mennucci B., Petersson G.A., Nakatsuji H., Caricato M., Li X., Hratchian H.P., Izmaylov A.F., Bloino J., Zheng G., Sonnenberg J.L., Hada M., Ehara M., Toyota K.,

- Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Montgomery J.A., Jr., Peralta J.E., Ogliaro F., Bearpark M., Heyd J.J., Brothers E., Kudin K.N., Staroverov V.N., Keith T., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A., Burant J.C., Iyengar S.S., Tomasi J., Cossi M., Rega N., Millam J.M., Klene M., Knox J.E., Cross J.B., Bakken V., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R.E., Yazyev O., Austin A.J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J.W., Martin R.L., Morokuma K., Zakrzewski V.G., Voth G.A., Salvador P., Dannenberg J.J., Dapprich S., Daniels A.D., Farkas O., Foresman J.B., Ortiz J.V., Cioslowski J., Fox D.J.* Gaussian 09. Rev. D.01. 2013.
31. *Banerjee A., Sen S., Paul A.* // Chem. A Europ. J. 2018. V. 24. P. 3330.
32. *Emel'yanova N.S., Gutsev L.G., Pokidova O.V. et al.* // In. Chim. Acta. 2021. V. 524. P. 120453.
33. *Emel'yanova N.S., Gucev L.G., Zagainova E.A. et al.* // Rus. Chem. Bull. 2022. V. 9. P. 1. ИЗВ. РАН. 2022. Т. 9. С. 1.
34. *Vanin A.F., Poltorakov A.P., Mikoyan V. D. et al.* // Nitr. Ох. 2010. V. 23. P. 136.
35. *Pokidova O.V., Emel'yanova N.S., Kormukhina A. Yu. et al.* // Dalt. Trans. 2022. V. 51. P. 6473.
36. *Pokidova O.V., Emel'yanova N.S., Psikha B.L. et al.* // J. Mol. Str. 2019. V. 1192. P. 264.
37. *Peterman B.F., Laidler K.J.* // Arch. Biochem. Biophys. 1980. V. 199. P. 158.
38. *Lakowicz J.R., Joseph R.* Principles of Fluorescence Spectroscopy. USA: Springer, 2006.
39. *Forster T.* // Ann. Phys. 1948. V. 437. P. 55.
40. *Chen Y., Barkley M.D.* // Biochem. 1998. V. 37. P. 9976.
41. *Mahammed A., Gray H. B., Weaver J. J. et al.* // Bioconj. Chem. 2004. V. 15. P. 738.
42. *Pokidova O.V., Luzhkov V.B., Emel'yanova N.S. et al.* // Dalt. Trans. 2020. V. 49. P. 2674.

УДК 577.1:544.35

ИЗУЧЕНИЕ ПОВЕДЕНИЯ МОЛЕКУЛ ДИОКСАДЭТА В ВОДЕ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

© 2024 г. Е. А. Якуш^{1, 2}, А. В. Ким^{1, 2}, Н. Н. Медведев^{1*}¹Институт химической кинетики и горения им В. В. Воеводского Сибирского отделения
Российской академии наук, Новосибирск, Россия²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*E-mail: nikmed@kinetics.nsc.ru

Поступила в редакцию 22.09.2022;
после доработки 12.10.2022;
принята в печать 20.10.2022

Методом молекулярной динамики моделируется поведение молекул диоксодэта в воде. Данное вещество обладает противораковыми свойствами и используется в клинической практике. Однако его свойства до сих пор не изучены на молекулярном уровне. В данной работе представлена первая попытка такого исследования. Проведена параметризация молекулы диоксодэта с применением различных доступных сервисов: ATB, SwissParam, а также AmberTools в стандартном виде и с использованием дополнительных квантовохимических расчетов. Проведено сравнение полученных моделей между собой. Рассчитано количество водородных связей молекулы с водой, проведен анализ гидратной воды. Показано, что молекулы диоксодэта в воде склонны к ассоциации. Все полученные модели демонстрируют сходные свойства, но количественные характеристики заметно различаются. Для выбора лучшей модели необходимы дальнейшие исследования. Файлы с топологией молекулы доступны для использования.

Ключевые слова: молекулярно-динамическое моделирование, диоксодэт, параметризация молекулы, водный раствор.

DOI: 10.31857/S0207401X24020084 EDN: WHLHBD

1. ВВЕДЕНИЕ

В конце 1980-х годов в НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова был предложен препарат, показавший высокую противораковую активность [1]. К настоящему времени он прошел доклиническое и клиническое исследование и разрешен для медицинского применения под названием “Диоксодэт”. Однако изучение препарата и его гомологов продолжается. Как и все противораковые вещества, он имеет побочные эффекты, ограничивающие дозу применения, хотя в сравнении с препаратами аналогичного спектра действия, такими как цисплатин, побочные эффекты диоксодэта меньше [2, 3].

Несмотря на многолетнюю работу с ДХТ, совершенно не изучены его свойства на молекулярном уровне. Чтобы молекулы препарата попали внутрь клетки, они должны проникнуть через ее мембрану. Однако механизм прохождения ДХТ сквозь мембрану неизвестен. Для других молекул этот вопрос подробно исследуется методами молекулярной динамики [4–8]. Разработаны методы для расчета пассивной диффузии лекарственных молекул через липидные бислои [5, 6], с исполь-

зованием которых рассчитана проницаемость призмигранта [7] и нифедипина [8].

С другой стороны, до сих пор неизвестно поведение молекул ДХТ в воде. Это касается доставки лекарственного препарата к мембране. С этой целью исследуются вопросы, связанные с растворимостью и ассоциацией, для чего также используется метод молекулярной динамики [9, 10].

Для молекулярно-динамического моделирования требуется задание межмолекулярных взаимодействий (поля сил) для моделируемого вещества. Для этого необходимо сконструировать трехмерную структуру моделируемой молекулы согласно типам атомов, установить их связи, задать ванн-дер-ваальсовские потенциалы, рассчитать частичные заряды на атомах для воссоздания правильного электростатического взаимодействия. Для многих молекул параметры взаимодействий найдены и апробированы в предыдущих исследованиях, и их можно найти в специализированных базах данных (библиотеках полей сил). Например, для моделирования органических жидкостей и растворов популярными являются поля

сил OPLS, GROMOS, CHARMM, Amber. Они достаточно универсальны, но охватить всего многообразия молекул невозможно. Поэтому разрабатываются специальные подходы, которые помогают параметризовать новые молекулы. Они базируются на использовании какого-либо известного поля сил, однако приходится проводить специальные расчеты для уточнения строения новой молекулы и нахождения распределенных на ее поверхности зарядов на молекуле.

Насколько нам известно, молекулярно-динамическое моделирование ДХТ до сих пор не проводилось. В данной работе представлена первая попытка такого моделирования. Для этого, прежде всего, мы проводим параметризацию молекулы ДХТ с помощью трех разных доступных сервисов: ATB (Automatic Topology Builder, поле сил GROMOS), SwissParam (поле сил CHARMM) и AmberTools (поле сил Amber). В последнем мы используем также свои квантовохимические расчеты.

2. МОДЕЛИ МОЛЕКУЛЫ ДИОКСАДЭТА

Трехмерная структура молекулы ДХТ, представленная на рис. 1 взята из базы данных PubChem [11]. Характерной чертой этой молекулы является наличие триазинового кольца, содержащего три атома азота. На нем присутствуют заряды, которые могут быть заметными по величине. По-видимому, эти заряды в значительной мере определяют основные черты поведения ДХТ в воде, его гидратную оболочку и ассоциацию. Заметим, что в молекуле имеются как гидрофобные участки, так и гидрофильные, поэтому, глядя на молекулу, трудно сразу сказать, какой тип взаимодействия у нее с водой.

Для параметризации молекулы ДХТ мы использовали три разных подхода, которые широко применяются в настоящее время.

Подход ATB (Automated force field Topology Builder) [12]. На вход сервису подается файл со структурой молекулы. С использованием метода HF/STO-3G устанавливается оптимальная геометрия и рассчитываются распределенные заряды на атомах с помощью метода Малликена. Для подготовки файла топологии молекулы берется поле сил GROMOS. Используемые здесь квантовохимические расчеты весьма приближенные, поэтому рекомендуется всегда проводить про-

верку, насколько полученная молекулярно-динамическая модель подходит для решаемой задачи. Соответствующую модель ДХТ мы называем АТВ.

Подход SwissParam [13]. На вход сервису также подается файл со структурой молекулы, однако принципиальная особенность данного метода в том, что здесь не проводятся квантовохимические расчеты. Вместо этого оптимальная геометрия и заряды подбираются из имеющейся базы данных, содержащей типичные фрагменты молекулы. Сконструированная таким образом молекула оптимизируется под заданные критерии, например, чтобы молекула была нейтральной. Преимущество этого сервиса заключается в малых временных затратах. Однако надежность его нельзя считать высокой; в частности, следует с осторожностью относиться, например, к распределению частичных зарядов по молекуле. Модель ДХТ, созданную с его помощью, мы называем SwissParam.

Подход AmberTools [14]. В данном сервисе атомы молекулы типизируются в поле сил Amber. Преимущество этого сервиса состоит в том, что методы и базисы для квантовохимического расчета могут выбираться самостоятельно. По умолчанию, для расчета электронной плотности и оптимальной геометрии молекулы используется метод Хартри–Фока (HF). Однако он обычно оказывается недостаточно точным, поэтому мы также использовали метод B3LYP — один из наиболее популярных для органических молекул. Таким образом, в данном сервисе мы создали две модели ДХТ, которые назвали AmberHF и AmberB3LYP соответственно. В обоих случаях использован один и тот же базис—6-31G*.

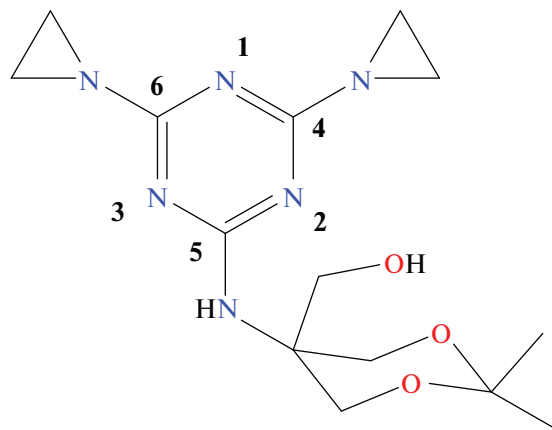


Рис. 1. Структура молекулы диоксадэта. Цифрами отмечены атомы, на которых концентрируются наибольшие частичные заряды.

Таблица 1. Заряды на атомах триазинового кольца DXT (нумерацию атомов см. на рис. 1)

Модель	N1	N2	N3	C4	C5	C6
AmberB3LYP	−0.733	−0.758	−0.758	0.833	0.927	0.833
AmberHF	−0.813	−0.846	−0.846	0.958	1.06	0.958
SwissParam	−0.62	−0.62	−0.62	0.72	0.72	0.72
ATB	−0.77	−0.579	−0.858	0.753	0.878	0.930

Итак, мы получили четыре модели DXT. Файлы топологии для них доступны на сайте: <https://doi.org/10.5281/zenodo.7251232>. Заряды на атомах триазинового кольца для всех моделей приведены в табл. 1. Прежде всего отметим их большие значения. Они больше, чем на соответствующих атомах в других частях молекулы. Это может говорить об особой роли триазинового кольца во взаимодействии DXT с окружающей водой и друг другом. Видно, что разные модели дают различные значения заряда для тех же атомов.

Отметим необычно большие заряды для модели AmberHF. Мы склонны считать, что они завышены из-за невысокой точности метода HF. Для модели SwissParam наблюдаются наименьшие заряды, равные между собой для всех атомов азота (атомы N1, N2, N3) и углерода (C4, C5, C6). Равенство зарядов кажется странным, так как данное кольцо не является полностью симметричным. Полученный результат, очевидно, связан с тем, что здесь не проводится квантовохимических расчетов, а используются готовые данные от фрагментов молекул. Имеющаяся симметрия молекулы проявляется в зарядах обеих моделей Amber. Действительно, атомы азота N2 и N3 можно считать эквивалентными, так же как атомы углерода C4 и C6 (см. рис. 1 и табл. 1). Однако эта симметрия молекулы не нашла отражения в модели ATB, в которой все атомы кольца заряжены по-разному. Это мы считаем важным на этапе расчета частичных зарядов на молекуле.

3. МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

Для всех созданных моделей молекул DXT проведено их молекулярно-динамическое моделирование в SPC-модели воды [15]. Использован пакет Gromacs 2021.6 [16]. После помещения молекулы в раствор сначала проводилась минимизация энергии системы, затем — релаксация в NVT-ансамбле с термостатом ν -rescale [17] и в NPT-ансамбле с термостатом Нозе—Хувера [18] в течение 2 нс.

После этого рассчитывалась равновесная траектория, соответствующая 100 нс. Температура и давление для всех моделей были взяты равными 310 К и 1 бар соответственно. Количество молекул воды составляло 2150 для растворов с одной молекулой DXT (ребро модельного куба равно 4 нм), 2950 и 2920 — для двух и трех молекул (ребро куба — 4.5 нм) и 3996 молекул для четырех молекул (ребро — 5 нм). При моделировании нескольких молекул они помещались на максимально далекое расстояние друг от друга.

4. РЕЗУЛЬТАТЫ

Энергия растворения

Энергетику взаимодействия растворенных молекул можно простейшим образом оценить, рассчитывая разность потенциальных энергий раствора и чистой воды:

$$\Delta H_{\text{DXT}} = \langle H_{\text{solution}} - \langle H_{\text{water}} \rangle \rangle.$$

На каждом шаге траектории рассчитывается разность между текущей энергией раствора, H_{solution} , и средним значением энергии того же количества воды без растворенных молекул, $\langle H_{\text{water}} \rangle$, и проводится усреднение по всей траектории. Такой расчет мы сделали для одной, двух и трех молекул в растворе. В табл. 2 показаны соответствующие значения для наших моделей DXT.

Заметим, что эта величина не является, строго говоря, энтальпией растворения. В рассчитанную энергию дает вклад также взаимодействие между молекулами DXT. Кроме того, каждая молекула DXT влияет на окружающую воду, которая может несколько иначе взаимодействовать с другой молекулой DXT.

Мы видим, что приведенные значения возрастают (с учетом большого разброса) пропорционально числу молекул для всех моделей. Однако мы хотим обратить внимание на различие между моделями. Видно, что для модели SwissParam значения положительны, т.е. выпадают из общего ряда. Можно сказать, что эта модель “проявляет

Таблица 2. Энергия растворения ΔH_{DXT} разного числа (одна, две, три) молекул DXT в воде (столбцы с номерами 1, 2, 3) для разных моделей DXT в единицах кДж/моль. Указанный разброс значений отражает стандартное отклонение при усреднении по траектории

Модель	1	2	3
AmberB3LYP	-1106 ± 454	-1929 ± 524	-3359 ± 400
AmberHF	-1538 ± 451	-2659 ± 531	-3991 ± 476
SwissParam	1064 ± 451	2228 ± 535	3709 ± 469
ATB	-642 ± 446	-1006 ± 399	-1358 ± 475

гидрофобные свойства”, в отличие от других моделей, что, по-видимому, есть следствие относительно малых зарядов на триазиновом кольце (табл. 1). Однако этот вопрос требует дополнительных исследований. Обратим также внимание, что модель AmberHF дает наибольшие по модулю отрицательные значения, что, очевидно, связано с наибольшими значениями зарядов на ее триазиновом кольце.

Водородные связи DXT

Вода может завязывать водородные связи с атомами азота и кислорода DXT, а также атомами водорода гидроксильной группы и амина ($-\text{NH}-$). Водородные связи определялись по стандартному критерию, используемому в пакете GROMACS (угол водород–донор–акцептор больше 30° и максимальная длина связи меньше 0.35 нм). Количество водородных связей на одну молекулу DXT, найденное усреднением по всей траектории, приведено ниже:

AmberB3LYP	AmberHF	SwissParam	ATB
5.5	6.3	6.3	6.0

Для всех моделей наблюдается примерно одинаковое количество водородных связей, т.е. по нему трудно делать выводы о преимуществе той или иной модели.

Мы также изучили водородные связи между молекулами DXT. Несмотря на то, что молекула содержит атомы, способные образовывать межмолекулярные водородные связи, оказалось, что они практически отсутствуют. За время, составляющее 20% от всего времени моделирования, удается наблюдать одну водородную связь между молекулами. В остальное время, несмотря на то, что молекулы могли находиться рядом, водородные связи отсутствовали. Это означает, что преимущественная взаимная ориентация молекул DXT в растворе не обеспечивает контактов между атомами, способными к образованию водородных связей.

Гидратная вода вокруг триазинового кольца

Анализ проводился для одиночной молекулы DXT, растворенной в воде. Рассчитывалась функция радиального распределения (ФРР) центров молекул воды относительно поверхности атомов триазинового кольца DXT (рис. 2) и изучена их ориентация с использованием подхода, описанного в работе [19].

Обратим внимание на ближайшие пики на рис. 2: первый при 0.1 нм и второй вблизи 0.2 нм, четко проявляющиеся для моделей AmberHF, AmberB3LYP и ATB. Дополнительный анализ показал, что самые близкие молекулы воды связаны водородной связью с атомами азота кольца, а второй пик образован молекулами воды, связанными водородной связью с молекулами первого пика подобно тому, как это показано на рис. 6 из работы [19]. Заметный пик при 4.5 нм соответствует молекулам воды, часть которых связана водородными связями с молекулами, образующими второй максимум. С увеличением рас-

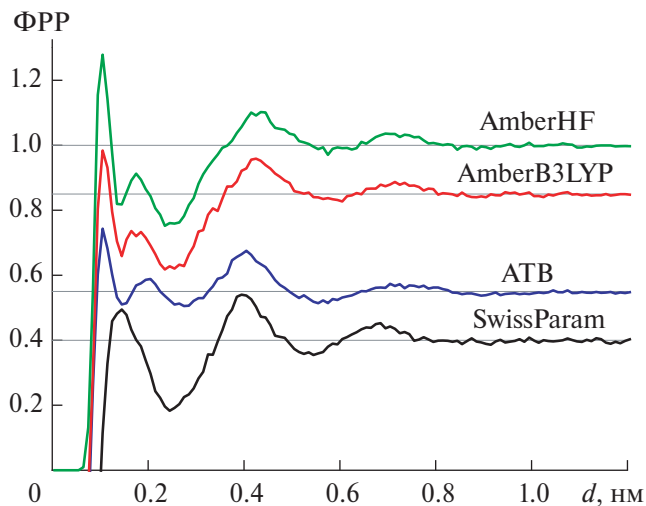


Рис. 2. Функция радиального распределения (ФРР) молекул воды относительно поверхностей ближайших атомов триазинового кольца DXT; ФРР всех моделей стремятся к единице на больших расстояниях, как для модели AmberHF. Кривые для AmberB3LYP, ATB и SwissParam смещены вниз для удобства их рассмотрения.

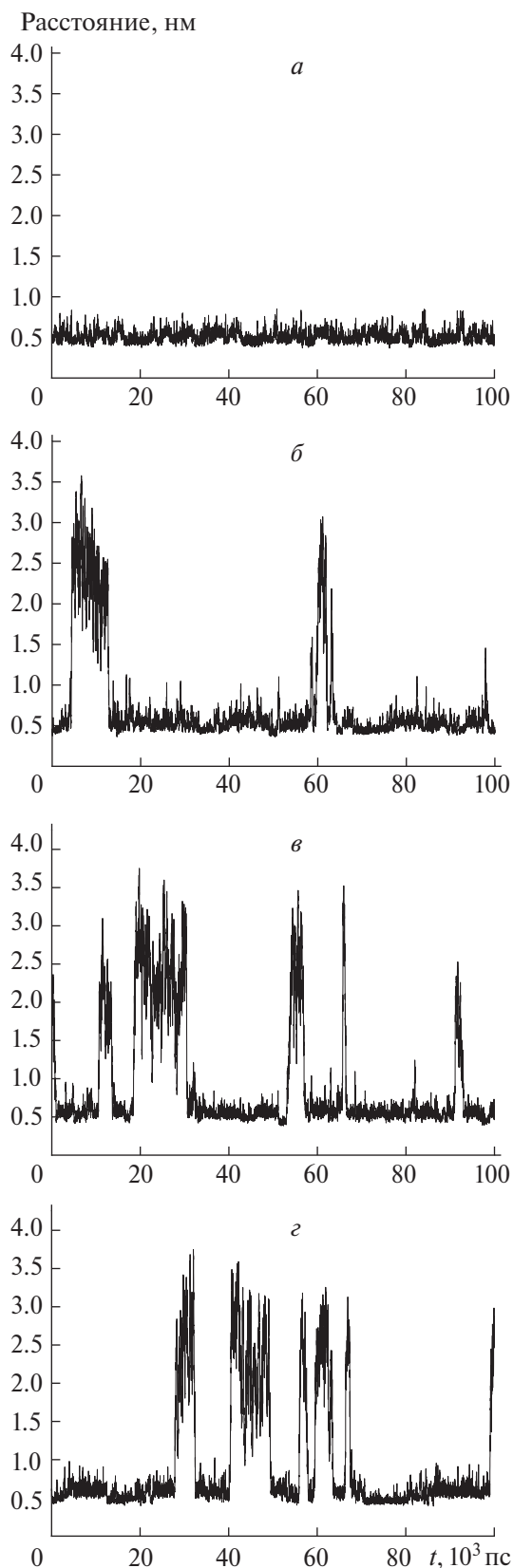


Рис. 3. Зависимости расстояния между центрами масс двух молекул DXT от времени для разных моделей: *a* — ATB, *б* — Amber B3LYP, *в* — Amber HF, *з* — SwissParam.

стояния, ФРП для этих моделей неплохо совпадают. Это понятно, поскольку влияние особенностей разных моделей молекул DXT на далекую воду уменьшается. Модели AmberB3LYP и AmberHF имеют практически совпадающие функции радиального распределения. Некоторые различия для модели ATB проявляются в меньшей интенсивности первых пиков и небольшом сдвиге второго максимума в сторону больших расстояний, что можно связать с тем фактом, что все заряды на кольце в этой модели, в отличие от первых двух, различны (табл. 1). Для модели SwissParam вместо двух первых пиков наблюдается один общий пик при 0.15 нм. Это обусловлено, по-видимому, меньшими зарядами на кольце (табл. 1), что приводит к ослаблению водородных связей воды с DXT.

Отметим, что неплохое совпадение функций радиального распределения для моделей, имеющих заметные различия в электростатическом взаимодействии, не является удивительным. Как отмечается в литературе, структура плотных систем (жидкостей) в значительной мере определяется непроницаемостью атомов (отталкиванием), а не притягательной частью взаимодействия, включая электростатику (см. работу [20] и ссылки в ней).

Ассоциаты

Две и более молекул DXT в воде склонны подходить друг к другу и находиться рядом в течение достаточно долгого времени. Для количественного описания такого поведения мы следили за изменением расстояния между центрами масс пары молекул со временем. На рис. 3 показана динамика относительного движения двух молекул DXT. Изначально мы помещали молекулы на большом расстоянии друг от друга. Однако уже за время релаксации они обычно сближаются, а сблизившись, остаются вместе, о чем говорит расстояние между ними, равное примерно 0.5 нм. Из рис. 3а видно, что молекулы из модели ATB в течение всего времени моделирования (100 нс), находились рядом. Однако на рис. 3б–3г видны резкие выбросы, указывающие на то, что молекулы уходили друг от друга на большие расстояния. Однако основную часть времени молекулы находятся рядом, в первую очередь это относится к модели AmberB3LYP (рис. 3б).

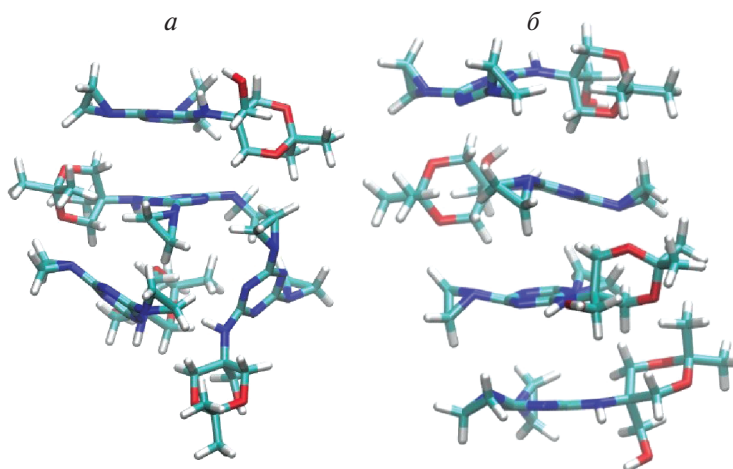


Рис. 4. Скриншоты, демонстрирующие агрегаты из четырех молекул DXT в воде (молекулы воды не показаны), возникающие в модели АТВ.

Как было отмечено выше, водородные связи между молекулами DXT практически не образуются, т.е. ассоциация в данном случае полностью определяется электростатическим взаимодействием. Мы заметили, что пара близких молекул DXT часто располагается так, чтобы их триазиновые кольца были параллельны. В случае ассоциатов из трех и четырех молекул обычно присутствует хотя бы одна такая пара. Более того, эта тенденция иногда приводит к образованию стопок из трех и четырех молекул. На рис. 4 показаны кластеры из четырех молекул DXT, взятые из молекулярно-динамической траектории. Как привило, возникает бесформенный ассоциат (рис. 4а), однако иногда можно видеть хорошо сформированные стопки (рис. 4б). Приведенный структурный анализ показан на примере модели АТВ. Однако для других моделей наблюдается похожий вид ассоциатов.

5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе проведена параметризация молекулы диоксадэты для полноатомного классического молекулярно-динамического моделирования. Для этого использованы различные доступные сервисы: АТВ, SwissParam, а также AmberTools, в стандартном виде и с использованием дополнительных квантовохимических расчетов. Проведено моделирование молекулы диоксадэты в воде и сравнение результатов для разных моделей между собой. Несмотря на то, что полученные частичные заряды на триазиновом кольце молекулы и энергии растворения заметно различаются для разных моделей, структурные свойства качественно со-

впадают, что видно по схожему поведению ФРП гидратной воды вблизи триазинового кольца. Дополнительно проведено моделирование двух, трех и четырех молекул в воде. Показано, что молекулы диоксадэты в воде склонны образовывать лабильные ассоциаты, среди которых иногда встречаются стопки молекул. Все модели демонстрируют сходные свойства. Для выбора лучшей модели молекулы диоксадэты необходимы дальнейшие исследования. Файлы с топологией молекулы доступны для использования на сайте <https://doi.org/10.5281/zenodo.7251232>.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Bespalov V.G., Kireeva G.S., Belyaeva O.A. et al.* // J. Chemotherapy. 2016. V. 28. № 3. P. 203; <https://doi.org/10.1179/1973947815Y.0000000040>
2. *Gershanovich M.L., Filov V.A., Kotova D.G. et al.* // Vopr. Onkol. 1998. V. 44. №. 2. P. 216;
3. *Zhikhoreva A.A., Belashov A.V., Bespalov V.G. et al.* // Biomed. Opt. Express. 2018. V. 9. №. 11. P. 5817; <https://doi.org/10.1364/BOE.9.005817>
4. *Fábíán B., Segá M., Voloshin V.P., Medvedev N.N., Jedlovský P.* // J. Phys. Chem. B. 2017. V. 121. №. 13. P. 2814; <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b00990>
5. *Hummer G.* // New J. Phys. 2005. V. 7. №. 1. P. 34; <https://doi.org/10.1088/1367-2630/7/1/034>
6. *Torrie G.M., Valleau J.P.* // J. Comput. Phys. 1977. V. 23. №. 2. P. 187; [https://doi.org/10.1016/0021-9991\(77\)90121-8](https://doi.org/10.1016/0021-9991(77)90121-8)
7. *Kim A.V., Shelepova E.A., Selyutina O.Y. et al.* // Mol. Pharm. 2019. V. 16. №. 7. P. 3188; <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b00390>
8. *Kim A.V., Shelepova E.A., Evseenko V.I. et al.* // J. Mol. Liq. 2021. V. 344. P. 117759; <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.117759>

9. Зеликман В.А., Ким А.В., Медведев Н.Н. // Журн. структ. хим. 2016, Т. 57, №5, С. 978;
<https://doi.org/10.15372/JSC20160513>
10. Зеликман М.В., Ким А.В., Медведев Н.Н., Селютина О.В., Поляков Н.Э. // ЖСХ. 2015. Т. 56. № 1. С. 73; <http://doi.org/10.1134/S0022476615010102>
11. PubChem <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dioxadet>
12. Malde A.K., Zuo L., Breeze M. et al. // J. Chem. Theory Comput. 2011. V. 7. № 12, P. 4026;
<https://doi.org/10.1021/ct200196m>
13. Zoete V., Cuendet M.A., Grosdidier A., Michielin O. // J. Comput. Chem. 2011. V. 32. № 11. P. 2359;
<https://doi.org/10.1002/jcc.21816>
14. Case D.A., Cheatham III T.E., Darden T. et al. // Ibid. 2005. V. 26. №. 16. P. 1668;
<https://doi.org/10.1002/jcc.20290>
15. Berendsen H.J.C., Postma J.P., van Gunsteren W.F., Hermans J. // Dordrecht: Springer, 1981. P. 331;
https://doi.org/10.1007/978-94-015-7658-1_21
16. Abraham M.J., Murtola T., Schulz R. et al. // SoftwareX. 2015. V. 1. P. 19;
<https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001>
17. Bussi G., Donadio D., Parrinello M. // J. Chem. Phys. 2007. V. 126. № 1. P. 014101;
<https://doi.org/10.1063/1.2408420>
18. Nosé S. // J. Chem. Phys. 1984. V. 81. №. 1. P. 511;
<https://doi.org/10.1063/1.447334>
19. Волошин В.П., Медведев Н.Н. // ЖСХ. 2021. Т. 62. № 5. С. 745;
https://doi.org/10.26902/JSC_id72868
20. Shelepova E.A., Ludwig R., Paschek D., Medvedev N.N. // J. Mol. Liq. 2021. V. 329. P. 115589;
<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.115589>

INVESTIGATION OF THE BEHAVIOR OF DIOXADET MOLECULES IN WATER BY MOLECULAR DYNAMICS SIMULATION

E. A. Yakush^{1,2}, A. V. Kim^{1,2}, N. N. Medvedev¹

¹*Voevodsky Institute of Chemical Kinetics and Combustion
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

²*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

*E-mail: nikmed@kinetics.nsc.ru

The behaviour of dioxadet molecules in water is studied by the molecular dynamics simulation. This substance has anti-cancer properties and is used in clinical practice. However, its properties have not yet studied at the molecular level. This paper presents the first attempt of such investigation. Parametrization of dioxadet molecule was carried out using different available services: ATB, SwissParam as well as AmberTools in a standard form and with the use of additional quantum-chemical calculations. The obtained models are compared with each other. The number of hydrogen bonds of the molecule with water was calculated, the analysis of hydrated water was carried out. It was shown that the dioxadet molecules in water tend to associate. All the models obtained show similar properties, but the quantitative characteristics differ noticeably. Further research is needed to select the best model. Molecule topology files are available for use.

Keywords: molecular dynamic simulation, dioxadet, molecular parametrization, aqueous solution.

REFERENCES

1. *Bespalov V.G., Kireeva G.S., Belyaeva O.A. et al. // J. Chemotherapy. 2016. V. 28. № 3. P. 203;*
<https://doi.org/10.1179/1973947815Y.0000000040>
2. *Gershanovich M.L., Filov V.A., Kotova D.G. et al. // Vopr. Onkol. 1998. V. 44. №. 2. P. 216;*
3. *Zhikhoreva A.A., Belashov A.V., Bespalov V.G. et al. // Biomed. Opt. Express. 2018. V. 9. №. 11. P. 5817;*
<https://doi.org/10.1364/BOE.9.005817>
4. *Fabian B., Sega M., Voloshin V.P., Medvedev N.N., Jedlowsky P. // J. Phys. Chem. B. 2017. V. 121. №. 13. P. 2814; https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b00990*
5. *Hummer G. // New J. Phys. 2005. V. 7. №. 1. P. 34;*
<https://doi.org/10.1088/1367-2630/7/1/034>
6. *Torrie G.M., Valleau J.P. // J. Comput. Phys. 1977. V. 23. №. 2. P. 187;*
[https://doi.org/10.1016/0021-9991\(77\)90121-8](https://doi.org/10.1016/0021-9991(77)90121-8)
7. *Kim A.V., Shelepova E.A., Selyutina O.Y. et al. // Mol. Pharm. 2019. V. 16. №. 7. P. 3188;*
<https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b00390>
8. *Kim A.V., Shelepova E.A., Evseenko V.I. et al. // J. Mol. Liq. 2021. V. 344. P. 117759;*
<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.117759>
9. *Zelikman M.V., Kim A.V., Medvedev N.N. // J. Struct. Chem. 2016. V. 57. № 5. P. 940–946.*
<https://doi.org/10.1134/S0022476616050139>
10. *Zelikman M.V., Kim A.V., Medvedev N.N., Selyutina O.Y., Polyakov N.E. // J. Struct. Chem. 2015. V. 56. № 1. P. 67–76.*
<https://doi.org/10.1134/S0022476615010102>
11. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dioxadet>
12. *Malde A.K., Zuo L., Breeze M. et al. // J. Chem. Theory Comput. 2011. V. 7. № 12, P. 4026;*
<https://doi.org/10.1021/ct200196m>
13. *Zoete V., Cuendet M.A., Grosdidier A., Michielin O. // J. Comput. Chem. 2011. V. 32. № 11. P. 2359;*
<https://doi.org/10.1002/jcc.21816>
14. *Case D.A., Cheatham III T.E., Darden T. et al. // Ibid. 2005. V. 26. №. 16. P. 1668;*
<https://doi.org/10.1002/jcc.20290>
15. *Berendsen H.J.C., Postma J.P., van Gunsteren W.F., Hermans J. // Dordrecht: Springer, 1981. P. 331;*
https://doi.org/10.1007/978-94-015-7658-1_21
16. *Abraham M.J., Murtola T., Schulz R. et al. // SoftwareX. 2015. V. 1. P. 19;*
<https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001>
17. *Bussi G., Donadio D., Parrinello M. // J. Chem. Phys. 2007. V. 126. № 1. P. 014101;*
<https://doi.org/10.1063/1.2408420>
18. *Nosé S. // J. Chem. Phys. 1984. V. 81. №. 1. P. 511;*
<https://doi.org/10.1063/1.447334>
19. *Voloshin V.P., Medvedev N.N. // J. Struct. Chem. 2021. V. 62. № 5. P. 692–703.*
<https://doi.org/10.1134/S002247662105005X>
20. *Shelepova E.A., Ludwig R., Paschek D., Medvedev N.N. // J. Mol. Liq. 2021. V. 329. P. 115589;*
<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.115589>

УДК 543.64

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ТЕРМИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ НА ИЗМЕНЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И АНТИБАКТЕРИАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ПЧЕЛИНОГО МЕДА

© 2024 г. Д. В. Грузнов^{1*}, О. А. Грузнова², А. В. Лобанов^{2, 3, 4},
А. Б. Сохликов¹, Г. Ш. Щербакова¹, С. П. Степанова¹, Н. И. Попов¹

¹Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии — филиал ФГБНУ Федеральный научный центр Всероссийский институт экспериментальной ветеринарии Российской академии наук, Москва, Россия

²Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук, Москва, Россия

³Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия

⁴Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова, Москва, Россия

*E-mail: 79164422245@yandex.ru

Поступила в редакцию 20.03.2023;
после доработки 29.05.2023;
принята в печать 20.06.2023

Проведен сравнительный анализ химического состава и антибактериальной активности верескового меда (*Calluna vulgaris*), подвергнутого термообработке при 35–40 °С в течение 12 ч. Выявлен диапазон температур (38–40 °С), при котором наблюдается снижение в меде концентрации H₂O₂, уменьшение активности D-глюкозо-1-оксидазы и увеличение содержания 5-гидроксиметилфурфуrolа. Степень химических изменений была прямо пропорциональна температуре и времени термического воздействия. Установлена корреляция между изменениями химического состава и антибактериальной активностью меда в отношении тест-микроорганизмов *Escherichia coli* (штамм 1257), *Staphylococcus aureus* (штамм 209-P) и *Bacillus cereus* (штамм 96). Полученные результаты показали, что нагрев меда до 37 °С даже в течение 12 ч не вызывал нежелательных изменений его химического состава и снижения антибактериальной активности. Таким образом, данный режим можно считать более щадящим и рекомендовать его для использования при проведении термообработки этого пищевого продукта.

Ключевые слова: термическая обработка, пероксид водорода, 5-гидроксиметилфурфуrol, ферменты, сахара, инактивация, антибактериальная активность, пчелиный мед.

DOI: 10.31857/S0207401X24020099 EDN: WHJYDF

ВВЕДЕНИЕ

Пчелиный мед представляет собой сложную биологическую систему, содержащую в своем составе более 180 различных соединений [1]. Условно их объединяют в следующие группы: водная часть, сахара и неуглеводная фракция. Более 60% от общего содержания сахаров составляют моносахариды—глюкоза и фруктоза (α - и β -изомеры). К так называемой неуглеводной фракции относят ферменты, аминокислоты, органические и неорганические кислоты, зольные элементы, водорастворимые витамины, растительные пигменты и липиды [2–7].

На протяжении многих лет считалось, что из всех вышеперечисленных компонентов биологическую активность меда в основном обуславливают сахара, кислоты и ферменты. Однако в 1962 г.

J.W. White с соавт. в результате проведенного ряда экспериментов по изучению ингибирующего действия на грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы доказали, что аналогичным свойством обладает также пероксид водорода. Для этой цели ими был разработан колориметрический метод, основанный на изменении цвета в результате действия 3,3'-диметоксибензидина, H₂O₂ и пероксидазы [8–10]. Следует отметить, что за прошедшее время данный подход претерпел многочисленные модификации и продолжает широко применяться исследователями при физико-химическом анализе меда [11–13].

Пероксид водорода в меде образуется под воздействием фермента D-глюкозо-1-оксидазы в результате двухстадийной окислительно-восстановительной реакции [14]. Окислительно-восста-

новительная активность D-глюкозо-1-оксидазы обуславливается коферментом флавинаденидинуклеотидом (ФАД). В первой, восстановительной полуреакции D-глюкозо-1-оксидаза катализирует окисление β -D-глюкозы путем переноса двух электронов и протона от первой гидроксильной группы β -D-глюкозы на кофактор ФАД с сопутствующим окислением глюкозы до глюконо-1,5-лактона. Далее глюконо-1,5-лактон гидролизует до глюконовой кислоты. Во второй, окислительной полуреакции восстановленный кофермент ФАДН₂ повторно окисляется молекулярным кислородом. Кислород принимает два электрона, переданных от ФАДН₂, регенерируя каталитическую систему с сопутствующим образованием H₂O₂, который впоследствии гидролизует до воды и кислорода металлосодержащим ферментом — каталазой. Каталазный каталитический цикл включает участие двух молекул: H₂O₂ и Fe^{III}. На первом этапе H₂O₂ служит окислителем, окисляя Fe^{III} до промежуточного оксиферрилла Fe^{IV}O. Одноэлектронный перенос от Fe^{III} к первой молекуле H₂O₂ разрывает связь O—O в молекулах и восстанавливает ее до воды и кислорода. Во второй части реакции восстановителем выступает вторая молекула H₂O₂. Двухэлектронное восстановление промежуточного оксиферрилла Fe^{IV}O H₂O₂ регенерирует исходную феррикаталазу, образуя одновременно кислород и другую молекулу воды [15, 16]. Кроме каталазы на уровень H₂O₂ влияют такие факторы, как коллоидное состояние меда, воздействие пероксидаз, тиолсодержащих пероксиредоксинов, аскорбиновой кислоты, УФ-излучения, а также низких и высоких температур [1, 16–18].

В меде, подвергнутом термической обработке, в результате дегидратации фруктозы и глюкозы образуется 5-гидроксиметилфурфурол (5-ГМФ). Считается, что 5-ГМФ обладает мутагенным действием, поэтому контроль за его содержанием крайне важен [19, 20].

Ранее нами была продемонстрирована корреляция между содержаниями H₂O₂ и 5-ГМФ в некоторых видах пчелиного меда при нагревании [21, 22]. Цель настоящей работы заключалась в сравнительном анализе изменения химического состава меда под воздействием температур от 35 до 40 °C и влияния этого процесса на бактерицидную активность меда. Полученные результаты могут быть использованы в качестве дополнитель-

ных рекомендаций при проведении контроля качества меда.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе были использованы образцы натурального пчелиного верескового меда, поступивших из регионов европейской части России и Республики Беларусь. Пробы отбирали и хранили согласно нормативной документации (НД), согласно ГОСТ 19792-2017 [23].

Монофлерность образцов меда подтверждали с помощью микроскопического анализа палинологического состава в соответствии с НД (ГОСТ 31769-2012) [24]. Световую микроскопию образцов меда проводили с использованием бинокулярного микроскопа EUM-5000 (КНР) при увеличении $\times 400$.

Частоту встречаемости пыльцевых зерен, X_p , рассчитывали по формуле

$$X_p (\%) = G \cdot 100n^{-1},$$

где $G = \sum G_i$ — число пыльцевых зерен вереска во всех счетных полях, $n = \sum n_i$ — общее количество подсчитанных пыльцевых зерен во всех счетных полях, 100 — коэффициент пересчета относительных долей в проценты.

Фотографическое изображение пыльцевых зерен получали с помощью цифровой камеры M1000 PLUS производства компании Levenhuk (USA).

Содержание H₂O₂ в меде определяли с помощью ранее адаптированного и модифицированного нами спектрально-иодометрического метода, суть которого заключается в том, что при взаимодействии иодида калия с H₂O₂ в кислой среде выделяется молекулярный иод в форме комплексного аниона I_3^- и регистрируемый методом электронной абсорбционной спектроскопии [25]. Электронные спектры поглощения регистрировали с помощью спектрофотометра ПЭ5400УФ производства компании Экросхим (Россия)) в диапазоне длин волн $\lambda = 250$ –500 нм.

Концентрацию H₂O₂ рассчитывали по формуле

$$C = R(D - D_0)/\varepsilon,$$

где D — оптическая плотность аналитического раствора ($\lambda = 351$ нм); D_0 — оптическая плотность контрольного раствора (дистиллированная вода); R — коэффициент, учитывающий разбавление;

ε — коэффициент молярной экстинкции I_3 ($\varepsilon_{351} = 26\,400 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$).

Содержание сахарозы, глюкозы и фруктозы определяли с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в соответствии с НД (ГОСТ 32167-2013) [26]. Анализ проводился с использованием хроматографа компании Shimadzu (Japan) серии LC-20 Prominence, колонки Eclipse XDB-C18 (250 мм $\times$ 4.6 мм $\times$ 5 мкм) производства компании Agilent (USA) в изократическом режиме при скорости потока 1.3 мл/мин. Подвижная фаза представляла собой смесь ацетонитрила и деионизированной воды в объемном соотношении 4:1. Были использованы аналитические стандартные образцы сахарозы, глюкозы и фруктозы — все производства компании Merck (USA) чистотой $\geq 99.5\%$.

Массовую долю сахаров рассчитывали по формуле

$$X = 100 A_1 V_1 m_2 A_2^{-1} V_2^{-1} m_1^{-1},$$

где A_1 — площадь или высота пика сахаров в растворе меда (м^2); V_1 — общий объем раствора меда (мл); m_2 — масса сахара, содержащаяся в общем объеме стандартного раствора (г); A_2 — площадь или высота пика соответствующего сахара в стандартном растворе (м^2); V_2 — общий объем стандартного раствора (мл); m_1 — проба меда (г).

Содержание 5-ГМФ определяли с помощью метода обращеннофазовой ВЭЖХ в соответствии с НД (ГОСТ 31768-2012) [27]. Анализ проводили с использованием хроматографа LC-20 Prominence (Shimadzu, Japan) колонки Eclipse XDB-C18 (150 мм $\times$ 4.6 мм $\times$ 5 мкм) в градиентном режиме при скорости потока 1.0 мл/мин. Был использован коммерческий 5-ГМФ с содержанием основного вещества не $< 99\%$ производства компании Sigma-Aldrich (USA), из которого приготавливали стандартные растворы с концентрациями 100, 50, 30, 20, 10, 5 и 2.0 мкг/мл для построения калибровочной кривой.

Определение точной массовой концентрации 5-ГМФ проводили с помощью спектрофотометра ПЭ5400УФ (Экротех, Россия) на длине волны $\lambda = 285 \text{ нм}$. В качестве раствора сравнения использовали деионизированную воду.

Количество 5-ГМФ в образцах меда (мг/кг) рассчитывали на основе заранее построенной калибровочной кривой по формуле

$$M_{5\text{-ГМФ}} = C_{5\text{-ГМФ}} V_{\text{обр}} / m_{\text{м}},$$

где $C_{5\text{-ГМФ}}$ — концентрация 5-ГМФ, определенная по калибровочному графику (мкг/мл); $V_{\text{обр}}$ — объем анализируемой пробы (мл); $m_{\text{м}}$ — масса анализируемой пробы меда (г).

Определение активности каталазы осуществляли в соответствии с методикой, разработанной А.В. Аганиным [28], согласно которой активность выражали в мм^3 кислорода, выделяющегося при воздействии каталазы, содержащейся в 1 г меда, на 10 мл 1%-ного (по массе) раствора H_2O_2 в течение 24 ч. Для проведения данного анализа была использована коммерческая каталаза производства компании Sigma-Aldrich (USA) чистотой $\geq 90\%$, содержащая $\geq 30\,000$ ед./мг белка.

Активность диастазы определяли согласно ГОСТ 34232-2017 [29] колориметрическим методом и выражали количеством см^3 1%-ного (по массе) раствора крахмала, расщепляемым за 1 ч амилолитическими ферментами, содержащимися в 1 г безводного вещества меда. Значение диастазной активности (ед. Готе) вычисляли по формуле

$$X = 100 \cdot 80 (D_{\text{к}} - D_{\text{исп}}) D_{\text{к}}^{-1} (100 - W)^{-1},$$

где 80 — коэффициент пересчета, $D_{\text{к}}$ — оптическая плотность контрольного раствора, $D_{\text{исп}}$ — оптическая плотность испытуемого раствора, W — массовая доля воды в меде (%).

Активность D-глюкозо-1-оксидазы определяли по методу, описанному в работе I. Flanjak с соавт. [30]. Сущность данного метода заключается в том, что H_2O_2 восстанавливается до воды пероксидазой с использованием 3,3'-диметоксибензидина в качестве субстрата. Образовавшийся окрашенный продукт детектировался спектрофотометрически и имел максимальное поглощение при длине волны $\lambda = 400 \text{ нм}$. Количественное определение проводили с использованием в качестве стандарта H_2O_2 (10–100 мкмоль/л) производства Fluka, (Germany). Результаты выражали в мкг H_2O_2 /ч на 1 г меда.

Антибактериальную активность исследуемых образцов меда определяли с использованием метода диффузии в агар с микроорганизмами суточных тест-культур. В качестве тест-микроорганизмов брали бактерии *Escherichia coli* (штамм 1257), *Staphylococcus aureus* (штамм 209-P) и *Bacillus cereus* (штамм 96). Из смыва каждой культуры готовили суспензию с количеством микробных клеток

в 1 мл, равным 10^4 (количество устанавливалось по стандарту мутности), и высевали ее в предварительно подготовленные стерильные чашки Петри с мясо-пептонным агаром с лункой в центре (6 чашек на каждую пару микроорганизм-образец меда). В эти чашки помещали образцы меда весом (0.1 ± 0.01) г как подвергнутые тепловой обработке в термостате при различных температурах ($35\text{--}40^\circ\text{C}$) в течение 3 ч (для обработки (5.0 ± 0.01) г меда помещали в стерильные пенициллиновые флаконы и выдерживали в термостате указанное время), так и не подвергавшиеся температурному воздействию. Посевы инкубировались в течение 24 ч при температуре 37°C . Учет результатов проводился по диаметру зоны задержки роста вокруг образца меда. В качестве контроля использовались чашки Петри, в которые не вносился образец меда.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспече-

ния MS Excel. Достоверность различия средних величин устанавливали с помощью *t*-критерия Стьюдента при уровне значимости $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что вереск (Вереск обыкновенный, *Calluna vulgaris*) — один из самых распространенных медоносов России, стран СНГ и Европы. Так, например, на территории Республики Беларусь расположено около 800 тыс. га массива. Вересковый мед обладает высокими потребительскими и целебными свойствами [31–34].

Результаты палинологического анализа пыльцевых зерен в исследуемых пробах подтвердили их происхождение: основной минимум пыльцы вереска составил $82 \pm 2\%$. На рис. 1 приведена фотография пыльцевого зерна ($\times 400$).

Как видно, зерно находится в тетраэдрических и перекрестных тетрадах с округло-трехлопастным очертанием. Данное описание полностью совпа-

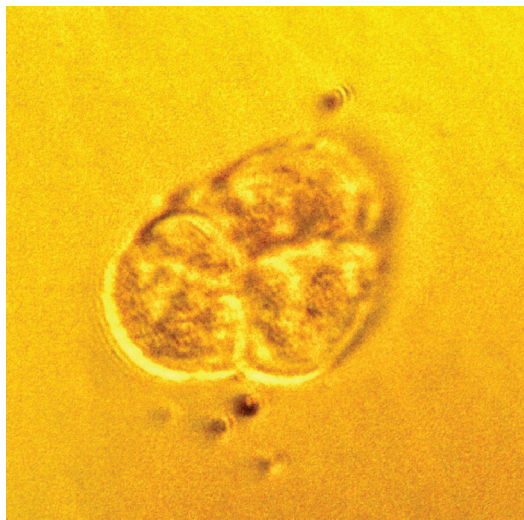


Рис. 1. Фотографическое изображение пыльцевого зерна Вереска обыкновенного — *Calluna vulgaris* ($\times 400$).

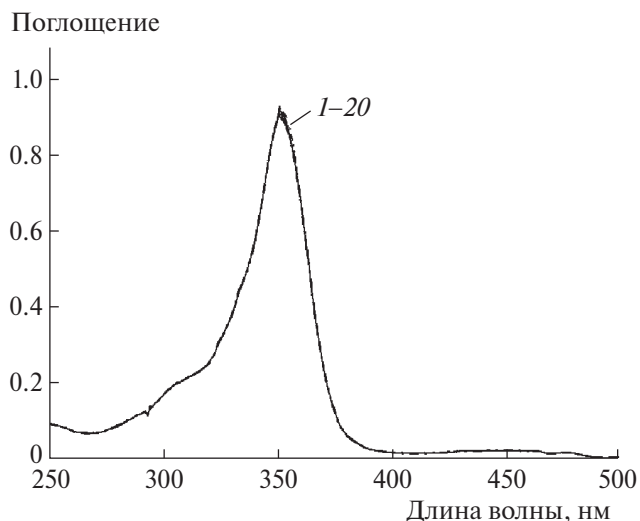


Рис. 2. Электронные спектры поглощения комплексного аниона I_3^- ($\lambda_{\max} = 351$ нм) в образцах верескового меда 1–20.

Таблица 1. Анализ состава образцов верескового меда

Контролируемый параметр	Регламентируемая НД норма	Среднее значение в тестируемых образцах
Глюкоза, %	Суммарная массовая доля, не менее 60.0	36.1 ± 2.3
Фруктоза, %		38.5 ± 1.5
Сахароза, %	Не более 5.0	2.18 ± 0.5
5-ГМФ, мг/кг	Не более 25.0	1.92 ± 0.45
Диастаза, ед. Готе	Не менее 8.0	40.1 ± 2.1
Каталаза, мм ³ O ₂	Не регламентировано	490 ± 27.4
Д-глюкозо-1-оксидаза, мкг H ₂ O ₂ /ч на 1 г меда	Не регламентировано	345.2 ± 15.4

дает с приведенным в литературных источниках [31, 32].

Для определения концентрации H_2O_2 в образцах меда был использован спектрально-иодометрический метод, примененный нами ранее для аналогичной цели при анализе меда различного ботанического происхождения [35]. На рис. 2 представлены электронные спектры регистрации комплексного аниона I_3^- в образцах для последующего расчета концентрации H_2O_2 . Можно видеть, что электронные спектры всех образцов после иодометрической процедуры были идентичны, характеризовались поглощением в УФ-области, максимум поглощения (λ_{max}) соответствовал 351 нм. В результате обработки полученных результатов по указанной выше формуле было установлено, что концентрация H_2O_2 в исследуемых образцах составила (137.4 ± 4.8) мкмоль/л.

В табл. 1 представлены результаты определения содержания в исследуемых образцах сахаров и 5-ГМФ, а также ферментативной активности. Как видно из данных таблицы, все показатели, регламентируемые НД, находились в установленных пределах. Определение активности каталазы и D-глюкозо-1-оксидазы на данный момент не регулируется законодательством РФ. Однако существуют литературные источники, в которых приведены как методики их определения, так и данные, демонстрирующие успешность их применения при проведении анализа химического состава меда [28, 30].

Известно, что натуральный мед сохраняет свои ценные биологические свойства на протяжении достаточно длительного периода времени (более 1 года), но только при условии правильного хранения (согласно НД — вдали от прямых солнечных лучей, при температуре не более 20 °C). Установленные режимы в основном объясняются тем, что мед в своем составе содержит ферменты, которые являются термолабильными соединениями. Поэтому воздействие на мед высоких температур приводит к их инактивации [36]. К нагреванию при 60 °C прибегают, как правило, для смешивания нескольких разных видов меда или для подавления процессов брожения, которые могут возникнуть при нарушении условий хранения меда. Следует отметить, что обе описанные манипуляции запрещены законодательством и считаются нарушениями. Согласно НД, максималь-

ный температурный порог нагревания меда, при котором он сохраняет свои биологические свойства и химический состав в неизменном виде, составляет 40 °C [23].

В результате ранее проведенных нами исследований было установлено, что при температурах 20–34 °C существенных изменений в химическом составе меда разного ботанического происхождения (в том числе и верескового) не наблюдается: колебания значений физико-химических показателей не превышали 1.0% при воздействии указанных температур в течение 12 ч. В данной работе описаны изменения, произошедшие с химическим составом верескового меда в результате воздействия температур в диапазоне от 35 до 40 °C в различные периоды времени термообработки. Полученные данные представлены в виде кинетических кривых (рис. 3), из которых видно, что значительные изменения произошли с такими параметрами, как концентрация H_2O_2 , содержание 5-ГМФ и активность D-глюкозо-1-оксидазы.

Так, при обработке образцов меда в течение 3 ч при 38 °C наблюдалось снижение концентрации H_2O_2 на 18.1%, при 39 °C — на 28.2%, при 40 °C — на 34.7%. После 12-часовой термообработки этот показатель снизился на 81.5, 84.2 и 93.0% соответственно. Постепенное повышение содержания 5-ГМФ отмечалось после 3-часового воздействия при 40 °C, через 12 ч его уровень в образцах повысился на 66.2%, что тем не менее не превысило регламентируемую НД предельно допустимую концентрацию (ПДК) в 25.0 мг/кг. Активность D-глюкозо-1-оксидазы в результате воздействия температур 39 и 40 °C в течение 12 ч снизилась на 5.2 и 7.8% соответственно. Первые изменения этого параметра регистрировались через 3 ч после термической обработки при 38 °C. Следует отметить, что изменение активности диастазы и каталазы не превышали 0.05% даже при обработке образцов в течение 12 ч при 40 °C, что может объясняться их большей устойчивостью к температурному воздействию. Ожидаемым было отсутствие значительных изменений в содержании сахаров (не более 1.0%), так как известно, что процессы термической деструкции моно- и дисахаридов происходят при температурах, значительно выше примененных в данном исследовании.

Антибактериальную активность образцов не-обработанного меда (контроль) и подвергнутых

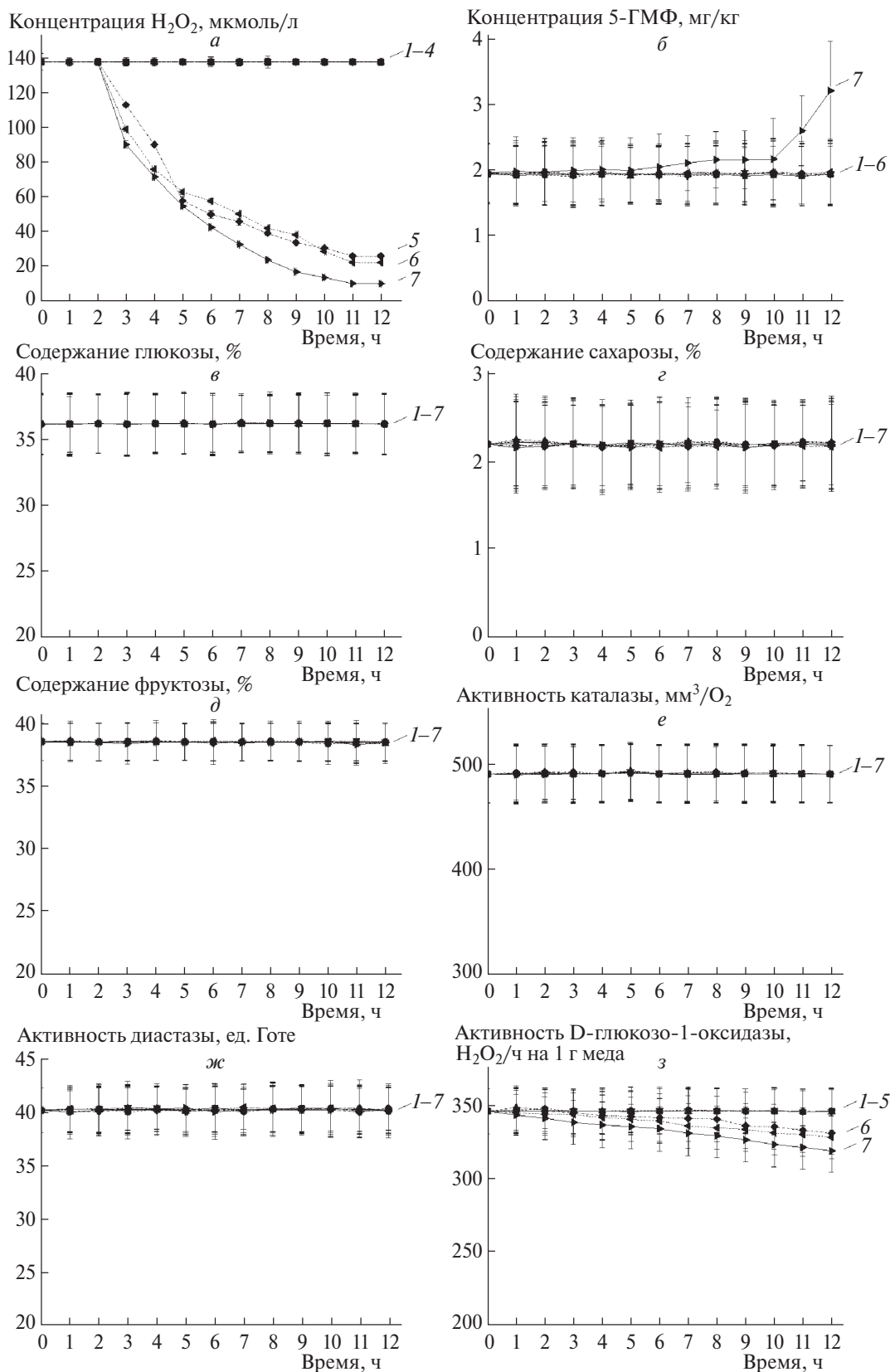


Рис. 3. Изменения химического состава образцов верескового меда: концентрации H_2O_2 (а), концентрации 5-ГМФ (б), содержания глюкозы (в), содержания сахарозы (г), содержания фруктозы (д), активности каталазы (е), активности диастазы (ж), активности D-глюкозо-1-оксидазы (з) без термического воздействия — контроль (необработанный мед) (1), и при воздействии в течение 12 ч температур 35 °C (2), 36 °C (3), 37 °C (4), 38 °C (5), 39 °C (6), 40 °C (7).

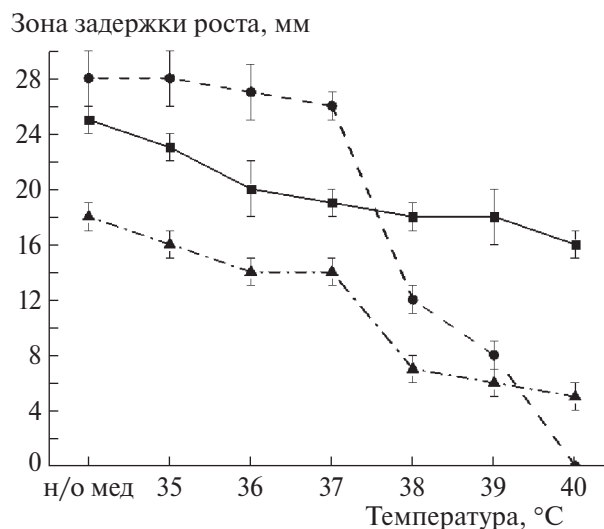


Рис. 4. Ингибирование роста бактерий *E. coli* (■), *S. aureus* (●) и *B. cereus* (▲) при воздействии необработанного (н/о мед) и термообработанного меда в течение 3 ч в интервале температур 35–40 °C.

термической обработке при 35–40 °C в течение 3 ч (время, по прошествии которого наблюдались явные изменения в химическом составе меда) исследовали на следующих микроорганизмах: *Escherichia coli* (штамм 1257), *Staphylococcus aureus* (штамм 209-P) и *Bacillus cereus* (штамм 96). Данный выбор был обусловлен тем, что указанные бактерии являются наиболее распространенными тест-культурами при проведении микробиологических исследований. *E. coli* (кишечная палочка) представляет собой грамотрицательную, колонизирующую кишечник млекопитающих палочковидную бактерию. Однако некоторые ее штаммы могут вызывать тяжелые пищевые отравления. Также следует отметить, что *E. coli* является модульным организмом, широко используемым для изучения различных процессов в молекулярных и биохимических исследованиях [37–41]. *S. aureus* (золотистый стафилококк) — грамположительная бактерия шаровидной формы колонизирует кожные покровы и слизистые оболочки. В результате ряда причин, в частности — снижения иммунитета, микроорганизм способен вызывать различные инфекционные заболевания [41, 42]. *B. cereus* представляет собой грамположительную спорообразующую почвенную бактерию, способную вызывать пищевые токсикоинфекции у млекопитающих [43].

Результаты бактериального теста представлены на рис. 4. Как видно, исследуемый мед, не подвергавшийся тепловой обработке, оказывает явное

воздействие на все микроорганизмы, использованные в качестве тест-культур, причем его влияние на рост стафилококка (средний диаметр зоны задержки роста составляет 28 мм) и кишечной палочки (25 мм) заметно выше, чем на представителя рода бацилл (18 мм), что можно объяснить более высокой устойчивостью почвенных бактерий к воздействию внешних факторов.

Для меда, подвергнутого тепловой обработке, наблюдается прямая зависимость падения его антибактериальной активности от температуры воздействия в отношении всех трех использованных тест-культур. Следует отметить наиболее резкое ее снижение в отношении *S. aureus* и *B. cereus* на отметке 38 °C (средняя зона задержки роста уменьшается с 26 до 12 мм для *S. aureus* и с 14 до 7 мм для *B. cereus*). Мед, нагретый до 40 °C, становится безопасным для стафилококков (зона задержки роста отсутствует) и оказывает существенно меньшее воздействие на бациллу (зона задержки роста не превышает 6 мм) по сравнению с образцом, не подвергавшимся воздействию температуры. Степень воздействия нагретого меда на *E. coli* снижается более плавно (резкого падения антибактериальной активности при 38 °C не наблюдается) и сохраняется даже при 40 °C (средняя зона задержки роста составляет 16 мм).

ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований было установлено, что при воздействии на мед температур в диапазоне 35–37 °C на протяжении 12 ч значительных изменений в химическом составе не наблюдалось. Резкое снижение концентрации H_2O_2 , а также постепенное уменьшение активности Д-глюкозо-1-оксидазы и увеличение содержания 5-ГМФ отмечалось после 3-часовой обработки при температуре 38 °C. Степень химических изменений была прямо пропорциональна температуре и времени термического воздействия. Существенных изменений в содержании сахаров не отмечалось. Снижения активности ферментов, считающегося критическим [44], при данных режимах не происходило.

Антибактериальная активность термообработанного меда в отношении всех использованных в эксперименте тест-культур коррелировала с изменением содержания H_2O_2 , который, как известно, является достаточно стабильной активной формой кислорода, вызывающей окислительный

стресс микробной клетки [45]. Таким образом, принимая в расчет отсутствие значительных изменений других параметров, обуславливающих бактерицидное действие меда, можно сделать вывод о ключевой роли H_2O_2 в этом процессе.

Полученные данные также позволяют предположить, что обработка меда при температуре 38 °C в течение 3 ч является критической для стабильности его химического состава, в то время как согласно действующей НД допускается нагрев до 40 °C при отборе образцов, проведении пробоподготовки и исследований. Так как было показано, что нагрев меда до 37 °C даже в течение 12 ч не вызывал нежелательных химических изменений состава, что было подтверждено и антибактериальным тестом, данный режим можно считать более щадящим и рекомендовать для его использования при анализе меда.

Работа выполнена в рамках проекта “Исследование проблем утилизации отходов природного происхождения в целях практического использования полученных продуктов” (№ 122122600056-9).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Villacrés-Granda I., Proano A., Coello D. et al. // Food Chem. 2021. V. 365. № 15. P. 130519; <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130519>
2. Cagliani L.R., Maestri G., Consonni R. // Food Contr. 2022. V. 133. P. 108574; <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2021.108574>
3. Seraglio S.K.T., Schulz M., Brugnerotto P. et al. // Food Res. Intern. 2021. V. 143. P. 110268; <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2021.110268>
4. Заикина В.И. Экспертиза меда и способы обнаружения его фальсификации. М.: Издат. дом “Дашков и К°”, 2012.
5. Комлацкий В.И., Плотников С.А. // Пчеловодство. 2006. № 2. С. 54.
6. Черевко Ю.А., Носовицкий П.Б. // Пчеловодство. 2000. № 3. С. 39.
7. Doner L.W. // J. Sci. Food Agric. 1977. V. 28. P. 443.
8. Bogdanov S. // Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie. 1984. V. 17. P. 74.
9. Almasaudi S. // Saudi J. Biol. Sci. 2021. V. 28. № 4. P. 2188; <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.017>
10. White J.W., Subers M.H., Schepartz A.I. // Biochim. Biophys. Acta. 1963. V. 7. № 73. P. 57.
11. Kwakman P.H.S., te Velde A.A., de Boer L. et al. // PLoS One. 2011. V. 6. № 3. P. 1; <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017709>
12. Lehmann D.M., Krishnakumar K., Batres M.A. et al. // Access Microbiol. 2019. V. 1. № 10. P. 1; <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000065>
13. Alygizou A., Grigorakis S., Gotsiou P. et al. // J. Anal. Meth. Chem. 2021. V. 2021. P. 5554305; <https://doi.org/10.1155/2021/5554305>
14. Wohlfart G., Witt S., Hendle J. et al. // Acta Cryst., Sect. D: Biol. Crystallogr. 1999. V. 55. P. 969; <https://doi.org/10.1107/s0907444999003431>
15. Jones P., Dunford H.B. // J. Theoretical Biol. 1977. V. 69. P. 457.
16. Brudzynski K. // Food Chem. 2020. V. 1. № 332. P. 127229; <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127229>
17. Zámocký M., Gasselhuber B., Furtmüller P.G. et al. // Arch. Biochem. Biophys. 2012. V. 525. № 2. P. 131; <https://doi.org/10.1016/j.abb.2012.01.017>
18. Chen C., Campbell L.T., Blair Sh.E. et al. // Front. Microbiol. 2012. V. 3. P. 265; <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00265>
19. Besir A., Yazici F., Mortas M. et al. // LWT — Food Sci. Tech. 2021. V. 139. P. 110602; <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110602>
20. Fang G.Z., Lv Y.Y., Sheng W. et al. // Anal. Bioanal. Chem. 2011. V. 401. № 10. P. 3367; <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5430-4>
21. Ярова О.А., Лобанов А.В. // Рос. журн. “Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии”. 2012. № 2(8). С. 12.
22. Ярова О.А., Сохликов А.Б., Лобанов А.В. // Вестн. РАСХН. 2012. № 6. С. 51.
23. ГОСТ 19792-2017. Мед натуральный. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2017.
24. ГОСТ 31769-2012. Мед. Метод определения частоты встречаемости пылевых зерен. М.: Стандартинформ, 2019.
25. Лобанов А.В., Рубцова Н.А., Веденеева Ю.А. и др. // Докл. АН. 2008. Т. 241. № 6. С. 773.
26. ГОСТ 32167-2013. Мед. Метод определения сахаров. М.: Стандартинформ, 2018.
27. ГОСТ 31768-2012. Мед натуральный. Методы определения гидроксиметилфурфурала. М.: Стандартинформ, 2019.
28. Аганин А.В. Мед и его исследование. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1985.
29. ГОСТ 34232-2017. Мед. Методы определения активности сахаразы, диастазного числа, нерастворимых веществ. М.: Стандартинформ, 2017.
30. Flanjak I., Strelec I., Kenjeric D. et al. // J. Apicult. Sci. 2015. V. 60. № 1. P. 39; <https://doi.org/10.1515/jas-2016-0005>
31. Бурмистров А.Н., Нукитина В.А. Медоносные растения и их пыльца: Справочник. М.: Росагропромиздат, 1990.
32. Kasiotis K.M., Baira E., Iosifidou S. et al. // Front. Chem. 2022. V. 10. P. 924881; <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.924881>

33. *Lehébel-Péron A., Sidawy P., Dounias E. et al.* // J. Rur. Stud. 2016. V. 44. P. 132;
<https://doi.org/10.1016/j.jrurstud.2016.01.005>
34. *Andrade P.B., Amaral M.T., Isabel P. et al.* // Food Chem. 1999. V. 66. № 4. P. 503;
[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00100-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00100-4)
35. *Ярова О.А., Лобанов А.В.* // РЖ “Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии”. 2012. № 1(7). С. 1.
36. *Bucekova M., Juricova V., Monton E. et al.* // Food Chem. 2018. V. 240. P. 1131;
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.054>
37. *Крупянский Ю.Ф.* // Хим. физика. 2021. Т. 40. № 3. С. 60;
<https://doi.org/10.31857/S0207401X21030079>
38. *Терешкин Э.В., Лойко Н.Г., Терешкина К.Б. и др.* // Хим. физика. 2021. Т. 40. № 11. С. 48;
<https://doi.org/10.31857/S0207401X21110091>
39. *Крупянский Ю.Ф., Генералова А.А., Коваленко В.В. и др.* // Хим. физика. 2023. Т. 42. № 6. С. 3;
<https://doi.org/10.31857/S0207401X23060067>
40. *Терешкин Э.В., Терешкина К.Б., Лойко Н.Г. и др.* // Хим. физика. 2023. Т. 42. № 5. С. 30;
<https://doi.org/10.31857/S0207401X23050138>
41. *Тертышина Ю.В., Лобанов А.В., Хватов А.В.* // Хим. физика. 2020. Т. 39. № 11. С. 52;
<https://doi.org/10.31857/S0207401X20110138>
42. *Kluytmans J., van Belkum A., Verbrugh H.* // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 1997. V. 10(3). P. 505.
43. *Rahnama H., Azari R., Yousefi M.H. et al.* // Food Contr. 2022. V. 143. P. 109250;
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109250>
44. *Матиенко Л.И., Миль Е.М., Бинюков В.И.* // Хим. физика. 2020. Т. 39. № 6. С. 87;
<https://doi.org/10.31857/S0207401X20060084>
45. *Карбышев М.С., Абдуллаев Ш.П.* Биохимия оксидативного стресса: Учебно-методическое пособие. М.: РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 2018.

INFLUENCE OF DIFFERENT HEAT TREATMENT REGIMES ON THE CHANGE OF CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF BEE HONEY

**D. V. Gruznov^{1*}, O. A. Gruznova², A. V. Lobanov^{2, 3, 4},
A. B. Sokhlikov¹, G. Sh. Shcherbakova¹, S. P. Stepanova¹, N. I. Popov¹**

¹All-Russian Research Institute for Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology — Branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Research Center All-Russian Research Institute for Experimental Veterinary Science Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

²Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

³Moscow Pedagogical State University, Moscow, Russia

⁴Plekhanov Russian University of Economics, Moscow, Russia

*E-mail: 79164422245@yandex.ru

The studies of the chemical composition and antibacterial activity of heather honey (*Calluna vulgaris*) subjected to heat treatment at 35–40°C for 12 hours were carried out. The temperature range (38–40°C), at which decrease in the H₂O₂ concentration, decrease in D-glucose-1-oxidase activity and increase in the 5-hydroxymethylfurfural content, was identified. The degree of chemical changes was directly proportional to the temperature and time of thermal exposure. The correlation between changes in the chemical composition and antibacterial activity of honey against test microorganisms *Escherichia coli* (strain 1257), *Staphylococcus aureus* (strain 209-P) and *Bacillus cereus* (strain 96) was established. The obtained results showed that heating honey to 37 °C even for 12 hours didn't cause undesirable changes in its chemical composition and decrease in antibacterial activity. Thus, this temperature regime can be considered more gentle and recommended for use in the heat treatment of this food product.

Keywords: heat treatment, hydrogen peroxide (H₂O₂), 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF), enzymes, sugars, inactivation, antibacterial activity, bee honey.

REFERENCES

- Villacres-Granda I., Proano A., Coello D. et al. // Food Chem. 2021. V. 365. № 15. P. 130519; <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130519>
- Cagliani L.R., Maestri G., Consonni R. // Food Contr. 2022. V. 133. P. 108574; <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2021.108574>
- Seraglio S.K.T., Schulz M., Brugnerotto P. et al. // Food Res. Intern. 2021. V. 143. P. 110268; <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2021.110268>
- Zaikina V.I. Ekspertiza meda i sposoby obnaruzheniya yego fal'sifi katsii. M.: Izdatel'skiy dom "Dashkov i Ko", 2012.
- Komlatsky V.I., Plotnikov S.A. // Pchelovodstvo. 2006. V. 2. P. 54.
- Cherevko Yu.A., Nosovitsky P.B. // Pchelovodstvo. 2000. V. 3. P. 39.
- Doner L.W. // J. Sci. Food Agric. 1977. V. 28. P. 443.
- Bogdanov S. // Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie. 1984. V. 17. P. 74.
- Almasaudi S. // Saudi J. Biol. Sci. 2021. V. 28. № 4. P. 2188; <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.017>
- White J.W., Subers M.H., Schepartz A.I. // Biochim. Biophys. Acta. 1963. V. 7. № 73. P. 57.
- Kwakman P.H.S., te Velde A.A., de Boer L. et al. // PLoS One. 2011. V. 6. № 3. P. 1; <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017709>
- Lehmann D.M., Krishnakumar K., Batres M.A. et al. // Access Microbiol. 2019. V. 1. № 10. P. 1; <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000065>
- Alygizou A., Grigorakis S., Gotsiou P. et al. // J. Anal. Meth. Chem. 2021. V. 2021. P. 5554305; <https://doi.org/10.1155/2021/5554305>
- Wohlfart G., Witt S., Hendle J. et al. // Acta Cryst., Sect. D: Biol. Crystallogr. 1999. V. 55. P. 969; <https://doi.org/10.1107/s0907444999003431>
- Jones P., Dunford H.B. // J. Theoretical Biol. 1977. V. 69. P. 457.
- Brudzynski K. // Food Chem. 2020. V. 1. № 332. P. 127229; <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127229>
- Zamocky M., Gasselhuber B., Furtmuller P.G. et al. // Arch. Biochem. Biophys. 2012. V. 525. № 2. P. 131; <https://doi.org/10.1016/j.abb.2012.01.017>
- Chen C., Campbell L.T., Blair Sh.E. et al. // Front. Microbiol. 2012. V. 3. P. 265; <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00265>
- Besir A., Yazici F., Mortas M. et al. // LWT — Food Sci. Tech. 2021. V. 139. P. 110602; <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110602>
- Fang G.Z., Lv Y.Y., Sheng W. et al. // Anal. Bioanal. Chem. 2011. V. 401. № 10. P. 3367; <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5430-4>
- Yarova O.A., Lobanov A.V. // RZh "Problemy veterinarnoy sanitarii, gigiyeny i ekologii". 2012. V. 2. P. 12.
- Yarova O.A., Sokhlikov A.B., Lobanov A.V. // Vestnik RASKHN. 2012. V. 6. P. 51.

23. GOST (State Standard) 19792-2017. Natural honey. Specifications.
24. GOST (State Standard) 31769-2012. Honey. Determination of the relative frequency of pollen.
25. Lobanov A.V., Rubtsova N.A., Vedeneva Yu.A. et al. // Dokl. Chem. 2008. V. 421. P. 190.
26. GOST (State Standard) 32167-2013. Honey. Method for determination of sugars.
27. GOST (State Standard) 31768-2012. Natural honey. Methods for determination of hydroxymethylfurfural.
28. Aganin A.V. Med i yego issledovaniye. Saratov: Izdatel'stvo Saratovskogo universiteta, 1985.
29. GOST (State Standard) 34232-2017. Honey. Methods for determination of sucrose activity, diastase activity, insoluble matters.
30. Flanjak I., Strelec I., Kenjerić D. et al. // J. Apicult. Sci. 2015. V. 60. № 1. P. 39; <https://doi.org/10.1515/jas-2016-0005>
31. Burmistrov A.N., Nikitina V.A. Medonosnyye rasteniya i ikh pyl'tsa: Spravochnik. M.: Rosagropromizdat, 1990.
32. Kasiotis K.M., Baira E., Iosifidou S. et al. // Front. Chem. 2022. V. 10. P. 924881; <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.924881>
33. Lehebel-Peron A., Sidawy P., Dounias E. et al. // J. Rur. Stud. 2016. V. 44. P. 132; <https://doi.org/10.1016/j.jrurstud.2016.01.005>
34. Andrade P.B., Amaral M.T., Isabel P. et al. // Food Chem. 1999. V. 66. № 4. P. 503; [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00100-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00100-4)
35. Yarova O.A., Lobanov A.V. // Problemy veteri narnoy sanitarii, gigiyeny i ekologii. 2012. V. 1. P. 1.
36. Bucekova M., Juricova V., Monton E. et al. // Food Chem. 2018. V. 240. P. 1131; <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.054>
37. Krupyanskii Y. F. // Russ. J. Phys. Chem. B. 2021. V. 15. P. 326. <https://doi.org/10.1134/S199079312102007X>
38. Tereshkin E.V., Loiko N.G., Tereshkina K.B. et al. // Russ. J. Phys. Chem. B. 2021. V. 15. P. 1026. <https://doi.org/10.1134/S1990793121060099>
39. Krupyanskii Y.F., Generalova A.A., Kovalenko V.V. et al. // Russ. J. Phys. Chem. B. 2023. V. 42. P. 3.
40. Tereshkin E.V., Tereshkina K.B., Loiko N.G. et al. // Russ. J. Phys. Chem. B. 2023. V. 42. P. 30.
41. Tertyshnaya Y.V., Khvatov A.V., Lobanov A.V. // Russ. J. Phys. Chem. B. 2020. V. 14. P. 1022. <https://doi.org/10.1134/S1990793120060135>
42. Kluytmans J., van Belkum A., Verbrugh H. // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 1997. V. 10(3). P. 505.
43. Rahnema H., Azari R., Yousefi M.H. et al. // Food Contr. 2022. V. 143. P. 109250; <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109250>
44. Matienko L.I., Mil E.M., Binyukov V.I. // Russ. J. Phys. Chem. B. 2020. V. 14. P. 559. <https://doi.org/10.1134/S1990793120030227>
45. Karbyshev M.S., Abdullaev Sh.P. Biokhimiya oksidativnogo stressa: Uchebno-metodicheskoye posobiye. M.: RNIMU im. N. I. Pirogova Minzdrava Rossii, 2018.

УДК 576.57.085.23:576.31:576.04

КАТИОННЫЙ ЭФФЕКТ В ФОРМИРОВАНИИ ТОКСИЧЕСКИХ И ПРОТИВОВИРУСНЫХ СВОЙСТВ ГЕТЕРОПОЛИСОЕДИНЕНИЙ КЕГГИНА

© 2024 г. Ф. И. Далидчик^{1*}, О. А. Лопатина², С. А. Ковалевский¹, Е. И. Исаева²,
М. В. Бидевкина³, О. В. Бакланова², Е. А. Гущина², Ф. В. Лисицын²,
Е. М. Балашов^{1**}, М. В. Мезенцева², Т. Н. Притчина²

¹Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова
Российской академии наук, Москва, Россия

²Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии
им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия

³“Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф.Эрисмана” Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Мытищи, Россия

*E-mail: domfdal@mail.ru

**E-mail: embalashov@yandex.ru

Поступила в редакцию 27.03.2023;

после доработки 16.07.2023;

принята в печать 20.07.2023

Определены показатели цитотоксичности (IC₅₀) фосфор-молибденовых гетерополикислот Кеггина (ГПКК) и их натриевых и калиевых солей на клетках почки собаки (МДСК). Выявлена противовирусная активность этих соединений в отношении актуальных штаммов гриппа А (H3N2 и H1N1). Подтверждена зависимость биологических свойств полиоксометаллатов от элементного состава их молекул. Показано, что при замене части атомов молибдена атомами ванадия ГПКК и их соли приобретают более высокую цитотоксичность, монотонно возрастающую по мере увеличения количества замещений. Впервые установлена и интерпретирована зависимость биологической активности ГПКК и их солей от массы катионов. *In vivo* (на белых беспородных мышах) установлены значения полулетальных доз (DL₅₀) этих соединений. Для водных растворов натриевых и калиевых солей ГПКК в широком диапазоне изменений концентраций (от 0.05 до 15 мкМ) на модели подвижных клеток определены значения индекса токсичности (It). Установлено, что ГПКК и их соли относятся к умеренно опасным токсичным веществам и обладают избирательной противовирусной активностью, которая при низких концентрациях (меньше 15 мкМ) для штаммов гриппа А проявляется в основном в снижении гемагглютинирующей активности.

Ключевые слова: полиоксометаллаты, гетерополикислоты, вирусы гриппа, просвечивающая электронная микроскопия, токсичность, противовирусная активность.

DOI: 10.31857/S0207401X24020108 EDN: WHBSQN

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственная устойчивость вирусов — это глобальная и грозная проблема современности, особенно в условиях вирусных пандемий, в частности Covid-19 [1]. Быстро развивающаяся резистентность к существующим противовирусным препаратам требует создания новых лекарственных и дезинфекционных средств. В одном из современных направлений этих поисков предполагается применение соединений полиоксометаллатов (ПОМ), в частности обширного класса гетерополикислот (ГПК), биологические свойства которых допускают тонкую целевую подборку [2–5]. Сегодня хорошо известно, что ПОМ, среди которых наиболее полно изучены ГПК Кеггина (ГПКК), могут быть ингибиторами многих штам-

мов вирусов (гриппа, лихорадки Денге, атипичной пневмонии, ВИЧ и др.).

В последние десятилетия активно изучаются ванадийсодержащие соединения ПОМ, обладающие не только противовирусными [6], но и противоопухолевыми [7] и противодиабетическими свойствами [8]. Природа этих уникальных биологических свойств ПОМ остается, однако, предметом дискуссий. В частности, остается открытым практически важный вопрос о роли катионов в формировании специфической биологической активности соединений ПОМ. Отдельные примеры, которые указывают на возможность управления биологическими свойствами ПОМ-соединений посредством оптимизации строения их

катионов, приводятся и качественно интерпретируются в настоящей работе.

Для разработки новых противовирусных ПОМ-препаратов необходима информация не только об их противовирусных свойствах, но и о степени их токсичности в отношении клеточных культур и лабораторных животных. Особенностью эпидемической ситуации последних лет в России и за рубежом является одновременная циркуляция в человеческой популяции нескольких респираторных вирусов гриппа А (H3N2 и H1N1). Это определило выбор объектов исследований настоящей работы и постановку ее основных задач.

Основные задачи работы — на примере группы фосфор-молибденовых ГПКК и их натриевых и калиевых солей в экспериментах *in vitro* и *in vivo* исследовать зависимость биологических свойств ПОМ соединений от элементного состава их анионов и катионов, в частности от числа замещённых атомов молибдена атомами ванадия. Определить цитотоксичность изучаемых соединений, оценить степень их опасности в опытах *in vivo*, исследовать противовирусную активность в отношении актуальных штаммов вируса гриппа А (H3N2 и H1N1).

МАТЕРИАЛЫ

Материалы: исследовали ГПКК $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ и $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$, производства компании “Biochem” (France), биметаллические (ванадийсодержащие) ГПКК $\text{H}_5\text{PMo}_{10}\text{V}_2\text{O}_{40}$, $\text{H}_4\text{PMo}_{11}\text{VO}_{40}$, $\text{H}_4\text{PW}_{11}\text{VO}_{40}$ и биметаллические ванадийсодержащие соли $\text{K}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$, $\text{Na}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$, $\text{Na}_4\text{PMo}_{11}\text{VO}_{40}$, $\text{Na}_5\text{PMo}_{10}\text{V}_2\text{O}_{40}$ и $\text{Na}_6\text{PMo}_9\text{V}_3\text{O}_{40}$, синтезированные в Институте общей и неорганической химии БАН (Минск, Беларусь).

Культура клеток: использовали пермиссивные для вирусов гриппа перевиваемые клетки почки собаки (МДСК), взятые из коллекции клеточных культур при ФГБУ “НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи” Минздрава России. Культивирование клеток осуществляли на питательной среде Игла MEM с двойным набором аминокислот, 5%-ной фетальной бычьей сыворотки, 10 мМ глутамина и 4%-ным гентамицином.

Вирусы: пандемические штаммы вирусов гриппа А: **H3N2** (A/Aichi/1/68, A/Pert16/09, A/Brisben/10/07) и **H1N1** (A/Brisben/07/07, A/California/07/09, A/Penza/55/2008, A/PR8/34)

были взяты из государственной коллекции вирусов РФ при ФГБУ “НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи” Минздрава РФ. Отобранные вирусы культивировали при стандартных условиях (36 °C, 48 ч) в аллантоисной полости 9–10-дневных куриных эмбрионов и на перевиваемой культуре клеток МДСК.

МЕТОДЫ

Цитотоксичность ГПКК и их солей на клетках МДСК: использовали водные растворы ГПКК и их солей сантимолярной концентрации. Эти растворы в разведениях от 1:2 до 1:4096 вносили в монослой культуры клеток МДСК, выращенных в 96-луночных планшетах. После добавления соответствующих разведений ПОМ клетки культивировали в течение 72 ч при 37 °C в атмосфере 5%-ной CO_2 . С помощью метилтетразолиевого теста (МТТ-тест) определяли жизнеспособность клеток (посредством измерений оптической плотности (ОП) опытных образцов по сравнению с контролем). Измерения проводили на ридере “Пикон” (ОП на длине волны 595 нм). Концентрацию препарата, при которой погибало 50% клеток (по сравнению с контролем), принимали за цитопатическое значение (IC50) [9]. Кислотность среды (рН) после добавления ГПКК во всех экспериментах составляла 6.5 ± 0.2 .

Для дополнительной оценки токсичности (опасности) водных растворов ПОМ различных концентраций (от 0.05 до 15 мкМ) использовали модель подвижных клеток. Такой подход, рекомендованный Госкомсанэпиднадзором РФ для массовых санитарно-эпидемиологических и токсикологических исследований, включая испытания новых материалов, реализуется в экспериментах с применением коммерческого анализатора токсичности АТ-05 [10–12]. Сущность такой методики состоит в определении токсичности исследуемых растворов с применением стандартизованного клеточного тест-объекта. Критерием токсического действия ПОМ при этом было изменение двигательной активности подвижных клеток — сперматозоидов быка под воздействием ПОМ, добавляемых в опытный раствор, по сравнению с контрольным раствором. Контрольный раствор представлял собой взвесь сперматозоидов в среде, состоящей из 4 г глюкозы, 1 г цитрата натрия, 100 мл дистиллированной воды. Показатель их подвижности регистрировался автомати-

чески анализатором изображений АТ-05 по изменению интенсивности светового потока при движении клеток через оптический зонд с помощью анализатора изображений АТ-5. Оценку безопасности изучаемых образцов проводили по индексу токсичности It (в %) в разведениях от 1:200 и более. Он вычисляется для каждой пробы как отношение суммарной подвижности сперматозоидов в опыте к средней суммарной подвижности сперматозоидов в контрольном растворе. Обработка экспериментальных данных осуществляется по прилагаемой к анализатору токсичности программе. Растворы ПОМ, для которых It , выраженные в %, попадали в интервал значений от 70% до 120%, согласно рекомендациям руководства [11], считались безопасными.

Изучение острой токсичности (DL_{50}) ГПК проводили на белых беспородных мышах-самцах весом 18–20 г в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях. В опытной группе использовали 40 мышей, в контрольной — 10. Животных содержали на стандартном пищевом рационе. Для приготовления препаратов использовали водные растворы ПОМ в соответствующих разведениях. Образцы ГПК $H_3PW_{12}O_{40}$, $H_3PMo_{12}O_{40}$, $H_4SiW_{12}O_{40}$, $H_4SiMo_{12}O_{40}$ вводили мышам в желудок натошак с помощью металлического зонда в дозах 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 мг/кг, в брюшную полость — в дозах 100, 250, 500, 1000, 3000 мг/кг. Образцы солей ГПК: $Na_3PMo_{12}O_{40}$, $Na_4PMo_{11}VO_{40}$, $Na_5PMo_{10}V_2O_{40}$, $Na_6PMo_9V_3O_{40}$ и $K_6PW_{18}O_{40}$, вводили в желудок в виде 20%-ного водного раствора в интервале доз от 500 до 4000 мг/кг. Каждую дозу вводили одному животному. Наблюдение проводили в течение 14 дней; за DL_{50} принимали наименьшую дозу, вызвавшую гибель половины животных. Класс опасности определяли по классификации ГОСТ 12.1.007-76 [12]. По окончании наблюдения выжившие животные подвергались эвтаназии с использованием общего эфирного наркоза.

Противовирусную активность ГПКК и их солей определяли по снижению инфекционного титра вируса гриппа в культуре клеток МДСК на основании цитопатического действия, а также в реакции гемагглютинации. С этой целью предварительно готовили культуру клеток МДСК. В каче-

стве поддерживающей среды использовали питательную среду Игла MEM с двойным набором аминокислот с добавлением 0.2%-ного раствора альбумина и трипсина (TPCK treated, Sigma-Aldrich, USA) в концентрации 2 мкг/мл. Перед заражением вирусом клетки МДСК три раза промывали бессывороточной средой Игла MEM, добавляли изучаемые вещества в необходимой концентрации в 100 мкл поддерживающей среды и инкубировали в течение 2 ч при 37 °С. Затем добавляли по 100 мкл предварительно приготовленных разведений вируса. Контроли вируса и клеток культивировали в той же среде. Учет результатов проводили через 48 ч по цитопатическому действию. Инфекционную активность (ИА) оценивали в количественном выражении подавления репродукции вируса ($TCID_{50}$). Гемагглютинирующую активность (ГА) вирусов определяли по общепринятой методике [13].

Просвечивающая электронная микроскопия использовалась при изучении морфологии вирусов гриппа А в суспензии и в культуре зараженных клеток МДСК с применением микроскопа JEM-100S производства компании Jeol (Japan).

Исследование влияния ГПКК на структуру вирионов гриппа А/California/07/09(H1N1), культивированных в аллантоисной полости 9–10-дневных куриных эмбрионов, проводили с применением метода негативного контрастирования суспензии вируса. С этой целью готовили суспензию интактных вирусных частиц с концентрациями 5.5 lgTCID₅₀, смешивали с тестируемым раствором ГПК в соотношении 1:1, и инкубировали в течение 1 ч при температуре 25 °С. Подготовленные к анализу суспензии наносили на гальваническую сетку с формваровой подложкой.

Структуру вируса гриппа в культуре клеток МДСК после воздействия ПОМ исследовали методом ультратонких срезов. Срезы получали на ультратоме Bromma 800 производства фирмы LKB (Sweden) с помощью алмазного ножа толщиной 50–60 нм. Использовали общепринятую методику фиксирования, обезвоживания, пропитки и заливки материала в эпоновую смесь. Ультратонкие срезы окрашивали 5%-ным раствором уранилацетата и цитратом свинца, после чего переносили подготовленные срезы в электронный микроскоп.

Таблица 1. Цитотоксичность ГПК и их солей на клетках МДСК

Образцы ГПК	IC50, мкМ	Образцы солей ГПКК	IC50, мкМ
$H_3PW_{12}O_{40}$	125	$K_3PW_{12}O_{40}$	62.5
$H_3PMo_{12}O_{40}$	125	$Na_3PMo_{12}O_{40}$	31.3
$H_4PMo_{11}VO_{40}$	25	$Na_4PMo_{11}VO_{40}$	15.6
$H_5PMo_{10}V_2O_{40}$	25	$Na_5PMo_{10}V_2O_{40}$	15.6
$H_4PW_{11}VO_{40}$	33	$Na_6PMo_9V_3O_{40}$	7.8

Таблица 2. Цитотоксичность ПОМ на модели подвижных клеток It, %

Концентрации, мкМ	I _t (%)				
	$Na_3PMo_{12}O_{40}$	$Na_4PMo_{11}VO_{40}$	$Na_5PMo_{10}V_2O_{40}$	$Na_6PMo_9V_3O_{40}$	$K_6PW_{18}O_{40}$
14.3	102.0	19.9	—	16.9	101.3
4.8	—	24.0	—	15.2	—
2	—	46.6	—	21.6	—
1	—	54.2	26.5	22.3	—
0.4	—	63.0	—	28.1	—
0.2	—	71.0	60.2	47.2	—
0.1	—	88.6	68.0	64.2	—
0.05	—	—	87.1	82.0	—

Таблица 3. Токсичность ГПК и их солей в опытах *in vivo*

Образцы ГПК	DL50, мг/кг (введение в желудок)	Образцы солей ГПК	DL50, мг/кг (введение в желудок)
$H_3PW_{12}O_{40}$	3000	$K_3PW_{12}O_{40}$	4416.6
$H_3PMo_{12}O_{40}$	2000	$Na_3PMo_{12}O_{40}$	2125.0
$H_4PMo_{11}VO_{40}$	2000	$Na_4PMo_{11}VO_{40}$	1875.0
$H_5PMo_{10}V_2O_{40}$	1000	$Na_5PMo_{10}V_2O_{40}$	1520.8
		$Na_6PMo_9V_3O_{40}$	1375.0

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Результаты экспериментов, т.е. значения токсичности и показателей противовирусной активности ГПКК и их солей, приведены в табл. 1–4.

Анализируя табл. 1 отметим, прежде всего, выраженную зависимость цитотоксичности ГПКК и солей от элементного состава как анионов, так и катионов. Как видно, здесь регулярно наблюдается значительное (в отдельных случаях многократное) повышение цитотоксичности ПОМ при замещении атома Н в ГПКК атомом щелочного металла. Такая зависимость, которая до сих пор, видимо, не была замечена, указывает на возможность решения части задач оптимизации состава ПОМ посредством удачного выбора их катионов. Отметим также монотонный рост цитотоксичности соединений ПОМ (снижение значений IC50) по мере увеличения количества атомов V, замещающих атомы Мо. Существенно, что этот рост цитотоксичности соединений ПОМ наблюдается

не только для ГПКК, как отмечалось ранее в нашей работе [14], но также и для солей. Это указывает, очевидно, на определяющую роль в формировании цитотоксичности ПОМ (с выбранным типом катионов) тех биохимических и биофизических процессов, которые идут с участием анионов. И наконец, как общий вывод, следующий из результатов анализа табл. 1, отметим аддитивный характер изменений цитотоксичности ПОМ-соединений при двух возможных вариантах изменений их элементного состава, т.е. при замещении атомов металла в анионе и замещении атомов водорода в кислоте атомом щелочного металла. Действительно, как можно видеть, значение IC50 оказывается минимальным (7.8 мкМ) для соли $Na_6PMo_9V_3O_{40}$, которой соответствует наибольшее число атомных замещений (шесть атомов водорода и трех атомов молибдена).

Результаты изучения токсичности водных растворов ГПКК и их солей, полученные на по-

Таблица 4. Влияние ПОМ на гемагглютинирующую и инфекционную активность различных штаммов вирусов гриппа А (H3N2 и H1N1) на клетках МДСК

Образцы ПОМ с соответствующими разведениями	Вирусный агент	Гемагглютинирующая активность	Инфекционная активность (lgTCID ₅₀)
$H_5PMo_{10}V_2O_{40}$, 3.9 мкМ	H3N2		
	A/Aichi/1/68	64*	5.25
	A/Pert/16/06	128	5.5
	A/Brisben/10/07	64	4.0
	H1N1		
	A/Brisben/07/07	32	3.5
	A/California/ 07/09	64*	4.0
	A/Penza/55/2008	32*	4.5
$H_4PMo_{11}VO_{40}$, 7.8 мкМ	H3N2		
	A/Aichi/1/68	64*	5.0
	A/Pert/16/06	64	4.75
	A/Brisben/10/07	32	3.75
	H1N1		
	A/Brisben/07/07	32	3.0
	A/California/ 07/09	64*	4.5
	A/Penza/55/2008	64	5.0
$Na_4PMo_{11}VO_{40}$, 15.6 мкМ	H3N2		
	A/Aichi/1/68	64*	5.0
	A/Pert/16/06	32*	5.5
	A/Brisben/10/07	32	3.0
	H1N1		
	A/Brisben/07/07	64	4.0
	A/California/ 07/09	256	5.5
	A/Penza/55/2008	128	5.0
$K_6PW_{18}O_{40}$, 62.5 мкМ	H3N2		
	A/Aichi/1/68	64*	5.0
	A/Pert/16/06	64	5.5
	A/Brisben/10/07	64	3.0
	H1N1		
	A/Brisben/07/07	16*	4.0
	A/California/ 07/09	32*	5.5
	A/Penza/55/2008	32*	5.0
Контроль вируса клетки МДСК, заражен- ные вирусом без воздей- ствия ПОМ	H3N2		
	A/Aichi/1/68	256	6.0
	A/Pert/16/06	128	5.0
	A/Brisben/10/07	64	4.0
	H1N1		
	A/Brisben/07/07	64	4.0
	A/California/ 07/09	256	5.5
	A/Penza/55/2008	128	5.0
	H3N2		
	A/Aichi/1/68	256	6.0
	A/Pert/16/06	128	5.0
	A/Brisben/10/07	64	4.0
	H1N1		
	A/Brisben/07/07	64	4.0
	A/California/ 07/09	256	5.5
	A/Penza/55/2008	128	5.0
	H3N2		
	A/Aichi/1/68	256	6.0
	A/Pert/16/06	128	5.0
	A/Brisben/10/07	64	4.0
	H1N1		
	A/Brisben/07/07	64	4.0
	A/California/ 07/09	256	5.5
	A/Penza/55/2008	128	5.0
	H3N2		
	A/Aichi/1/68	256	6.0
	A/Pert/16/06	128	5.0
	A/Brisben/10/07	64	4.0
	H1N1		
	A/Brisben/07/07	64	4.0
	A/California/ 07/09	256	5.5
	A/Penza/55/2008	128	5.0
	H3N2		
	A/Aichi/1/68	256	6.0
	A/Pert/16/06	128	5.0
	A/Brisben/10/07	64	4.0
	H1N1		
	A/Brisben/07/07	64	4.0
	A/California/ 07/09	256	5.5
	A/Penza/55/2008	128	5.0

* Снижение титров ГА в 4 и более раз по сравнению с контролем (клетки МДСК, зараженные вирусом, без воздействия ПОМ).

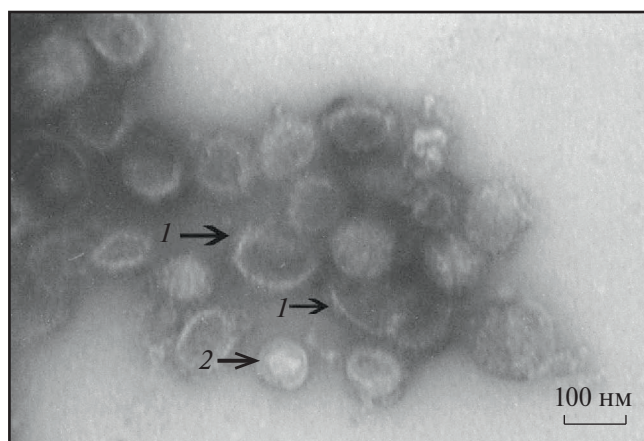


Рис. 1. Визуализация суспензии вируса гриппа A/California/07/09, инкубированной в течение 1 ч в водном растворе $\text{H}_5\text{PMo}_{10}\text{V}_2\text{O}_{40}$ (100 мкМ): 1 — пустые вирусные оболочки, 2 — intactные ВЧ.

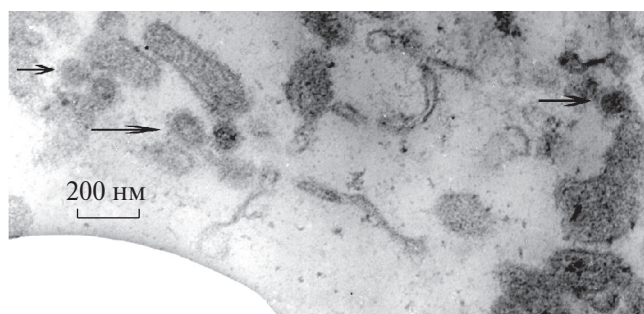


Рис. 2. Контроль клеток МДСК (без применения ПОМ). Срез поверхности клетки МДСК, инфицированной вирусом гриппа A/California/07/09. Стрелками отмечены нормальные ВЧ, почкующиеся с поверхности клетки.

движных клетках с применением анализатора токсичности АТ-05, приведены в табл. 2. Здесь следует отметить корреляцию токсичности (IC_{50}) на клетках МДСК с показателем цитотоксичности на подвижных клетках (It). В обоих случаях введение в анионы атомов ванадия, как и замещение атомов водорода атомами щелочных металлов, приводит к повышению токсичности. При этом наименее токсичными оказываются соли $\text{Na}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ и $\text{K}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$, для которых значения It попадают в интервал безопасности даже при концентрациях ~ 15 мкМ. Цитотоксичность солей с ванадием, в частности $\text{Na}_5\text{PMo}_{10}\text{V}_2\text{O}_{40}$ и $\text{Na}_6\text{PMo}_9\text{V}_3\text{O}_{40}$, существенно выше. Только при минимальных концентрациях (~ 0.05 мкМ) значения It находятся в пределах интервала безопасности, но приближаются к его нижней границе (70%).

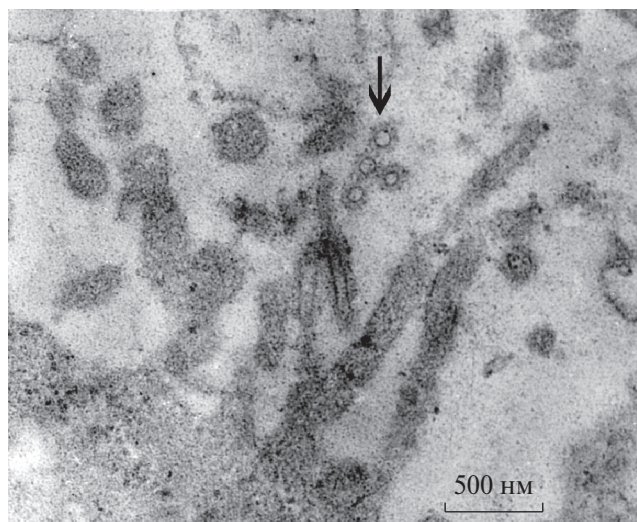


Рис. 3. Срез поверхности клетки МДСК, зараженной вирусом гриппа A/California/07/09, после обработки водным раствором $\text{H}_5\text{PMo}_{10}\text{V}_2\text{O}_{40}$ (25 мкМ). Стрелкой отмечена группа дефектных ВЧ (без нуклеоида).

Сопоставляя токсичности ПОМ-соединений, установленные в экспериментах *in vivo* и *in vitro*, можно заметить не только сходство в зависимостях этих свойств от элементного состава, но и различие. Сходство проявляется в регулярном росте токсичности по мере увеличения числа анионных атомов ванадия. Отличие имеет место для безванадиевых кислот и солей. В экспериментах *in vitro* токсичность этих солей оказывается выше.

Результаты, полученные при определении токсичности ПОМ на подвижных клетках (табл. 2) и при введении ГПКК и их солей непосредственно в желудок мышам (табл. 3), позволяют отнести все эти соединения к 3 классу опасности (к умеренно опасным веществам по ГОСТу 12.1.007-76).

Противовирусные активности отдельных ПОМ-препаратов, установленные в отношении пандемических штаммов вирусов гриппа А (H3N2 и H1N1), приведены в табл. 4. (Приведены лишь результаты, полученные для образцов с наиболее высокими противовирусными свойствами). Анализируя эти результаты, прежде всего, следует подчеркнуть их общие особенности — высокую избирательность всех препаратов и выраженный “ванадиевый” эффект, т.е. рост противовирусной активности при замещении части атомов молибдена атомами ванадия. Существенно, однако, что во всех приведенных случаях противовирусная активность ГПКК и солей проявляется в основном только в снижении ГА. При нетоксичных

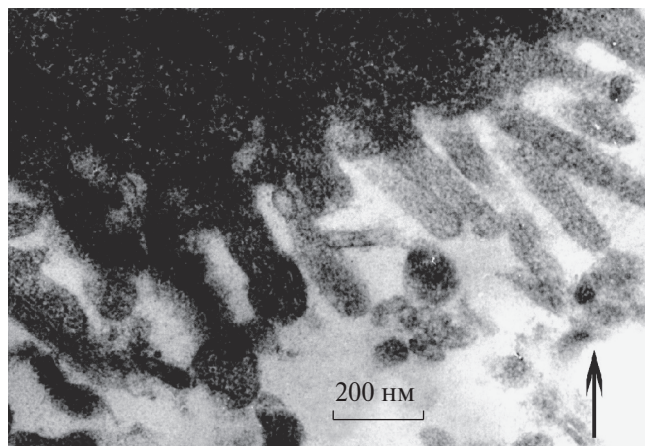


Рис. 4. Срез ворсинок на поверхности клетки МДСК после воздействия водного раствора $\text{Na}_5\text{PMo}_{10}\text{V}_2\text{O}_{40}$ (20 мкМ). Стрелкой отмечены дефектные частицы вируса гриппа А/California/07/09 с частично разрушенными и/или деформированными оболочками.

концентрациях снижение ИА недостаточно велико¹⁾.

Результаты экспериментов, в которых методом просвечивающей электронной микроскопии изучали морфологические, стимулированные ПОМ-изменения вирусных частиц (ВЧ), приведены на рис. 1–4.

В суспензии вируса гриппа А, обработанной раствором $\text{H}_5\text{PMo}_{10}\text{V}_2\text{O}_{40}$, при негативном контрастировании найдены скопления ВЧ с разрушенной (или полой) оболочкой (рис. 1). В контроле клеток МДСК без добавления ПОМ (рис. 2) спустя 24 ч после заражения вирусом гриппа А/California/07/09 видны только интактные ВЧ, почкующиеся с поверхности клеточной мембраны. В опытных образцах при обработке культуры клеток МДСК ГПКК $\text{H}_5\text{PMo}_{10}\text{V}_2\text{O}_{40}$ или солью $\text{Na}_5\text{PMo}_{10}\text{V}_2\text{O}_{40}$ наблюдались примеры скоплений деформированных и дефектных ВЧ, в частности вирусных оболочек без нуклеоида (рис. 3, 4).

Оценивая в целом все результаты, полученные нами методом просвечивающей электронной микроскопии, приходим к выводу о достаточно высокой эффективности процесса разрушения вирусных оболочек солями и кислотами Кеггина как одного из механизмов инактивации вирусов гриппа А при концентрациях $\sim \text{IC}_{50}$.

¹⁾ В соответствии с Рекомендациями Фармакологического комитета РФ противовирусный эффект препарата по показателю ИА в клеточной культуре должен быть не менее 2lg [13].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Обсудим, прежде всего, “катионный” эффект в формировании токсических свойств ПОМ, который состоит в зависимости IC_{50} от элементного состава не только анионов, что хорошо известно и широко обсуждается в литературе (см., например, [2–5]), но и катионов, что демонстрируют приведенные выше результаты. Можно аргументировать, что это общий для биохимии ПОМ-эффект, т.е. катионная зависимость может наблюдаться не только в токсических, но и в противовирусных, а также в противораковых свойствах.

Рассмотрим, например, противовирусные свойства гетерополисоединений (ГПС), в частности результаты, приведенные в табл. 4 для кислоты $\text{H}_4\text{PMo}_{11}\text{VO}_{40}$ и соли $\text{Na}_4\text{PMo}_{11}\text{VO}_{40}$. Заметим, что для этой пары ПОМ, имеющих один и тот же анион, в случае штаммов гриппа А/California/07/09 и А/PR8/34 при двукратном *снижении* концентрации ГПС наблюдается не снижение, но четырехкратное *увеличение* противовирусной активности. Это возможно, очевидно, только при условии существенно большей активности четырех атомов водорода кислоты по сравнению с активностью четырех атомов натрия соли. Естественно ожидать, что катионная зависимость биологических свойств ПОМ возможна и в других случаях. Например, в экспериментах *in vivo*, как это демонстрируют результаты наших экспериментов, примеры которых приведены в табл. 3. Или в экспериментах по изучению противораковых свойств различных ПОМ, поставленных *in vivo* и *in vitro*, как это можно установить, сопоставляя результаты работ [15–17], в которых изучались противораковые свойства ПОМ-соединений с разными катионами.

Природа катионного эффекта, который расширяет область поисков соединений ПОМ, перспективных для создания на их основе новых лекарственных препаратов, видимо, до сих пор не изучалась. Можно предположить, что влияние катионов на противовирусные, противораковые и другие биологические свойства ПОМ связано с активацией (или, напротив, инактивацией) катионами ионных каналов липидных мембран [18, 19]. Возможно и влияние фактора электролитической стабильности многозарядных анионов ПОМ, равновесный состав которых в общем слу-

чае зависит от концентрации и анионов, и катионов.

Отметим теперь общность вывода о повышении токсичности (опасности), в том числе острой токсичности ПОМ, и их противовирусных и противораковых свойств по мере увеличения количества атомов ванадия, повышающих заряд анионов. Эту зависимость естественно связать с ведущей ролью анионных зарядов в актах образования и разрушения многочисленных комплексов, идущих на различных этапах взаимодействия анионов с белками и липидами, в том числе, с холестерином, процессы истощения которого определяют скорости деструкции и вирусных, и клеточных мембран [20–22]. Процессы разрушения этих структур, как это видно из приведенных выше рисунках, существенны уже при концентрациях порядка IC₅₀.

Отдельного анализа и обсуждения заслуживает интересный факт преобладания (при концентрациях солей IC₅₀) достаточно большого (от 4- до 8-кратного) снижения показателей ГА при малых изменениях ИА (см. табл. 4). Для гриппа А значения $\Delta \lg \text{TCID}_{50}$ становятся достаточно большими (>2) лишь при высоких концентрациях солей (от 100 мкМ и выше), когда преобладает разрушение не столько вирусов, сколько клеток.

Согласно представлениям, изложенным в работах [20–22], это есть следствие достаточно большого содержания холестерина в вирусных мембранах гриппа А. Эти мембраны формируются из плотных и прочных холестериновых рафтов плазматических мембран. Обратное соотношение возможно для коронавирусов. Мембраны этих вирусов формируются в цитоплазме [23]. Количество холестерина в их мембранах существенно снижено. Деструкция, т.е. интенсивная инактивация, коронавирусов становится возможной уже при низких концентрациях ПОМ. Как следствие, здесь открывается перспектива смены терапевтической мишени для противовирусных ПОМ-препаратов, которые могут быть нацелены не на быстро мутирующие S-белки, но на консервативные липидные мембраны [24–26].

ВЫВОДЫ

Формулируя основные результаты работы, отметим следующие.

Продемонстрирован новый, “катионный”, эффект в токсических и противовирусных свойствах ГПКК и их солей, расширяющий область возможных поисков путей решения задач, связанных с оптимизации состава и строения лекарственных ПОМ-препаратов.

Обоснован практически важный вывод о не-высокой токсичности ГПКК и их солей, что позволяет отнести эти соединения к 3-му классу опасности для человека и животных.

Работа поддержана субсидией Министерства образования и науки, выделенной ФИЦ ХФ РАН на выполнение госзадания (тема № 122040500071-0).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Catalano A., Iacopetta D., Ceramella J. et al. // Molecules. 2022. V. 27. № 3. P. 616.*
2. *Rhule J.T., Hill C.L., Judd D.A. // Chem. Rev. 1998. V. 98. P. 3271.*
3. *Aureliano M. // BioChem. 2022. V. 2. № 1. P. 8.*
4. *Aureliano M., Gumerova N. I., Sciortino G. et al. // Coord. Chem. Rev. 2022. V. 454. P. 214344.*
5. *Bijelic A., Aureliano M., Rompel A. // Angew. Chem. Intern. Ed. Engl. 2019. V. 58. № 10. P. 2980.*
6. *Soares S.S., Henao F., Aureliano M. et al. // Chem. Res. Toxicol. 2008. V. 21. № 3. P. 607.*
7. *Soares S.S., Gutiérrez-Merino C., Aureliano M. // J. Inorg. Biochem. 2007. V. 101. № 5. P. 789.*
8. *Aureliano M., Ohlin C.A. // Ibid. 2014. V. 137. P. 123.*
9. *Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина, 2005.*
10. *Госстандарт РФ № 862-ст от 29.12.1999г.- Оценка биологического действия медицинских изделий. Ч. 5. Исследование на цитотоксичность: методы *in vitro*. Приложение А). Подвижные клетки. М.: Стандартинформ, 2014.*
11. *Руководство пользователя анализатора изображений АТ-50. Приложение к руководству по эксплуатации БМКИ 01.00.00.00 РЭ. М.: ЗАО БМК-ИН-ВЕСТ, 2009. с. 51.*
12. *ГОСТ 12.1.007-76 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности (с Изменениями № 1, 2). М.: Стандартинформ, 2007.*
13. *Вирусология: Методы. Под ред.: Мейхи Б. Пер. с англ. М.: Мир, 1988.*
14. *Лопатина О.А., Суетина И.А., Мезенцева М.В. и др. // Хим. физика. 2020. Т. 39. № 1. С. 52.*
15. *Yamase T., Fujita H., Fukushima K. // Inorg. Chim. Acta. 1988. V. 151. P. 15.*
16. *Dianat S., Bordbar A.-K., Tangestaninejad S. et al. // J. Inorg. Biochem. 2015. V. 152. P. 74.*

17. *Qi W., Zhang B., Qi Y. et al.* // *Molecules*. 2017. V. 22. № 9. P. 1535.
18. *Autzen H.E., Myasnikov A.G., Campbell M.G. et al.* // *Science*. 2018. V. 359. № 6372. P. 228.
19. *Bajimaya S., Frankl T., Hayashi T. et al.* // *Virology*. 2017. V. 510. P. 234.
20. Ковалевский С.А., Лопатина О.А., Гущина Е.А и др. // *Хим. физика*. 2021. Т. 40. № 11. С. 40.
21. Далидчик Ф.И., Балашов Е.М., Бакланова О.В. и др. // *Рос. нанотехнол.* 2022. Т. 17. № 2. С. 216.
22. Лопатина О.А., Далидчик Ф.И., Балашов Е.М. и др. // *Сб. тр. XIV ежегодного Всерос. конгр. по инфекционным болезням им. акад. В.И. Покровского*. М.: Медицинское маркетинговое агентство, 2022. С. 103.
23. *Chazal N., Gerlier D.* // *Microbiol. Mol Biol. Rev.* 2003. V. 67. № 2. P. 226.
24. Савинцева Л.А., Авдошин А.А., Игнатов С.К. // *Хим. физика*. 2022. Т. 41. № 6. С. 55.
25. Шишкина Л.Н., Козлов М.В., Константинова Т.В. и др. // *Хим. физика*. 2023. Т. 42. № 1. С. 28.
26. Терешкин Э.В., Терешкина К.Б., Лойко Н.Г. и др. // *Хим. физика*. 2023. Т. 42. № 5. С. 30.

CATIONIC EFFECT IN THE FORMATION OF TOXIC AND ANTIVIRAL PROPERTIES OF KEGGON HETEROPOLY COMPOUNDS

**F. I. Dalidchik¹, O. A. Lopatina², S. A. Kovalevsky¹, E. I. Isaeva²,
M. V. Bidevkina³, O. V. Baklanova², E. A. Gushchina², F. V. Lisitsyn²,
E. M. Balashov¹, M. V. Mezentseva², T. N. Pritchina²**

¹*Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

²*Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia*

³*Erismen Federal Scientific Center of Hygiene, Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Mytishchi, Russia*

*E-mail: domfdal@mail.ru

**E-mail: embalashov@yandex.ru

The Cytotoxicity indices (IC₅₀) of Keggin's phosphorus-molybdenum heteropoly acids (HPCAs) and their sodium and potassium salts on dog kidney cells (MDSC) were determined. The antiviral activity of these compounds against topical strains of influenza A (H3N2 and H1N1) was revealed. The dependence of the biological properties of polyoxometalates (POMs) on the elemental composition of their molecules has been confirmed. It has been shown that when some of the molybdenum atoms are replaced by vanadium atoms, HPCA and their salts acquire higher cytotoxicities, which increase monotonically as the number of substitutions increases. For the first time, the dependence of the biological activity of HPCA and their salts on the mass of cations has been established and interpreted. In vivo (on white outbred mice) the values of semi-lethal doses (DL₅₀) of these compounds were established. For aqueous solutions of sodium and potassium salts of GPCA in a wide range of concentrations (from 0.05 μM to 15 μM), the values of the toxicity index (It) were determined on the model of motile cells. It has been established that GPCA and their salts are classified as moderately dangerous toxic substances and have selective antiviral activity, which at low concentrations (less than 15 μM) for influenza A strains is manifested mainly by a decrease in hemagglutination activity (HA).

Keywords: polyoxometalates, heteropolyacids, influenza viruses, transmission electron microscopy, toxicity, antiviral activity.

REFERENCES

1. Catalano A., Iacopetta D., Ceramella J. et al. // *Molecules*. 2022. V. 27. № 3. P. 616.
2. Rhule J.T., Hill C.L., Judd D.A. // *Chem. Rev.* 1998. V. 98. P. 3271.
3. Aureliano M. // *BioChem.* 2022. V. 2. № 1. P. 8.
4. Aureliano M., Gumerova N. I., Sciortino G. et al. // *Coord. Chem. Rev.* 2022. V. 454. P. 214344.
5. Bijelic A., Aureliano M., Rompel A. // *Angew. Chem. Intern. Ed. Engl.* 2019. V. 58. № 10. P. 2980.
6. Soares S.S., Henao F., Aureliano M. et al. // *Chem. Res. Toxicol.* 2008. V. 21. № 3. P. 607.
7. Soares S.S., Gutierrez-Merino C., Aureliano M. // *J. Inorg. Biochem.* 2007. V. 101. № 5. P. 789.
8. Aureliano M., Ohlin C.A. // *Ibid.* 2014. V. 137. P. 123.
9. Khabriev R.U. Guidelines for the experimental (pre-clinical) study of new pharmacological substances. M.: Medicine, 2005.
10. State Standard of the Russian Federation No. 862-st dated December 29, 1999. Evaluation of the biological effect of medical devices. Part 5. Cytotoxicity testing: in vitro methods. Annex A) Mobile cells.
11. AT-50 Image Analyzer User Manual. Appendix to the operating manual for BMKI 01.00.00.00 RE.M.ZAO BMK-INVEST, 2009. p.51.
12. National standard of the Russian Federation 12.1.007-76 Occupational safety standards system (SSBT). Harmful substances. Classification and general safety requirements (with Amendments № 1, 2).
13. Virology: A practical approach. Ed. B. Mahy. Publisher: Oxford University Press, 1985.
14. Lopatina O.A., Suetina I.A., Mezentseva M.V. et al. // *Russ. J. Phys. Chem. B.* 2020. V. 14. № 1. P. 81.
15. Yamase T., Fujita H., Fukushima K. // *Inorg. Chim. Acta.* 1988. V. 151. P. 15.
16. Dianat S., Bordbar A.-K., Tangestaninejad S. et al. // *J. Inorg. Biochem.* 2015. V. 152. P. 74.
17. Qi W., Zhang B., Qi Y. et al. // *Molecules*. 2017. V. 22. № 9. P. 1535.
18. Autzen H.E., Myasnikov A.G., Campbell M.G. et al. // *Science*. 2018. V. 359. № 6372. P. 228.
19. Bajimaya S., Frankl T., Hayashi T. et al. // *Virology*. 2017. V. 510. P. 234.
20. Kovalevskiy S.A., Lopatina O.A., Gushchina E.A. et al. // *Russ. J. Phys. Chem. B.* 2021. V. 15. № 6. P. 1019.

21. *Dalidchik F.I., Balashov E.M., Baklanova O.V. et al.* // Nanobiotechnology Reports. 2022. V. 17. № 2. P. 193.
22. *Lopatina O.A., Dalidchik F.I., Balashov E.M. et al.* // Infectious diseases in the modern world: evolution, current and future threats: Proceedings of the XIV Annual All-Russian Congress on Infectious Diseases named after academician V.I. Pokrovsky // Moscow, March 28–30, 2022. M.: Medical Marketing Agency, 2022. P. 103.
23. *Chazal N., Gerlier D.* // Microbiol. Mol Biol. Rev. 2003. V. 67. № 2. P. 226.
24. *Savintseva L.A., Avdoshin A.A., Ignatov S.K.* // Russ. J. Phys. Chem. B. 2022. V. 16. № 3. P. 445.
25. *Shishkisha L.N., Kozlov M.V., Konstantinova T.V. et al.* // Russ. J. Phys. Chem. B. 2023. V. 17. № 1. P. 141.
26. *Tereshkin E.V., Tereshkina K.B., Loiko N.G. et al.* // Russ. J. Phys. Chem. B. 2023. V. 17. № 4. P. 564.

УДК 544.77

ГЕНЕРАЦИЯ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА ПРИ ФОТОВОЗБУЖДЕНИИ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

© 2024 г. К. С. Ершов¹, С. В. Валиулин^{1,2}, А. П. Пыряева^{1,3*}¹Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского Сибирского отделения
Российской академии наук, Новосибирск, Россия²Новосибирский государственный педагогический университет, Новосибирск, Россия³Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*E-mail: pyryaeva@kinetics.nsc.ru

Поступила в редакцию 28.11.2022;

после доработки 05.12.2022;

принята в печать 20.12.2022

Исследована ИК-люминесценция суспензии стабилизированных в дистиллированной воде наночастиц серебра, возникающая при фотовозбуждении в полосе поверхностного плазмонного резонанса. Наблюдаемая короткоживущая люминесценция со спектральным максимумом при ≈ 1300 нм отнесена к люминесценции молекул синглетного кислорода. Предполагается, что образование синглетного кислорода происходит в два этапа в результате трехфотонного процесса. Сначала происходит однофотонное возбуждение поверхностного плазмонного резонанса наночастицы с образованием адсорбированной на ее поверхности молекулы супероксид-аниона, от которой в результате поглощения еще двух квантов того же лазерного импульса отщепляется электрон, в результате чего и появляется молекула синглетного кислорода. При длительном УФ-облучении исследуемая суспензия перестает быть фотостабильной, происходит выпадение темного осадка, появление которого может быть связано с нарушением стерической стабильности наночастиц серебра. В итоге происходит более эффективная адсорбция молекул кислорода и супероксид-аниона на поверхности наночастиц с последующим образованием оксида серебра.

Ключевые слова: наночастицы серебра, фотовозбуждение, поверхностный плазмонный резонанс, синглетный кислород, люминесценция, арговит.

DOI: 10.31857/S0207401X24020114 EDN: WHBIOL

ВВЕДЕНИЕ

Наночастицы (НЧ) серебра привлекают внимание все большего числа исследователей благодаря своим специфическим (по сравнению со свойствами макрочастиц серебра) физическим, химическим и в особенности оптическим свойствам [1]. Наночастицы серебра обладают сильным поглощением и рассеянием света в ближней УФ- и видимой областях спектра благодаря явлению поверхностного плазмонного резонанса, природа которого обусловлена колебаниями электронов в зоне проводимости металлических наночастиц, возникающими в результате взаимодействия электронов с электромагнитным полем падающего излучения [2]. Благодаря своим уникальным свойствам плазмонные НЧ металлов, в том числе серебра, находят применение в широком спектре приложений: спектроскопии, создании сенсоров, фотодинамической и фототермальной терапии и других областях [2—5]. Возбуждение металлических нано-

частиц в полосе плазмонного резонанса может облегчать протекание ряда химических реакций и увеличивать эффективность некоторых фотопроцессов [4], в том числе усиливать фотосенсибилизацию молекул синглетного кислорода органическими молекулами, находящимися вблизи металлических наночастиц [6]. А недавние исследования показывают, что фотовозбуждение НЧ серебра в полосе поверхностного плазмонного резонанса может приводить к образованию активных частиц кислорода (супероксид-аниона, гидроксильного радикала и синглетного кислорода) даже в отсутствие сторонних фотосенсибилизаторов [4, 5, 7].

Одним из наиболее распространенных и простых способов генерации синглетного кислорода является фотосенсибилизация с использованием органических или органо-металлических красителей. Однако ввиду ряда недостатков органических фотосенсибилизаторов, таких как, например, низкая фотостабильность, актуальной

задачей остается поиск новых фотосенсибилизаторов с высокой эффективностью образования синглетного кислорода, большим коэффициентом поглощения и хорошей фотостабильностью [5]. Таким новым классом фотосенсибилизаторов могут выступать НЧ серебра, возбуждаемые в полосе поверхностного плазмонного резонанса, так как они более устойчивы к фотодеградациии, обладают меньшей цитотоксичностью, имеют на 3–5 порядков более высокие коэффициенты экстинкции, чем органические красители [7], а также перестраиваемую полосу поглощения поверхностного плазмонного резонанса в зависимости от своей формы, размера, материала, а также свойств окружения [3, 8, 9]. Таким образом, использование процесса фотовозбуждения НЧ серебра в полосе плазмонного резонанса для генерации синглетного кислорода потенциально открывает ряд перспектив развития фотодинамической и фототермальной терапии онкологических заболеваний [5]. А установление точных механизмов генерации синглетного кислорода при фотовозбуждении плазмонных НЧ серебра имеет важное значение с точки зрения рационального дизайна наночастиц и их использования в тех приложениях, где необходима генерация синглетного кислорода [5].

Тем не менее количественное описание механизма образования синглетного кислорода при фотовозбуждении металлических наночастиц затруднено. В ряде исследований детально описаны механизмы образования синглетного кислорода при фотовозбуждении полупроводниковых наночастиц [10, 11], однако НЧ серебра имеют фундаментально другую электронную структуру, которая до сих пор не была детально сопоставлена с процессами образования активных частиц кислорода [5].

В ряде исследований [4, 5, 12] был качественно описан механизм активации кислорода и образования активных частиц кислорода при фотовозбуждении поверхностного плазмонного резонанса различных НЧ металлов, в том числе серебра. Авторы работы [4] предполагают, что в результате возбуждения поверхностного плазмонного резонанса сначала происходит передача электрона от наночастицы серебра или золота на молекулярный кислород $^3\text{O}_2$, находящийся в окружающем частицу пространстве, в результате чего происходит образование супероксид-

аниона O_2^- , который затем прочно адсорбируется на поверхности наночастицы. В то же время из-за колебания свободных электронов в условиях поверхностного плазмонного резонанса локальная температура поверхности наночастицы растет и приводит к образованию оксидов или гидроксидов золота и серебра. Несмотря на то, что описанный выше процесс предполагается основным, в работе также отмечается, что образование супероксид-аниона может приводить и процессам образования синглетного кислорода.

В работе [12] предложено качественное описание двух механизмов образования синглетного кислорода при облучении наночастиц золота непрерывным и импульсным лазерным излучением в полосе плазмонного резонанса. Как предложено в [12], образование синглетного кислорода происходит в результате взаимодействия плазмонов и горячих электронов с молекулярным кислородом, однако в случае облучения наночастиц золота импульсным излучением дополнительно происходит экстремальный нагрев наночастиц, приводящий к их фрагментации и росту термоионной электронной эмиссии.

В настоящей работе исследуется процесс образования синглетного кислорода при фотовозбуждении наночастиц серебра, стабилизированных поливинилпирролидоном в дистиллированной воде. Образование синглетного кислорода детектируется по его ИК-люминесценции. Предложено описание возможного механизма исследуемого процесса.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Эксперименты проводили с использованием препарата “Арговит” производства ООО НПЦ “Вектор-Вита” (Россия), который представляет собой 1%-ную суспензию наночастиц серебра, стабилизированных низкомолекулярным поливинилпирролидоном (ПВП) марки К-17 молекулярной массой $(12\,600 \pm 2700)$ Да, произведенного в Китае, и гидролизатом коллагена (ГК) в дистиллированной воде. Содержание ПВП и гидролизата коллагена в препарате “Арговит” составляло соответственно 5% и 10%, концентрация серебра в суспензии — 10 мг/мл. В ряде экспериментов использовали растворы чистого ПВП марки К-17 (Китай) и чистого гидролизата коллагена (Россия) в дистиллированной воде.

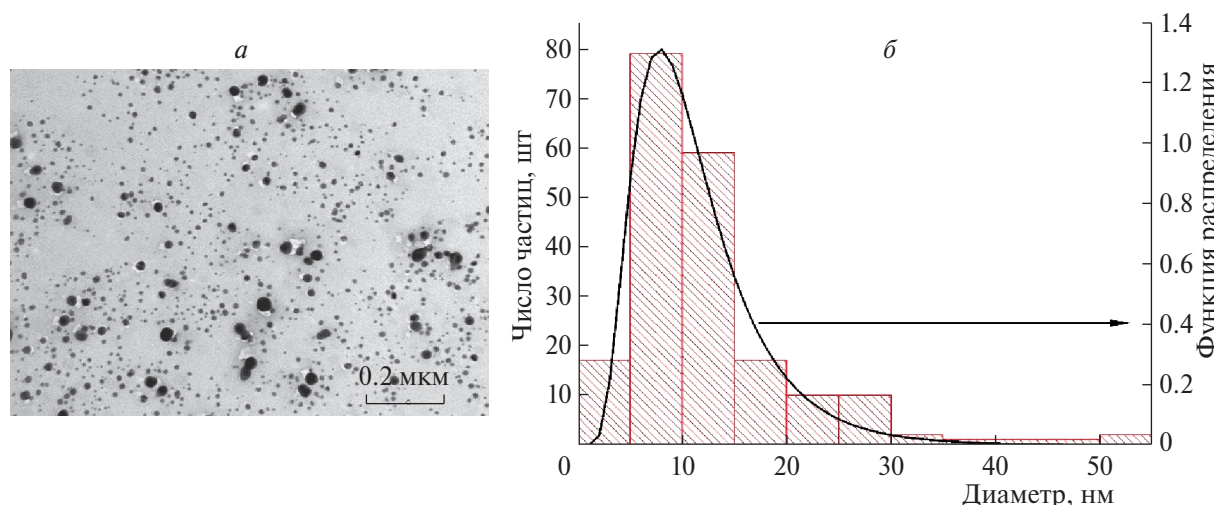


Рис. 1. *a* — Типичное ПЭМ-изображение; и *б* — полученная из ПЭМ-изображений гистограмма распределения по размерам наночастиц серебра, содержащихся в суспензии препарата “Арговит”. Сплошная линия — аппроксимация функцией (1) с $d_0 = 10$ нм и $\sigma_g = 1.65$.

Определение размера и формы НЧ серебра, содержащихся в суспензии препарата “Арговит”, осуществляли с помощью метода просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Для этого каплю суспензии объемом 0.4 мкм помещали на медные ПЭМ-сетки, покрытые формваром, и после испарения воды исследовали на микроскопе JEM-100SX (производства компании JEOL (Japan)). Для определения размера НЧ серебра каждая частица на полученных ПЭМ-изображениях вписывалась в прямоугольник наименьшего возможного размера, а диаметр частицы рассчитывался как $0.5\sqrt{S}$, где S — площадь прямоугольника. Спектры поглощения исследуемых суспензий и растворов сняты с помощью УФ-ВИД-спектрофотометра UV-1800 производства компании Shimadzu (Japan).

Экспериментальная установка для регистрации ИК-люминесценции схожа с той, что была описана ранее [10], и включает в себя лазерный источник УФ-излучения, кювету с исследуемым веществом, ИК-детектор люминесценции, монохроматор и осциллограф. Исследуемое вещество (суспензия НЧ серебра, дистиллированная вода или растворы полимеров) в кварцевой кювете облучалось излучением третьей гармоники Nd:YAG-лазера модели LS-2137U производства компании LOTIS ТП (Беларусь), работающего на длине волны 355 нм с длительностью импульса 7 нс на частоте 10 Гц. Лазерное излучение фокусировалось на кювету парой ци-

линдрических линз таким образом, чтобы фокус был расположен вне кюветы, а сечение лазерного луча в кювете с исследуемым веществом имело овальную форму с площадью около 5×16 мм². Основная гармоника лазерного излучения отделялась с помощью призмы Пеллин–Брока и светофильтра УФС-1. Энергия лазерного излучения на входе в кювету регистрировалась с помощью измерителя энергии компании Gentec-EO (USA) серии QE25SP-S-MT-D0 и варьировалась с помощью набора УФ-ВИД-светофильтров в пределах от 19 до 31 мДж. В ходе экспериментов в кювете происходило постоянное перемешивание суспензии или раствора с помощью магнитной мешалки.

Возбуждаемая лазером ИК-люминесценция фокусировалась сферической линзой (фокусное расстояние — 2.5 см) на входную щель монохроматора M266-IV производства компании Solar Laser Systems (Беларусь) и регистрировалась ИК-фотодетектором на выходе из монохроматора. Ширины входной и выходной щелей составляли 2 мм, относительная апертура — 1 : 3.8, дисперсия — 5.7 нм/мм на длине волны 1.2 мкм, дифракционная решетка — 600 штрихов/мм. В качестве фотодетектора использовали широкополосный ИК-фотодетектор на основе модели G12180-250A InGaAs-фотодиода компании Hamamatsu (Japan), описанный в работе Гольдорта с соавт. [13]. Сигналы люминесценции регистрировались в результате усреднения по последовательности из 128–8192 импульсов.

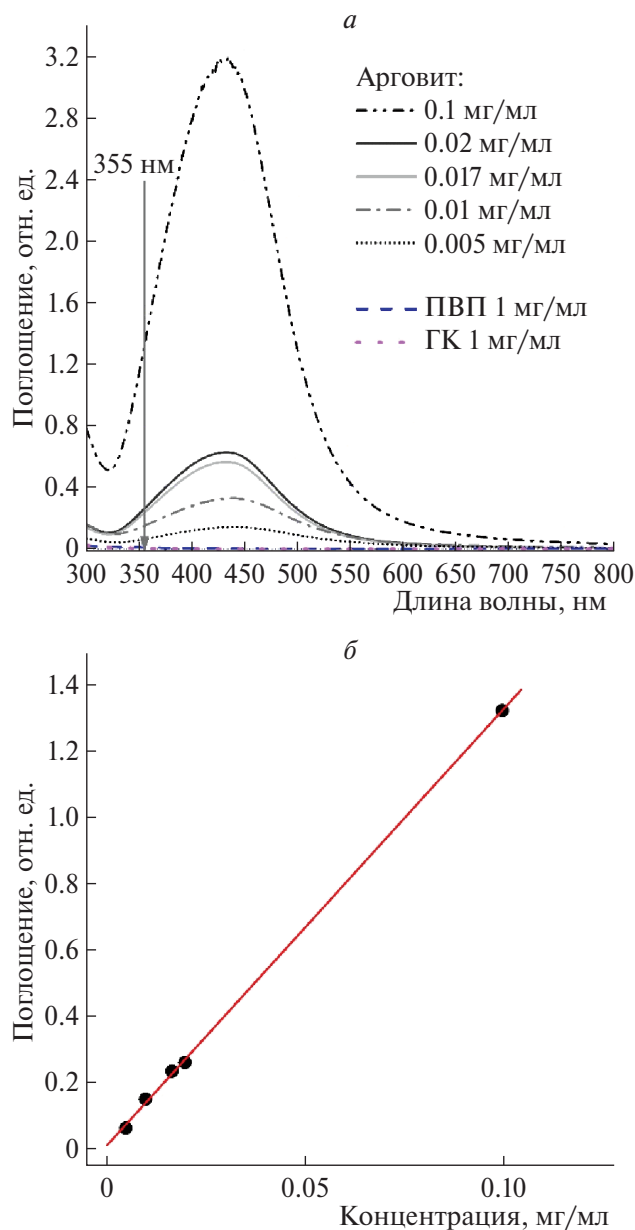


Рис. 2. *а* — Спектры поглощения чистого ПВП, чистого ГК и суспензии препарата “Арговит” при разных концентрациях наночастиц серебра; *б* — зависимость поглощения суспензии препарата “Арговит” на длине волны 355 нм от концентрации наночастиц серебра.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Морфология и спектральные свойства наночастиц серебра в суспензии препарата “Арговит”

На рис. 1а приведено типичное ПЭМ-изображение наночастиц серебра, содержащихся в суспензии препарата “Арговит”. Как видно из этого рисунка, в суспензии содержатся отдельные частицы, гистограмма распределения по размерам которых приведена на рис. 1б. Гистограмма хо-

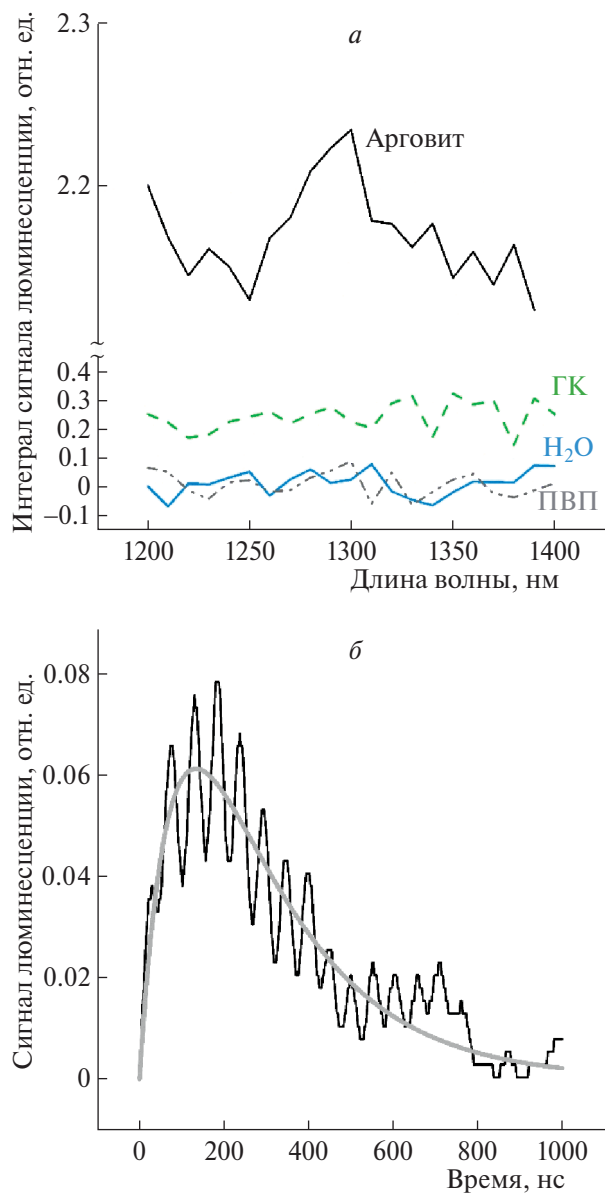


Рис. 3. *а* — Спектры люминесценции, зарегистрированные в результате УФ-фотовозбуждения суспензии препарата “Арговит” (5 мг/мл, 25 мДж, усреднение по 16 спектрам), ПВП (5 мг/мл, 30 мДж, усреднение по 4 спектрам), гидролизата коллагена (ГК, 100 мг/мл, 30 мДж, усреднение по 8 спектрам) и дистиллированной воды (30 мДж, усреднение по 4 спектрам); *б* — сигнал люминесценции, зарегистрированный в суспензии препарата “Арговит” на длине волны 1300 нм (энергия возбуждающего излучения — 25 мДж, усреднение по 8192 импульсам); серой линией показана аппроксимация сигнала люминесценции, соответствующая кинетике тушения второго порядка [14].

рошо аппроксимируется логарифмически нормальной функцией $f(d)$:

$$f(d) = \frac{1}{\sqrt{2\pi d \ln \sigma_g}} \exp \left[-\frac{1}{2} \frac{[\ln(d/d_0)]^2}{(\ln \sigma_g)^2} \right],$$

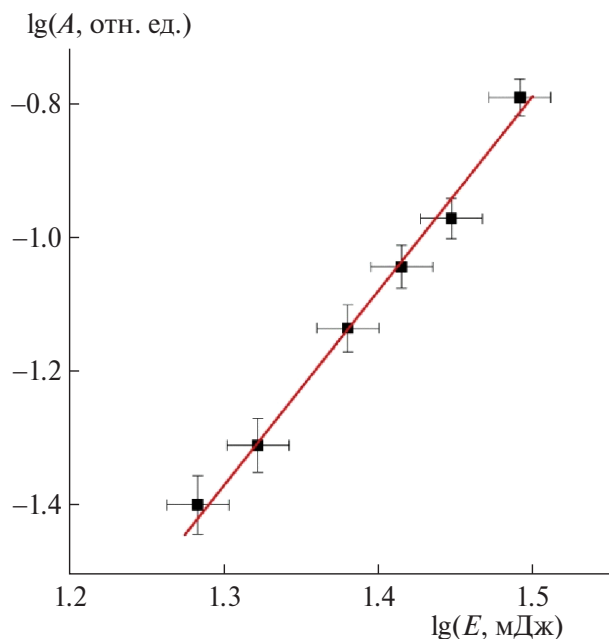


Рис. 4. Зависимость интеграла сигнала люминесценции A , зарегистрированного на длине волны 1300 нм при фотовозбуждении суспензии препарата “Арговит”, от энергии возбуждающего излучения в двойных логарифмических координатах.

где σ_g — стандартное геометрическое отклонение, d_0 — средний геометрический диаметр частиц. Таким образом, суспензия препарата “Арговит” состоит из одиночных НЧ серебра с размерами преимущественно в диапазоне 5–14 нм.

На рис. 2а приведены спектры поглощения, зарегистрированные для суспензии препарата “Арговит”, чистого ПВП и чистого гидролизата коллагена. Из представленных спектров видно, что ПВП и ГК практически не поглощают излучение на длине волны 355 нм. А в спектре поглощения суспензии присутствует широкая полоса поглощения с максимумом около 420 нм, соответствующая полосе поверхностного плазмонного резонанса наночастиц серебра. Интенсивность полосы поглощения суспензии линейно растет с увеличением концентрации НЧ серебра (рис. 2б) и по своей форме и положению хорошо согласуется со спектрами поглощения поверхностного плазмонного резонанса, зарегистрированными для сферических НЧ серебра в тонких пленках с размерами от 2 до 10 нм [8].

На рис. 3а приведены спектры люминесценции, зарегистрированные в результате УФ-фотовозбуждения суспензии препарата “Арговит”, чистого ПВП и дистиллированной воды импульсным ла-

зерным излучением на длине волны 355 нм. Спектры записаны с шагом в 10 нм, а каждая точка соответствует интегралу временного профиля сигнала люминесценции (рис. 3б), усредненного по 8192 импульсам. Из рис. 3а видно, что при фотовозбуждении воды и ПВП отсутствует спектр люминесценции в диапазоне длин волн 1200–1400 нм, в то время как при фотовозбуждении препарата “Арговит” наблюдается полоса люминесценции с максимумом при ≈ 1300 нм.

На рис. 4 показана зависимость интеграла сигнала люминесценции при 1300 нм, зарегистрированного в суспензии препарата “Арговит”, от энергии лазерного излучения в двойных логарифмических координатах. Тангенс угла наклона прямой аппроксимации исследуемой зависимости в пределах погрешности равен трем, откуда следует, что люминесценции предшествует трехфотонное поглощение.

Образование синглетного кислорода $^1\text{O}_2$

Полученные результаты позволяют отнести зарегистрированный спектр люминесценции с максимумом при ≈ 1300 нм и сигнал люминесценции (рис. 3) к фосфоресценции молекул синглетного кислорода $\text{O}_2(^1\Delta_g)$. Спектр люминесценции, приведенный на рис. 3а, сдвинут в красную область по сравнению с фосфоресценцией синглетного кислорода в газе с максимумом при ≈ 1269 нм. Такой батохромный сдвиг спектра люминесценции синглетного кислорода наблюдался в различных конденсированных средах, а наибольшие значения длин волн, при которых люминесценция была максимальной, составляли 1287 нм для синглетного кислорода, адсорбированного на фуллерене [15], и 1300 нм для синглетного кислорода, адсорбированного на наночастицах TiO_2 в дистиллированной воде [10]. Можно предположить, что из-за одинаковых значений батохромного сдвига спектры люминесценции, зарегистрированные при УФ-фотовозбуждении суспензии наночастиц серебра (рис. 3а) и суспензии наночастиц TiO_2 [10] при фотовозбуждении лазерным излучением на длине волны 355 нм, имеют схожую природу. То есть наблюдаемая люминесценция относится к молекулам синглетного кислорода, адсорбированного на поверхности наночастиц серебра, а батохромный сдвиг обусловлен влиянием по-

верхности металлических наночастиц на молекулы кислорода.

Сигнал люминесценции (рис. 3б) имеет ширину около 400 нс на полувысоте, что меньше, чем ширина аппаратной функции используемого ИК-фотодетектора при его максимальном временном разрешении (1 МГц) [13], поэтому из полученных временных профилей сигнала люминесценции невозможно точно установить время жизни синглетного кислорода. Однако можно заключить, что время жизни принимает значение < 1 мкс. Время жизни синглетного кислорода в дистиллированной воде составляет (3.7 ± 0.4) мкс [16], однако при фотовозбуждении суспензии TiO_2 в дистиллированной воде наблюдалось сокращение времени люминесценции синглетного кислорода до величины, меньшей чем 2 мкс [10]. Сокращение времени люминесценции при фотовозбуждении суспензии TiO_2 обусловлено тем, что молекулы синглетного кислорода образуются на поверхности наночастиц [10]. Наблюдаемое сокращение времени люминесценции синглетного кислорода при фотовозбуждении суспензии НЧ серебра, вероятно, также обусловлено рождением молекул синглетного кислорода на поверхности наночастиц серебра. Тут стоит отметить, что присутствие стабилизаторов в суспензии НЧ серебра (ПВП и гидролизата коллагена) не должно приводить к сокращению времени люминесценции синглетного кислорода, так как время его жизни при взаимодействии с ПВП и с гидролизатом коллагена значительно превышает время жизни синглетного кислорода в дистиллированной воде [17, 18].

Величина сигнала люминесценции синглетного кислорода при фотовозбуждении суспензии НЧ серебра в воде зависит от энергии лазерного импульса, что проиллюстрировано на рис. 4. Данная зависимость хорошо аппроксимируется прямой с тангенсом угла наклона, равным 2.9 ± 0.1 , что соответствует трехфотонной природе регистрируемой ИК-люминесценции.

Схожий трехфотонный процесс наблюдался при регистрации временной зависимости сигнала люминесценции синглетного кислорода, образованного при фотовозбуждении наночастиц TiO_2 в дистиллированной воде [10]. Авторы работы [10] предполагают, что синглетный кислород образуется в процессе фотоотщепления электрона от супероксид-аниона, адсорбированного на поверх-

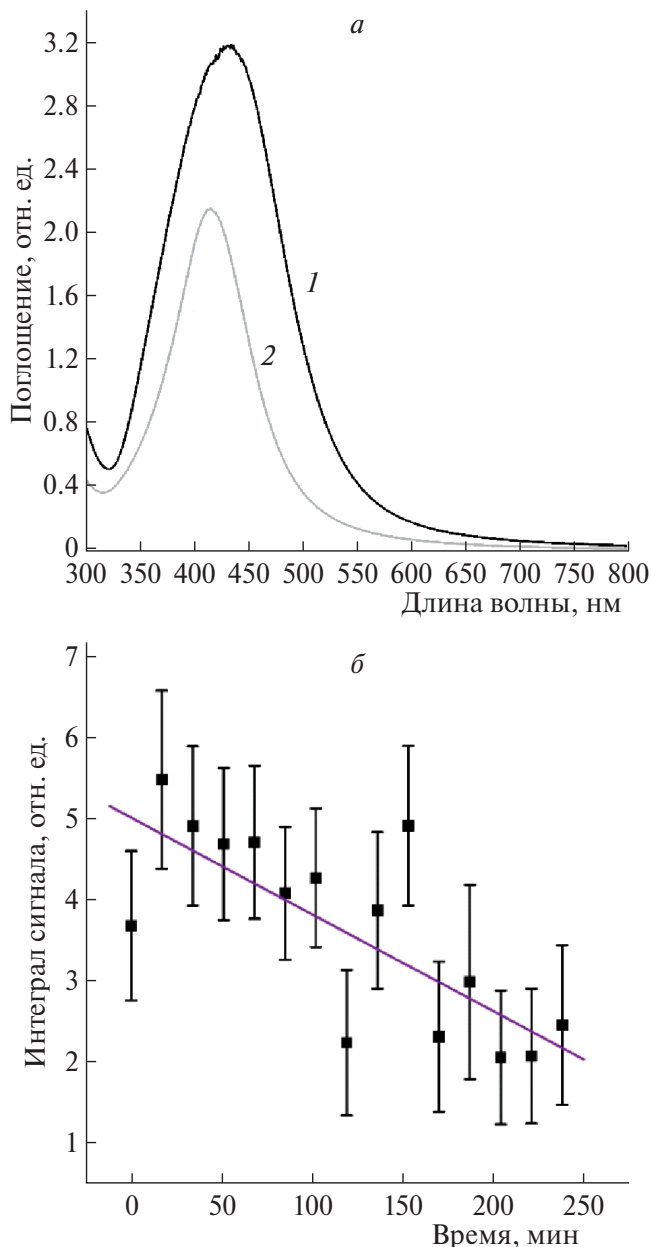


Рис. 5. *a* — Спектр поглощения суспензии препарата “Арговит” до УФ-облучения (1) и после УФ-облучения в течение 2 ч (2) (исходная концентрация наночастиц серебра — 0.1 мг/мл); *б* — временная зависимость интеграла сигнала люминесценции в спектральном диапазоне от 1200 до 1400 нм при фотовозбуждении суспензии на длине волны 355 нм (каждый сигнал усреднялся по 128 импульсам, энергия возбуждающего излучения — 30 мДж).

ности наночастицы, одним и тем же лазерным импульсом: $(\text{O}_2^-)_{\text{ads}} + nh\nu \rightarrow ({}^1\text{O}_2)_{\text{ads}} + \bar{e}$, причем необходимое число фотонов n зависит от свойств среды, в которой находятся наночастицы TiO_2 , и равняется двум для дистиллированной воды вследствие увеличения энергии сольватации су-

пероксид-аниона в воде. Отщепленный электрон может в дальнейшем рекомбинировать с дыркой или с растворенным в воде кислородом.

В работе [19] исследовалась адсорбция молекулярного кислорода на пленках серебра и было установлено, что при комнатной температуре адсорбция кислорода является слабой и составляет менее 1% от покрытия всей поверхности. При этом в работе [4] предполагается, что в результате фотовозбуждения НЧ серебра в газовой фазе в полосе поверхностного плазмонного резонанса происходит передача электрона от наночастицы молекуле кислорода в основном состоянии $^3\text{O}_2$, находящейся в окружающем наночастицу воздухе, с последующим образованием супероксид-аниона O_2^- , который, в свою очередь, эффективно адсорбируется на поверхности наночастиц. При фотовозбуждении НЧ серебра, стабилизированных полимерами, адсорбция супероксид аниона на поверхности наночастиц серебра может быть затруднена. Однако нельзя исключать, что перед проведением стабилизации на НЧ серебра уже были сорбированы молекулы кислорода или некоторая концентрация молекулярного кислорода осталась в пространстве между наночастицей и стабилизирующим полимером. В этом случае первый квант возбуждающего излучения может приводить к образованию молекул супероксид-аниона, уже адсорбированных или адсорбируемых из пространства между наночастицей и полимером. А поглощение еще двух квантов может запускать процесс фотовозбуждения супероксид-аниона с отщеплением электрона и образованием синглетного кислорода, описанный в работе [10]. Предложенный механизм подтверждает наблюдаемую трехквантовую природу исследуемого фотопроцесса.

Тут стоит отметить, что суспензия препарата “Арговит” не является фотостабильной. На рис. 5а приведены спектры поглощения суспензии препарата “Арговит” до и после облучения в течение 2 ч лазерным излучением на длине волны 355 нм с постоянным перемешиванием суспензии магнитной мешалкой. На рис. 5б приведена зависимость интеграла сигнала люминесценции от времени облучения. Видно, что с увеличением времени облучения падает интенсивность полосы плазмонного резонанса, а ее пик слегка смещается в синюю область. Синий сдвиг полосы плазмонного резонанса может быть связан с уменьшением

размеров НЧ серебра [8], которое в свою очередь, может быть обусловлено двумя факторами. Во-первых, частичным растворением НЧ серебра в воде, что становится заметным уже после облучения в течение 2 ч УФ-излучением на длине волны 365 нм [5], а во-вторых, фрагментацией наночастиц в результате их экстремального нагрева при воздействии импульсного лазерного излучения с длиной волны в полосе плазмонного резонанса (данное явление обсуждалось в работе [12] для НЧ золота). При этом после 4 ч УФ-облучения в исходно прозрачной суспензии препарата “Арговит” образуется темная, заметная невооруженным глазом взвесь, со временем оседающая на дно кюветы в отсутствие перемешивания.

Относительно немного известно о процессах фототрансформации полимерных покрытий металлических наночастиц. Так, известно, что ПВП, покрывающий НЧ серебра, деградирует под действием длительного УФ-излучения, но остается открытым вопрос о состоянии покрытия поливинилпирролидоном поверхности наночастиц после УФ-облучения [20]. Можно предположить, что образующаяся темная взвесь является оксидом серебра Ag_2O , образующимся в результате снижения стерической стабильности НЧ серебра из-за фотодеградации ПВП на поверхности наночастиц при их длительном облучении УФ-излучением [20]. Снижение стерической стабильности наночастиц может увеличивать эффективность адсорбции молекул кислорода и супероксид-аниона на поверхности наночастицы, что, в свою очередь, может приводить к активизации процесса образования оксида серебра [4]. Так как в течение двухчасового УФ-облучения не наблюдалась заметная фотодеградация ПВП [21] и коллагена [22] в растворе и на поверхности наночастиц [20], для исключения влияния процессов фотодеградации присутствующих в суспензии ПВП и гидролизата коллагена во всех экспериментах по регистрации ИК-люминесценции длительность УФ-облучения суспензии препарата “Арговит” составляла не более 2 ч. При измерении зависимости интеграла сигнала от энергии лазерного импульса перед каждым новым измерением суспензия заменялась на исходную, не подвергавшуюся облучению.

Образование синглетного кислорода при фотооблучении препарата “Арговит” в полосе плазмонного резонанса НЧ серебра, входящих в его состав, делает его перспективным для фототера-

пии, так как сам препарат не является токсичным, разрешен для применения в медицинских целях и ко всему прочему также показал эффективность в борьбе с рядом инфекционных заболеваний [23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Зарегистрирована ИК-люминесценция с максимумом вблизи 1300 нм при импульсном лазерном облучении на длине волны 355 нм препарата “Арговит”, представляющего собой 1%-ную суспензию наночастиц серебра со средним геометрическим размером 10 нм в дистиллированной воде, стабилизированных ПВП (5%) с добавлением гидролизата коллагена (10%). Возбуждение лазерного излучения происходит на длине волны в полосе поглощения поверхностного плазмонного резонанса исследуемых НЧ серебра. Зарегистрированная ИК-люминесценция отнесена к люминесценции молекул синглетного кислорода, адсорбированных на поверхности наночастиц серебра, что подтверждается наблюдаемым батохромным спектральным сдвигом люминесценции по сравнению со спектром люминесценции синглетного кислорода в газе и сокращением времени люминесценции. Наблюдаемая зависимость сигнала люминесценции от энергии лазерного импульса указывает на трехфотонную природу люминесценции, регистрируемой при фотооблучении суспензии НЧ серебра в воде. Можно полагать, что в результате фотовозбуждения наночастиц серебра в полосе поверхностного плазмонного резонанса сперва происходит поглощение одного фотона. В результате этого вначале происходит передача электрона от наночастицы молекуле кислорода в основном состоянии $^3\text{O}_2$, адсорбированной на поверхности наночастицы или находящейся в непосредственной близости к ней, с последующим образованием супероксиданиона O_2^- на поверхности наночастицы. А затем реализуется процесс двухфотонного фотовозбуждения молекул супероксид-аниона с отщеплением электрона и образованием молекулы синглетного кислорода.

Полученные результаты позволяют заключить, что процесс образования синглетного кислорода при фотовозбуждении суспензии наночастиц серебра определяется временем жизни адсорбированного на поверхности супероксид-аниона и спектром фотоотщепления электрона от супероксида аниона в исследуемой среде. Для уточнения

характера влияния поверхности наночастиц серебра на процесс фотообразования синглетного кислорода требуются дополнительные исследования.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российским научным фондом (грант № 22-23-00921).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhang Y.J. // *Plasmonics*. 2011. V. 6. P. 393.
2. Willets K.A., Duyn R.P., // *Annu. Rev. Phys. Chem.* 2007. V. 58. P. 267.
3. Vankayala R., Kuo C.-L., Sagadevan A. et al. // *J. Mater. Chem. B*. 2013. V. 1. P. 4379.
4. Huang Y.-F., Zhang M., Zhao J.-M. et al. // *Angewandte Chemie*. 2014. V. 126. P. 2385.
5. Zhang W., Li Y., Niu J. et al. // *Langmuir*. 2013. V. 29. P. 4647.
6. Конев Д.В., Тихонов А.П., Роговина С.З. и др. // *Хим. физика*. 2013. Т. 32. № 8. С. 72.
7. Vankayala R., Sagadevan A., Vijayaraghavan P. et al. // *Angewandte Chemie*. 2011. V. 123. P. 10828.
8. Mogensen K.B., Kneipp K. // *J. Phys. Chem. C*. 2014. V. 118. P. 28075.
9. Западский Б.И., Котова А.В., Матвеева И.А. и др. // *Хим. физика*. 2010. Т. 29. № 10. С. 87.
10. Demyanenko A.V., Bogomolov A.S., Dozmorov N.V. et al. // *J. Phys. Chem. C*. 2019. V. 123. P. 2175.
11. Nosaka Y., Daimon T., Nosaka A. Y. et al. // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2004. V. 6. P. 2917.
12. Pasparakis G., // *Small*. 2013. V. 9. P. 4130.
13. Гольдорт В.Г., Демьяненко А.В., Богомолов А.С. и др. // *ПТЭ*. 2019. Т. 2. С. 114.
14. Trushina A.P., Goldort V.G., Kochubei S.A. et al. // *Chem. Phys. Lett.* 2010. V. 485. P. 11.
15. Bagrov I.V., Kiselev V.M., Kislyakov I.M. et al. // *Optics Spectroscopy*. 2015. V. 118. P. 417.
16. Bregnhøj M., Westberg M., Jensen F. et al. // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2016. V. 18. P. 22946.
17. Shiller K., Muller F.V. // *Polym. Intern.* 1991. V. 25. P. 19.
18. Ryu A., Naru E., Arakane K. et al. // *Chem. Pharm. Bull.* 1997. V. 45. P. 1243.
19. Pettenkofer C., Pockrand I., Otto A. // *Surf. Sci.* 1983. V. 135. P. 52.
20. Louie S.M., Gorham J.M., Tan J. et al. // *Environ. Sci.: Nano*. 2017. V. 4. P. 1866.
21. Kowalonek J., Kaczmarek H., // *Europ. Polym. J.* 2010. V. 46. P. 345.
22. Реброва Г.А., Василевский В.К., Ребров Л.Б. и др. // *Биомед. химия*. 2007. Т. 53. С. 442.
23. Бурмистров В.А., Богданчикова Н.Е., Гюсан А.О. и др. // *Сиб. науч. мед. журн.* 2021. Т. 41. С. 4.

SINGLET OXYGEN GENERATION VIA SILVER NANOPARTICLES UV-PHOTOEXCITATION

K. S. Ershov¹, S. V. Valiulin^{1, 2}, A. P. Pyryaeva^{1, 3*}

¹*Voevodsky Institute of Chemical Kinetics and Combustion Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

²*Novosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk, Russia*

³*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

*E-mail: pyryaeva@kinetics.nsc.ru

The NIR-luminescence of suspension of silver nanoparticles stabilized in distilled water has been investigated by photoexcitation of surface plasmon resonance (SPR). The observed short-living luminescence with the spectral maximum at 1300 nm is attributed to the singlet oxygen molecules luminescence. The singlet oxygen generation is assumed to pass in two stages as a result of three-photon process. First the one-photon SPR excitation of silver nanoparticle is occurred and leads to superoxide oxygen generation on the nanoparticle surface. Next the superoxide anion absorbs two more photons of the same laser pulse resulting in electron photodetachment with singlet oxygen formation. During a long period of UV-irradiation the studying suspension ceases to be photostable and sedimentation occurs. The sedimentation may be related to disturbance of nanoparticles steric stability resulting in more efficient superoxide anion adsorption on nanoparticles surface with silver oxide formation.

Keywords: silver nanoparticles, photoexcitation, surface plasmon resonance, singlet oxygen, luminescence, argovit.

REFERENCES

1. Zhang Y.J. // Plasmonics. 2011. V. 6. P. 393.
2. Willets K.A., Duyne R.P. // Annu. Rev. Phys. Chem. 2007. V. 58. P. 267.
3. Vankayala R., Kuo C.-L., Sagadevan A. et al. // J. Mater. Chem. B. 2013. V. 1. P. 4379.
4. Huang Y.-F., Zhang M., Zhao J.-M. et al. // Angewandte Chemie. 2014. V. 126. P. 2385.
5. Zhang W., Li Y., Niu J. et al. // Langmuir. 2013. V. 29. P. 4647.
6. Rogovina S.Z., Prut E.V., Solov'eva A.B. et al. // Russ. J. Phys. Chem B. 2013. V. 7. I. 4. P. 490.
7. Vankayala R., Sagadevan A., Vijayaraghavan P. et al. // Angewandte Chemie. 2011. V. 123. P. 10828.
8. Mogensen K.B., Kneipp K. // J. Phys. Chem. C. 2014. V. 118. P. 28075.
9. Zapadinskii B.I., Kotova A.V., Matveeva I.A. et al. // Russ. J. Phys. Chem B. 2010. V. 4. I. 5. P. 864.
10. Demyanenko A.V., Bogomolov A.S., Dozmorov N.V. et al. // J. Phys. Chem. C. 2019. V. 123. P. 2175.
11. Nosaka Y., Daimon T., Nosaka A.Y. et al. // Physical Chemistry Chemical Physics. 2004. V. 6. P. 2917.
12. Pasparakis G. // Small. 2013. V. 9. P. 4130.
13. Goldort V.G., Demyanenko A.V., Bogomolov A.S. et al. // Inst. Exp. Tech. 2019. V. 2. P. 252.
14. Trushina A.P., Goldort V.G., Kochubei S.A. et al. // Chemical Physics Letters. 2010. V. 485. P. 11.
15. Bagrov I.V., Kiselev V.M., Kislyakov I.M. et al. // Optics and Spectroscopy. 2015. V. 118. P. 417.
16. Bregnhøj M., Westberg M., Jensen F. et al. // Phys. Chem. Chem. Phys. 2016. V. 18. P. 22946.
17. Shiller K., Muller F.W. // Polymer International. 1991. V. 25. P. 19.
18. Ryu A., Naru E., Arakane K. et al. // Chem. Pharm. Bull. 1997. V. 45. P. 1243.
19. Pettenkofer C., Pockrand I., Otto A. // Surface Science. 1983. V. 135. P. 52.
20. Louie S.M., Gorham J.M., Tan J. et al. // Environ. Sci.: Nano. 2017. V. 4. P. 1866.
21. Kowalonek J., Kaczmarek H. // European Polymer Journal. 2010. V. 46. P. 345.
22. Rebrova G.A., Vasilevskii V.K., Rebrov L.B. et al. // Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Bio-medical Chemistry. 2007. V. 53. P. 442. Russian language.
23. Burmistrov V.A., Bogdanchikova N.E., Gyusan A.O. et al. // Siberian scientific medical journal. 2021. V. 41. I. 5. P. 4.

УДК 577.114.7

СИНТЕЗ И ОХАРАКТЕРИЗАЦИЯ ПРЕБИОТИЧЕСКОГО КОМПОЗИТА СТРУВИТ/КАППА-КАРРАГИНАН

© 2024 г. Т. В. Конькова¹, Н. В. Клушина¹, А. В. Ромашенко²,
Е. А. Лосев^{1, 3, 4}, А. Д. Ведеева⁵, Б. Г. Сухов^{1*}

¹Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского Сибирского отделения
Российской академии наук, Новосибирск, Россия

²Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

³Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

⁴Институт катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук,
Новосибирск, Россия

⁵Новосибирский государственный педагогический университет, Новосибирск, Россия

*E-mail: boris_sukhov@mail.ru

Поступила в редакцию 16.03.2023;

после доработки 13.04.2023;

принята в печать 20.04.2023

Синтезирован композит струвит/каппа-каррагинан в водном растворе полисахарида и неорганических прекурсоров. Методами рентгенофазового анализа, рентгеновского энергодисперсионного анализа и динамического рассеяния света исследованы фазовый и элементный составы, а также определены размеры композитных частиц в водном коллоидном растворе. Показано, что этот перспективный пребиотический композит способен давать диффузионно-подвижные водные коллоидные дисперсии с разной степенью ассоциации структурных элементов, что удобно для применения в биомедицине.

Ключевые слова: пребиотик, композит, струвит, каппа-каррагинан.

DOI: 10.31857/S0207401X24020123 EDN: WGYEMA

ВВЕДЕНИЕ

Полисахариды как наиболее распространенные органические полимеры на Земле находят все более широкое применение как в ставших уже традиционными пищевой [1, 2], текстильной [3–5] и пороховой [6] промышленности, так и в комплексных гликотехнологиях [7–11]. В результате на основе полисахаридов создаются востребованные многоцелевые водорастворимые магнитные гликокомпозиты [12, 13], хиральные и хироплазмонные материалы [14–16], водорастворимые оптически активные нанодисперсные катализаторы [17], высокоэффективные антимикробные нанодисперсные субстанции [18–20], в том числе, с необходимым для хирургии сочетанием антимикробного и антитромботического эффектов [21], контрасты для магниторезонансной визуализации [22, 23], регуляторы регенерации тканей при травме [24], антиоксиданты с гепатопротекторным эффектом [25, 26], средства многоканальной тераностики онкозаболеваний [27], препараты для комплексного оздоровления сельскохозяйственных культур [28–33].

Пребиотические бета-полисахариды являются также естественными волокнами пищи и обладают способностью стимулировать полезную микробиоту животных и человека вследствие того, что бета-гликозидные связи этих биополимеров не расщепляются в верхних отделах желудочно-кишечного тракта ферментными системами организма-хозяина. Однако такие полисахариды легко расщепляются и эффективно усваиваются в его нижних отделах находящейся там полезной микробиотой [34–37]. Ранее кратко, без детализации строения композитной субстанции, было показано [38], что привнесение в макромолекулы пребиотического полисахарида красных водородослей каппа-каррагинана мультиэлементных (азот, фосфор, магний) нанокристаллов минерала струвит (гексагидрат двойной соли фосфата аммония–магния $\text{NH}_4\text{MgPO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) может резко увеличивать (примерно в два раза) пребиотическую активность этого полисахарида [38].

Настоящая работа посвящена синтезу и охарактеризации перспективного пребиотического

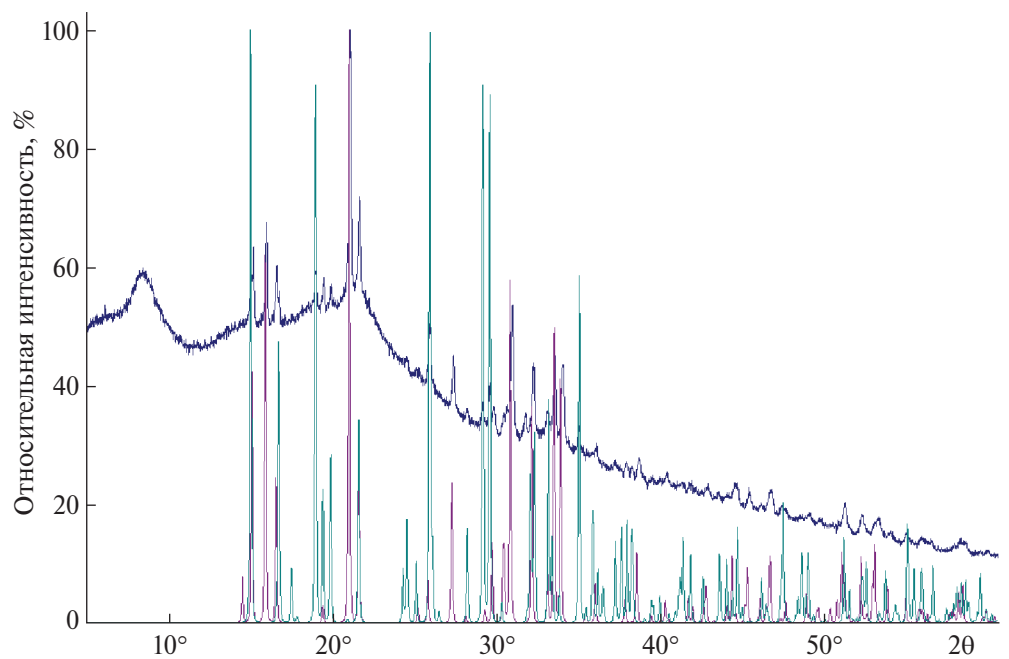


Рис. 1. Рентгеновская дифрактограмма полученного композита.

композита струвит/каппа-каррагинан как в твердой фазе, так и в водном коллоидном растворе.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для синтеза композита к водному раствору каппа-каррагинана (в виде коммерчески доступной калиево-натриевой соли этого сульфатированного полисахарида) при интенсивном перемешивании добавляли последовательно водные растворы сульфата магния, хлорида аммония и гидрофосфата натрия. Полученную реакцию смесь перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре и выливали в четырехкратный избыток этилового спирта. Выпадающий осадок композита отфильтровывали, промывали на фильтре этиловым спиртом и высушивали при комнатной температуре до постоянного веса. Получали белый порошок, способный к редиспергации в воде с образованием коллоидного раствора.

Композит охарактеризовывали методом рентгенофазового анализа (РФА) на дифрактометре модели STOE STADI MP производства фирмы STOE (Germany) с использованием излучения $\text{Cu}(\text{K}_\alpha)$, $\lambda = 1.54060 \text{ \AA}$, рабочего режима генератора 40 кВ/40 мА, германиевого монохроматора с ориентацией (111), линейного полупроводникового детектора модели DECTRIS MYTHEN 1K производства фирмы Dectris (Switzerland) и геометрии эксперимента “на просвет”. Элементный состав

Таблица 1. Содержание химических элементов в полученном нанокompозите по данным рентгеновского энергодисперсионного анализа

Элемент	Тип линии	Процентное содержание элементов	
		вес. %	атом. %
C	К-серия	37.96	48.25
O	К-серия	42.14	40.21
P	К-серия	2.29	1.13
S	К-серия	4.58	2.18
K	К-серия	7.00	2.73
Mg	К-серия	1.45	0.91
Na	К-серия	0.84	0.56
N	К-серия	3.66	3.99
Al	К-серия	0.08	0.05
Всего		100.00	100.00

композита устанавливали методом рентгеновского энергодисперсионного анализа (РЭДА) с использованием энергодисперсионной приставки модели AzTec One производства фирмы Oxford Instruments Analytical (Great Britain) в комплекте к сканирующему электронному микроскопу модели Flex-SEM1000 II производства фирмы Hitachi (Japan). Распределение композитных частиц по размерам в водном коллоидном растворе получали методом динамического рассеяния света с использованием анализатора модели Zetasizer Nano ZS производства фирмы Malvern Instruments Ltd (Great Britain).

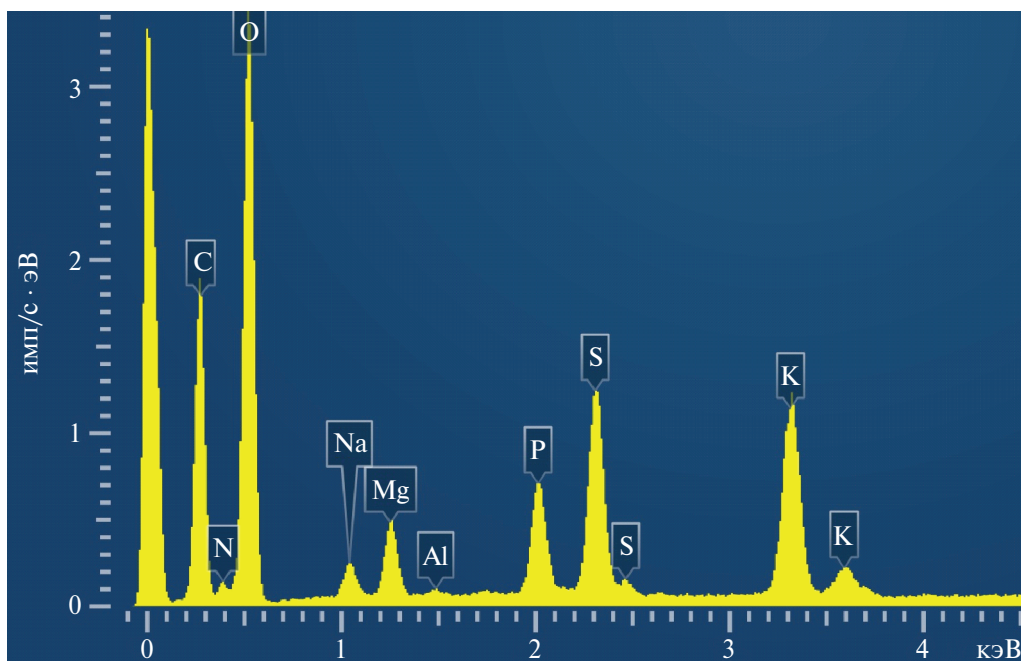


Рис. 2. Рентгеновский эмиссионный спектр полученного композита.

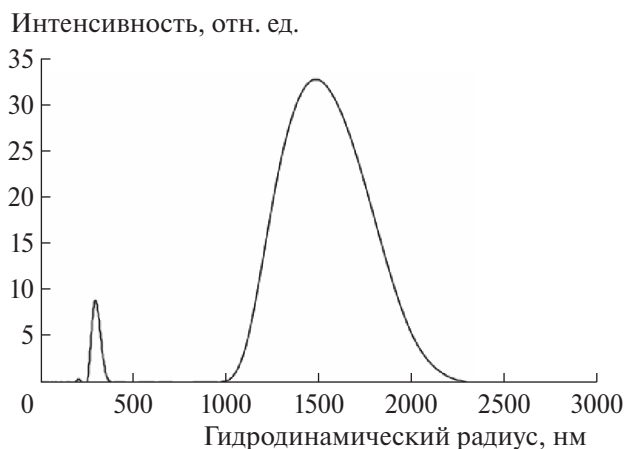


Рис. 3. Распределение по размерам гидродинамических радиусов полученных композитных частиц.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно данным РФА, полученный сухой порошкообразный композит в качестве основной кристаллической фазы содержит минерал струвит, в качестве минорной примесной фазы — гидрофосфат магния, а также рентгеноаморфный полисахаридный биополимер каппа-каррагинан (рис. 1). Судя по практически не уширенным рефлексам, композит содержит кристаллические фазы с достаточно большими областями когерентного рассеяния (крупные частицы).

В рентгеноэмиссионном спектре РЭДА (рис. 2, табл. 1) наиболее интенсивной является линия

кислорода, входящего как в состав каппа-каррагинана, так и струвита. Имеются линии углерода, калия, натрия, серы, входящих в состав каппа-каррагинана (исходной калиево-натриевой соли этого сульфатированного полисахарида), а также линии азота, магния, фосфора, входящих в состав струвита. В качестве малоинтенсивной минорной линии наблюдается линия алюминия, очевидно, от подложки электронного микроскопа.

По данным метода динамического рассеяния света в водном коллоидном растворе композита имеется очень малое количество отдельных макромолекул каппа-каррагинана, очевидно, с инкапсулированными в них кристаллами струвита с общим средним гидродинамическим радиусом около 200 нм. Вероятно, эти композитные частицы объединены в более представительную светорассеивающую фракцию ассоциатов с гидродинамическими радиусами в 250–400 нм, а также в еще более крупную и наиболее светорассеивающую фракцию с гидродинамическими радиусами 1000–2250 нм (рис. 3).

ВЫВОДЫ

Таким образом, легко получаемый в воде перспективный пребиотический мультиэлементный (C, N, P, K, S, Mg) композит струвит/каппа-каррагинан способен давать водные диффузионно-подвижные коллоидные растворы с разной сте-

пенью ассоциации структурных элементов, что удобно для применения в биомедицине.

Исследования методом порошковой рентгеновской дифракции выполнены на оборудовании кафедры ХТТ ФЕН НГУ, спектральные и аналитические измерения проведены с использованием приборов Химического исследовательского центра коллективного пользования СО РАН, данные динамического рассеяния света получены на оборудовании Центра генетических ресурсов лабораторных животных ИЦиГ СО РАН.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российским научным фондом (грант № 22-25-00859).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wedamulla N.E., Wijesinghe W.A.J.P. // Trends Carbohydr. Res. 2021. V. 13. № 2. P. 35;
2. Lovegrove A., Edwards C.H., De Noni I. et al. // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2017. V. 57. № 2. P. 237; <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.939263>
3. Pathak H., Prasad A. // J. Textile Sci. Eng. 2014. V.4. № 6. P. 172; <https://doi.org/10.4172/2165-8064.1000172>
4. Srivastava R.K., Sushant P., Sathvik A.S. et al. Food, Medical, and Environmental Applications of Polysaccharides. Elsevier, 2021. P. 511; <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819239-9.00022-1>
5. Fernandes M., Padrão J., Ribeiro A. I. et al. // Nanomaterials (Basel). 2022. V. 12. № 6. P. 1006; <https://doi.org/10.3390/nano12061006>
6. Shelton M.C. // Kirk-Othmer Encycl. Chem. Techn. 2000. V. 5. P. 394.
7. Della Rosa G., Ruggeri C., Aloisi A. et al. // Polysaccharides. 2021. V. 2. P. 311; <https://doi.org/10.3390/polysaccharides2020021>
8. El-Boubbou K., Huang X. // Curr. Med. Chem. 2011. V. 18. № 14. P. 2060; <https://doi.org/10.2174/092986711795656144>
9. Трофимов Б.А., Сухов Б.Г., Александрова Г.П. и др. // ДАН. 2003. Т. 393. № 5. С. 634.
10. Lesnichaya M.V., Shendrik R.Yu., Sukhov B.G. // J. Lumin. 2019. V. 211. P. 305; <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2019.03.056>
11. Lesnichaya M., Sukhov B., Shendrik R. et al. // IET Nanobiotechnol. 2020. V. 14. No 6. P. 519; <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2020.0023>
12. Blachowicz T., Ehrmann A. // Appl. Sci. 2021. V. 11. № 16. P.7510; <https://doi.org/10.3390/app11167510>
13. Uthaman S., Lee S.J., Cherukula K. et al. // BioMed Res. 2015. P 14; <https://doi.org/10.1155/2015/959175>
14. Ikai T. // Polym. J. 2017. V. 49. № 4. P. 355; <https://doi.org/10.1038/pj.2016.123>
15. Ding P., Chang B., Qing G. et al. // Sci. China Chem. 2014. V. 57. № 11. P. 1492; <https://doi.org/10.1007/s11426-014-5206-8>
16. Lesnichaya M.V., Sukhov B.G., Aleksandrova G.P. et al. // Carbohydr. Polym. 2017. V. 175. P. 18; <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.07.040>
17. Трофимов Б.А., Сухов Б.Г., Носырева В.В. и др. // ДАН. 2007. Т. 417. № 1. С. 62.
18. Zong T.-X., Silveira A.P., Morais J.A.V. et al. // Nanomaterials. 2022. V. 12. № 1. P. 1855; <https://doi.org/10.3390/nano12111855>
19. Matun M.M., Sorinolu A.J., Munir M. et al. // Front. Chem. 2021. V. 9. P. 687660; <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.687660>
20. Ermini M.L., Voliani V. // ACS Nano. 2021. V. 15. P. 6008; <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c10756>
21. Ганенко Т.В., Костыро Я.А., Сухов Б.Г. и др. Нанокompозит серебра на основе сульфатированного арабиногалактана, обладающий антимикробной и антитромботической активностью, и способ его получения. Патент России. № 2462254 // Б.И. 2012. № 27.
22. Александрова Г.П., Грищенко Л.А., Богомяков А.С. и др. // Изв. АН. Сер. хим. 2010. № 12. С. 2261; <https://doi.org/10.1007/s11172-010-0394-7>
23. Petrova M.V., Kiryutin A.S., Savelov A.A. et al. // Appl. Magn. Res. 2011. V. 41. P. 525; <https://doi.org/10.1007/s00723-011-0241-5>
24. Шурыгина И.А., Родионова Л.В., Шурыгин М.Г. и др. // Изв. РАН. Сер. физ. 2015. Т. 79. № 2. С. 280; <https://doi.org/10.7868/S0367676515020271>
25. Колесникова Л.И., Карпова Е.А., Власов Б.Я. и др. // Бюлл. эксп. биол. мед. 2015. Т. 159. № 2. С. 183.
26. Lesnichaya M.V., Karpova E.A., Sukhov B.G. // Coll. Surf. B. BioInterf. 2021. V. 197. № 111381; <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111381>
27. Сухов Б.Г., Ганенко Т.В., Погодаева Н.Н. и др. Препарат, обладающий противоопухолевой активностью, на основе нанобиокompозитов селена и арабиногалактана и способы получения таких нанобиокompозитов. Патент России. № 2614363 // Б.И. 2017. № 9.
28. Перфильева А.И., Ножкина О.А., Граскова И.А. и др. // Изв. РАН. Сер. хим. 2018. № 1. С. 157.
29. Папкина А.В., Перфильева А.И., Живетьев М.А. и др. // ДАН. 2015. Т. 461. № 2. С. 239; <https://doi.org/10.7868/S0869565215030305>
30. Папкина А.В., Перфильева А.И., Живетьев М.А. и др. // Росс. нанотех. 2015. Т. 10. № 5–6. С. 130;
31. Perfileva A.I., Tsivileva O.M., Nozhkina O.A. et al. // Nanomaterials. 2021. V. 11. № 9. P. 2274; <https://doi.org/10.3390/nano11092274>

32. *Perfileva A.I., Nozhkina O.A., Ganenko T.V. et al.* // Intern. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. № 9. P. 4576; <https://doi.org/10.3390/ijms22094576>
33. *Perfileva A.I., Graskova I.A., Sukhov B.G. et al.* // Agronomy. 2022. V. 12. № 6. P. 1281; <https://doi.org/10.3390/agronomy12061281>
34. *Ötle S.* Probiotics and Prebiotics in Food, Nutrition and Health / Boca Raton: CRC Press Taylor and Francis Group, 2013.
35. *Сухов Б.Г., Погодаева Н.Н., Кузнецов С.В. и др.* // Изв. АН. Сер. хим. 2014. № 9. С. 2189.
36. *Шабанова Н.М., Джисоев Ю.П., Бухарова Е.В. и др.* // Бюлл. Вост.-Сиб. НЦ СО РАМН. 2014. Т. 99. № 5. С. 72.
37. *Юринова Г.В., Селиванова Д.С., Приставка А.А. и др.* // Изв. вузов. Прикл. хим. биотехнол. 2014. Т. 9. № 4. С. 90.
38. *Лесничая М.В., Сухов Б.Г., Сапожников А.Н. и др.* // ДАН. 2014. Т. 457. № 5. С. 546; <https://doi.org/10.7868/S0869565214230145>

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF PREBIOTIC COMPOSITE STRUVITE/KAPPA-CARRAGEENAN

T. V. Kon'kova¹, N. V. Klushina¹, A. V. Romashchenko²,
E. A. Losev^{1, 3, 4}, A. D. Vedeeva⁵, B. G. Sukhov^{1*}

¹*Voevodsky Institute of Chemical Kinetics and Combustion, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

²*Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

³*Novosibirsk National Research State University*

⁴*Boreskov Institute of Catalysis, Siberian Branch of the Russian Academy
of Sciences, Novosibirsk, Russia*

⁵*Novosibirsk State Pedagogical University*

*E-mail: boris_sukhov@mail.ru

A struvite / kappa-carrageenan composite was synthesized from an aqueous solution of a polysaccharide and inorganic precursors. The phase, elemental composition and sizes of composite particles in an aqueous colloidal solution have been studied by X-ray phase analysis, X-ray energy dispersive analysis, and dynamic light scattering. It has been shown that this promising prebiotic composite is capable of producing diffusion-mobile aqueous colloidal solutions with varying degrees of association of structural elements, which is convenient for use in biomedicine.

Keywords: prebiotic, composite, struvite, kappa-carrageenan.

REFERENCES

1. Wedamulla N.E., Wijesinghe W.A.J.P. // Trends Carbohydr. Res. 2021. V. 13. № 2. P. 35;
2. Lovegrove A., Edwards C.H., De Noni I. et al. // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2017. V. 57. № 2. P. 237;
<https://doi.org/10.1080/10408398.2014.939263>
3. Pathak H., Prasad A. // J. Textile Sci. Eng. 2014. V.4. № 6. P. 172;
<https://doi.org/10.4172/2165-8064.1000172>
4. Srivastava R.K., Sushant P., Sathvik A.S. et al. Food, Medical, and Environmental Applications of Polysaccharides. Elsevier, 2021. P. 511;
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819239-9.00022-1>
5. Fernandes M., Padrao J., Ribeiro A. I. et al. // Nanomaterials (Basel). 2022. V. 12. № 6. P. 1006;
<https://doi.org/10.3390/nano12061006>
6. Shelton M.C. // Kirk-Othmer Encycl. Chem. Techn. 2000. V. 5. P. 394.
7. Della Rosa G., Ruggeri C., Aloisi A. et al. // Poly saccharides. 2021. V. 2. P. 311;
<https://doi.org/10.3390/polysaccharides2020021>
8. El-Boubbou K., Huang X. // Curr. Med. Chem. 2011. V. 18. № 14. P. 2060;
<https://doi.org/10.2174/092986711795656144>
9. Trofimov B.A., Sukhov B.G., Aleksandrova G.P. et al. // Doklady Akademii Nauk. 2003. V. 393. P. 634.
10. Lesnichaya M.V., Shendrik R.Yu., Sukhov B.G. // J. Lumin. 2019. V. 211. P. 305;
<https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2019.03.056>
11. Lesnichaya M., Sukhov B., Shendrik R. et al. // IET Nanobiotechnol. 2020. V. 14. No 6. P. 519;
<https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2020.0023>
12. Blachowicz T., Ehrmann A. // Appl. Sci. 2021. V. 11. № 16. P.7510;
<https://doi.org/10.3390/app11167510>
13. Uthaman S., Lee S.J., Cherukula K. et al. // BioMed Res. 2015. P 14;
<https://doi.org/10.1155/2015/959175>
14. Ikai T. // Polym. J. 2017. V. 49. № 4. P. 355;
<https://doi.org/10.1038/pj.2016.123>
15. Ding P., Chang B., Qing G. et al. // Sci. China Chem. 2014. V. 57. № 11. P. 1492;
<https://doi.org/10.1007/s11426-014-5206-8>
16. Lesnichaya M.V., Sukhov B.G., Aleksandrova G.P. et al. // Carbohydr. Polym. 2017. V. 175. P. 18;
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.07.040>
17. Trofimov B.A., Sukhov B.G., Nosyreva V.V. et al. // Dokl. Chem. 2007. V. 417. P. 261.
18. Zong T.-X., Silveira A.P., Morais J.A.V. et al. // Nanomaterials. 2022. V. 12. № 1. P. 1855;
<https://doi.org/10.3390/nano12111855>
19. Mamun M.M., Sorinolu A.J., Munir M. et al. // Front. Chem. 2021. V. 9. P. 687660;
<https://doi.org/10.3389/fchem.2021.687660>
20. Ermini M.L., Voliani V. // ACS Nano. 2021. V. 15. P. 6008;
<https://doi.org/10.1021/acsnano.0c10756>
21. Ganenko T.V., Kostyro Ya.A., Sukhov B.G. et al. Silver nanocomposite based on sulfated arabinogalactan with antimicrobial and antithrombotic activity, and method for its preparation // Patent of Russia. 2012. № 2462254.
22. Aleksandrova G.P., Grishchenko L.A., Bogomyakov A.S. et al. // Russ. Chem. Bull. 2010. V. 59. P. 2318.
<https://doi.org/10.1007/s11172-010-0394-7>
23. Petrova M.V., Kiryutin A.S., Savelov A.A. et al. // Appl. Magn. Res. 2011. V. 41. P. 525;
<https://doi.org/10.1007/s00723-011-0241-5>

24. *Shurygina I.A., Rodionova L.V., Shurygin M.G. et al.* // Bull. Russ. Acad. Sci.: Phys. 2015. V. 79. № 2. P. 256. <https://doi.org/10.3103/S1062873815020276>
25. *Kolesnikova L.I., Karpova E.A., Vlasov B.Ya. et al.* // Bull. Exp. Biol. Med. 2015. V. 159. № 2. P. 225. <https://doi.org/1007/s10517-015-2928-3>
26. *Lesnichaya M.V., Karpova E.A., Sukhov B.G.* // Coll. Surf. B. BioInterf. 2021. V. 197. № 111381; <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111381>
27. *Sukhov B.G., Ganenko T.V., Pogodaeva N.N.* A drug with antitumor activity based on nanobiocomposites of selenium and arabinogalactan and methods for obtaining such nanobiocomposites // Patent of Russia. 2017. № 2614363.
28. *Perfilyeva A.I., Nozhkina O.A., Graskova I.A. et al.* // Russ. Chem. Bull. 2018. V. 67. P. 157. <https://doi.org/10.1007/s11172-018-2052-4>
29. *Papkina A.V., Perfilyeva A.I., Zhivet'ev M.A. et al.* // Dokl. Biol. Sci. 2015. V. 461. P. 239. <https://doi.org/10.1134/S001249661501010X>
30. *Papkina A.V., Perfileva A.I., Zhivetyev M.A. et al.* // Nanotech. Russ. 2015. V. 10. P. 484. <https://doi.org/10.1134/S1995078015030131>
31. *Perfileva A.I., Tsivileva O.M., Nozhkina O.A. et al.* // Nanomaterials. 2021. V. 11. № 9. P. 2274; <https://doi.org/10.3390/nano11092274>
32. *Perfileva A.I., Nozhkina O.A., Ganenko T.V. et al.* // Intern. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. № 9. P. 4576; <https://doi.org/10.3390/ijms22094576>
33. *Perfileva A.I., Graskova I.A., Sukhov B.G. et al.* // Agronomy. 2022. V. 12. № 6. P. 1281; <https://doi.org/10.3390/agronomy12061281>
34. *Ötle S.* Probiotics and Prebiotics in Food, Nutrition and Health / Boca Raton: CRC Press Taylor and Francis Group, 2013.
35. *Sukhov B.G., Pogodaeva N.N., Kuznetsov S.V.* // Rus. Chem. Bulletin. 2014. V. 63. P. 2189. <https://doi.org/10.1007/s11172-014-0718-0>
36. *Shabanova N.M., Dzhioev Yu.P., Bukharova E.V. et al.* // Bull. East-Sib. NTs SO RAMS. 2014. V. 99. P. 72.
37. *Yurina G.V., Selivanova D.S., Pristavka A.A. et al.* // Izv. VUZov. Appl. Chem. Biotechnol. 2014. V. 9. P. 90.
38. *Lesnichaya M.V., Sukhov B.G., Sapozhnikov A.N. et al.* // Dokl. Chem. 2014. V. 457. P. 546. <https://doi.org/10.1134/S0012500814080023>