

ISSN 2686-9535

Том 518

Сентябрь–Октябрь 2024



ДОКЛАДЫ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК. ХИМИЯ, НАУКИ О МАТЕРИАЛАХ



НАУКА

— 1727 —

СОДЕРЖАНИЕ

Том 518, 2024

ХИМИЯ

Специальные подходы для синтеза и использования пептидных фрагментов и их аналогов при конструировании лекарственных средств. Обзор

В. П. Шевченко, Т. В. Вьюнова, Л. А. Андреева, И. Ю. Нагаев, К. В. Шевченко, Н. Ф. Мясоедов 3

Получение наночастиц на основе меди и никеля методом магнетронного распыления и их использование в реакции активации связи сера–сера

А. С. Кашин 23

ХИМИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ

Исследование влияния наполнителей на смачиваемость и цитотоксичность полисилоксановых пленок медицинского назначения

А. С. Баикин, Е. О. Насакина, Г. А. Давыдова, М. А. Сударчикова, А. А. Мельникова, К. В. Сергиенко, С. В. Конушкин, М. А. Каплан, М. А. Севостьянов, А. Г. Колмаков 32

ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Люминесценция комплексов лантанидов в наноанионитах

М. В. Королева, В. В. Ягов, А. Ю. Оленин, А. М. Долгоносов, Р. Х. Хамизов 41

CONTENTS

Volume 518, 2024

CHEMISTRY

Special Approaches for the Synthesis and Use of Peptide Fragments and Their Analogues in the Design of Medicines.
A Review

V. P. Shevchenko, T. V. Vyunova, L. A. Andreeva, I. Yu. Nagaev, K. V. Shevchenko, N. F. Myasoedov 3

Preparation of Copper and Nickel Based Nanoparticles by Magnetron Sputtering and Their Use
in Sulfur–Sulfur Bond Activation Reaction

A. S. Kashin 23

CHEMICAL TECHNOLOGY

Study of the Influence of Fillers on the Wettability and Cytotoxicity of Polysiloxane Films for Medical Use

*A. S. Baikin, E. O. Nasakina, G. A. Davydova, M. A. Sudarchikova, A. A. Melnikova, K. V. Sergienko,
S. V. Konushkin, M. A. Kaplan, M. A. Sevostyanov, A. G. Kolmakov* 32

PHYSICAL CHEMISTRY

Luminescence of Lanthanide Complexes in Nano Anion Exchangers

M. V. Koroleva, V. V. Yagov, A. Yu. Olenin, A. M. Dolgonosov, R. Kh. Khamizov 41

УДК 546.100.02.3:547.15/17

СПЕЦИАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ ДЛЯ СИНТЕЗА И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПЕПТИДНЫХ ФРАГМЕНТОВ И ИХ АНАЛОГОВ ПРИ КОНСТРУИРОВАНИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ. ОБЗОР

© 2024 г. В. П. Шевченко^{1,*}, Т. В. Вьюнова¹, Л. А. Андреева¹, И. Ю. Нагаев¹,
К. В. Шевченко¹, академик Н. Ф. Мясоедов¹

Поступило 16.06.2024 г.
После доработки 14.10.2024 г.
Принято к публикации 28.10.2024 г.

Описан ряд современных методов получения гибридных соединений с использованием пептидных фрагментов. Биологически активные соединения модифицировали с использованием органических кислот, пролиновых (Pro-Gly-Pro) и фосфинатных фрагментов. Показаны методы синтеза гибридных соединений, которые можно применить для получения меченных изотопами водорода органических соединений. Описаны исследования цитотоксичности, специфического связывания синтезированных соединений с рецепторными системами и другие характеристики данных соединений.

Ключевые слова: синтез, пептидные аналоги, изотопы водорода

DOI: 10.31857/S2686953524050014, **EDN:** JHESGU

ОГЛАВЛЕНИЕ

I.	ВВЕДЕНИЕ	4
II.	ПОИСК ПЕРСПЕКТИВНЫХ ГИБРИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ	4
II.1.	Модифицированные фармакофоры – фрагменты АКТГ	4
II.2.	Пептидные производные доксорубицина и биогенных аминов	5
II.3.	Ацильные производные биологически активных соединений	5
II.4.	Фосфинатные аналоги эндогенных пептидов	6
III.	ОБЩИЕ МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ОБЪЕКТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	7
III.1.	Основные подходы для синтеза пептидов и пептидных производных	7
III.2.	Получение флуоресцентномеченных органических соединений	7
III.3.	Синтез фосфинатных аналогов пептидов	9
IV.	ВВЕДЕНИЕ ТРИТИЯ В СИНТЕЗИРОВАННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ	9
IV.1.	Жидкофазный метод	10
IV.2.	Твердофазный метод	10
V.	ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ГИБРИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ	11
V.1.	Сравнение влияния дофамина и серотонина и их пептидных производных на жизнедеятельность клеток	11
V.2.	Оценка цитотоксичности пептидных производных доксорубицина	11
VI.	ИССЛЕДОВАНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ СОЗДАННЫХ СТРУКТУР	11
VI.1.	Исследование устойчивости пептидов в экспериментах <i>in vitro</i>	11
VI.2.	Исследование устойчивости производных биогенных аминов в экспериментах <i>in vitro</i>	12

¹Национальный исследовательский центр
“Курчатовский институт”

(НИЦ “Курчатовский институт”),
123182 Москва, Россия

*E-mail: nagaev.img@yandex.ru

VI.3.	Исследование устойчивости фосфинатного аналога PGP.....	13
VI.4.	Исследование устойчивости пептидов в экспериментах <i>in vivo</i>	13
VI.5.	Фармакокинетические параметры АКТГ(6-9)PGP и Pro-Gly-Pro-Leu	14
VII.	СПЕЦИФИЧЕСКОЕ СВЯЗЫВАНИЕ СИНТЕЗИРОВАННЫХ ПЕПТИДОВ, ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С РЕЦЕПТОРНЫМИ СИСТЕМАМИ	15
VIII.	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	16
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	17

СОКРАЩЕНИЯ

Ad — адамантан
AUC — площадь под кривой
Bzl — бензильная группа
DCC — *N,N'*-дициклогексилкарбодиимид
Dox — доксорубицин
КФ номер — классификационный номер фермента
FDA — Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств, или Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов, США
GBR12909 — ваноксерин
LA-OH — лауриновая кислота
PEP — пролиновая эндопептидаза
PGP — Pro-Gly-Pro
RX — R — аргинин, X — количество одинаковых аминокислотных остатков
Z — бензилоксикарбонильная группа
АКТГ — адренокортикотропный гормон
АКТГ(6-9)PGP — His-Phe-Arg-Trp-Pro-Gly-Pro
АПФ — ангиотензинпревращающий фермент
Вос — *трет*-бутилоксикарбонильная группа
ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография
ГЭБ — гематоэнцефалический барьер
ММР — матриксные металлопротеиназы
МР — молярная радиоактивность
МФМК — микросомальная фракция мозга крысы
hAHP — никотиновый ацетилхолиновый рецептор
Селанк — Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro
Семакс — Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro
Тафцин — Thr-Lys-Pro-Arg
Хс-ЛПНП — холестерин липопротеинов низкой плотности
ЦНС — центральная нервная система

I. ВВЕДЕНИЕ

Современное развитие науки о живом включает использование фрагментов белков, синтетических пептидов и их различных аналогов. Например, активность α -конотоксинов зависит от природы аминокислотных остатков [1].

Если этими пептидными фрагментами являлись поли- или олигоаргинины (R6–R18), то подобные пептиды ингибируют различные рецепторы (hAHP), повышают селективность (например, R8) и влияют на сродство (например, R16) к различным подтипам hAHP.

Свойства аминокислотных остатков можно использовать в самых различных ситуациях: и для транспортировки лекарственных соединений в живые клетки, и для повышения устойчивости, например, дофаминергических нейронов, которые интенсивно погибают при болезни Паркинсона [2].

Пептидные соединения способны регулировать функционирование ионных каналов в нейронах, что очень важно для нормальной деятельности центральной и периферической нервной системы. В результате могут быть купированы патологии, связанные с болевыми и воспалительными процессами. Нейропептиды (например, ноцистатин) могут быть использованы в процессах, связанных с обучением, памятью и, следовательно, с регулированием высшей нервной деятельности [3].

Проблему транспортировки противораковых лекарств можно решить, создав условия, при которых биологически активное соединение начинает взаимодействовать с чужеродными клетками в момент своего высвобождения [4–7]. То есть, либо в этих клетках происходит разрушение липосом, в которые заключено действующее вещество, либо в чужеродных клетках эффективно функционирует фермент, который разрушает связи действующего вещества с пептидным фрагментом.

Широкое разнообразие природных и искусственных пептидных фрагментов делает необходимым четкое определение конкретных объектов и методов их тестирования.

II. ПОИСК ПЕРСПЕКТИВНЫХ ГИБРИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Природные аминокислоты и пептиды на их основе, как правило, не цитотоксичны. Они позволяют использовать более высокие дозы лекарственного средства по сравнению со средствами, состоящими из неприродных фрагментов, при лечении патологий. Поэтому работа над созданием лекарственных средств на их основе является актуальной задачей. В этом обзоре не ставится задача перечисления всех достижений в каждом из рассматриваемых направлений исследований, а дается некая перспектива использования этих достижений.

Для того, чтобы избежать многолетних трудоемких исследований в поиске новых лекарственных препаратов, часто исходят из природного объекта, обладающего активностью, интересующей медиков. Сначала вычлениют пептидную последовательность, которая определяет искомую биологическую активность (фармакофор). Затем для повышения стабильности этого пептида его модифицируют пролинсодержащими фрагментами. Например, семакс был получен из Met-Glu-His-Phe (фармакофор) и Pro-Gly-Pro.

II.1. Модифицированные фармакофоры — фрагменты АКТГ

Фрагменты АКТГ стабилизировали Pro-Gly-Pro (PGP) [8]. Наиболее перспективным в плане ноотропной и анксиолитической активности среди различных фрагментов адренокортикотропного гормона оказался АКТГ(6-9)PGP. Созданное направление повышения устойчивости пептидов позволило изготовить ряд лекарственных средств [9–13]. Среди них получены широко известный в медицинской практике семакс и аналог тафцина — селанк [10–17].

II.2. Пептидные производные доксорубина и биогеинных аминов

Для деградации чужеродных клеток используют доксорубин (Dox). Сложность введения Dox пациентам заключается в высокой цитотоксичности этого вещества [18–20]. Поиск производных Dox с меньшей цитотоксичностью привел к синтезу пептидных производных доксорубина типа Boc-Gly-Pro-Dox (рис. 1).

Для большей устойчивости к действию ферментов амин глицинового фрагмента (рис. 1)

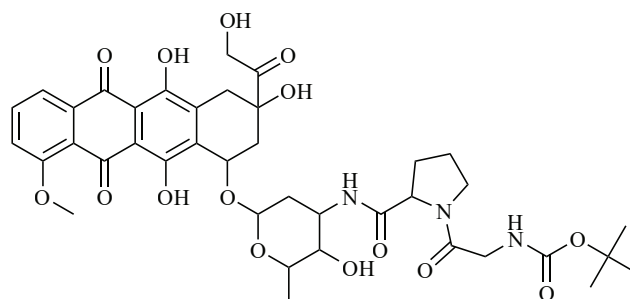


Рис. 1. Структура Boc-Gly-Pro-Dox.

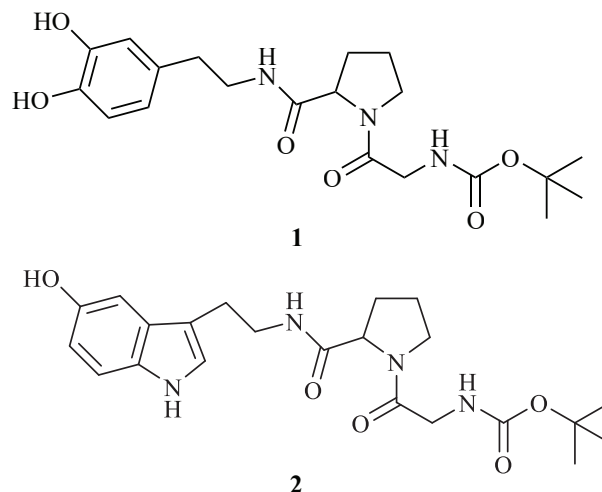


Рис. 2. Структуры Boc-Gly-Pro-DOPA (1), Boc-Gly-Pro-5-HT (2).

модифицировали, используя кроме Boc-защиты и Z-защиту.

Использованием защищенных по аминокислотной группе пептидов повышали устойчивость и других биологически активных соединений (Boc-Gly-Pro-DOPA, Boc-Gly-Pro-5-HT) (рис. 2).

Эти защищенные конъюгаты пролина и глицилпролина с дофамином и серотонином оказались устойчивы в присутствии аминокислот и карбоксипептидаз. Следовательно, они могут быть перспективны в качестве эффективных нецитотоксических транспортных форм для этих биогенных аминов [21]. В силу этого такой подход является многообещающим для доставки моноаминов для лечения патологии при болезни Паркинсона и депрессии.

II.3. Ацильные производные биологически активных соединений

Использование жирных кислот для ацилирования аминокислотной группы в пептидном производном биологически активного соединения вы-

звано рядом причин. Как показывает практика, у гибридных соединений из биогенного амина и пептидного фрагмента при ацилировании последнего жирными кислотами появляются новые свойства, полезные для создания лекарственных препаратов. Возможность такого эффекта отмечена при ацилировании жирными кислотами дофамина. Оказалось, что образовавшийся *N*-ацилдофамин препятствует развитию симптомов болезни Паркинсона [22, 23].

В МГУ разработана программа, которая позволяет оценить проникающую способность молекул через ГЭБ [24, 25]. Использование этой программы позволило, например, оценить, какие из соединений будут иметь более высокую вероятность проникновения из кровотока в головной мозг. Другими словами, эта программа позволяет рассчитать отношение $AUC_{\text{мозг}}$ к $AUC_{\text{кровь}}$. Естественно, чем больше это отношение, тем выше проникаемость ГЭБ для данного соединения. На основании расчетных данных установлено, что проникаемость гибридных соединений из ацильных производных аминокислот или пептидов и дофамина или серотонина через ГЭБ значительно выше, чем для соединений, в которых в качестве защитных групп использовали *Woc*- или *Z*-защиту. В то время как расчетные данные по проникаемости соединений с *Woc*- или *Z*-защитой отличались незначительно. Для LA-Gly-Pro-DOPA и LA-Gly-Pro-5-HT расчетные данные по проникаемости равнялись 0.44 и 0.43 соответственно. Для *Woc*-Pro-DOPA и *Z*-Pro-DOPA или *Woc*-Pro-5-HT и *Z*-Pro-5-HT — только 0.13 и 0.09 или 0.12 и 0.08 соответственно [26].

Для установления более четкой картины, имеют ли преимущества соединения с *Woc*-защитой перед соединениями с *Z*-защитой для преодоления ГЭБ, проведены эксперименты с использованием метода ПАМПА (*parallel artificial membrane permeability assay*). Этот метод основан на применении искусственно сконструированных мембран на основе додекана и смеси додекана с полярными липидами [27]. В результате возникает возможность определить, какое из синтезированных соединений легче преодолевает ГЭБ и, следовательно, может быть перспективно для дальнейших исследований [27–29].

Проведенные исследования с использованием метода ПАМПА показали, что полученные

данные не противоречат расчетным. Проницаемость через мембрану соединений с *Woc*-защитой выше, чем соединений с *Z*-защитой [28].

II.4. Фосфинатные аналоги эндогенных пептидов

Фосфинатные пептиды являются мощными ингибиторами бактериальных коллагеназ [30]. Также оказалось, что фосфинатные псевдопептиды (соединения 3–5) ведут себя как сильнодействующие ингибиторы матричных металлопротеиназ (ММР) (рис. 3).

Известно, что ММР играют важную роль при экстравазации опухолевых клеток с высокой метастатической активностью, а также причастны к патологиям, вызываемым остеопорозом, ревматоидным артритом, заболеваниями пародонта, атеросклерозом или застойной сердечной недостаточностью.

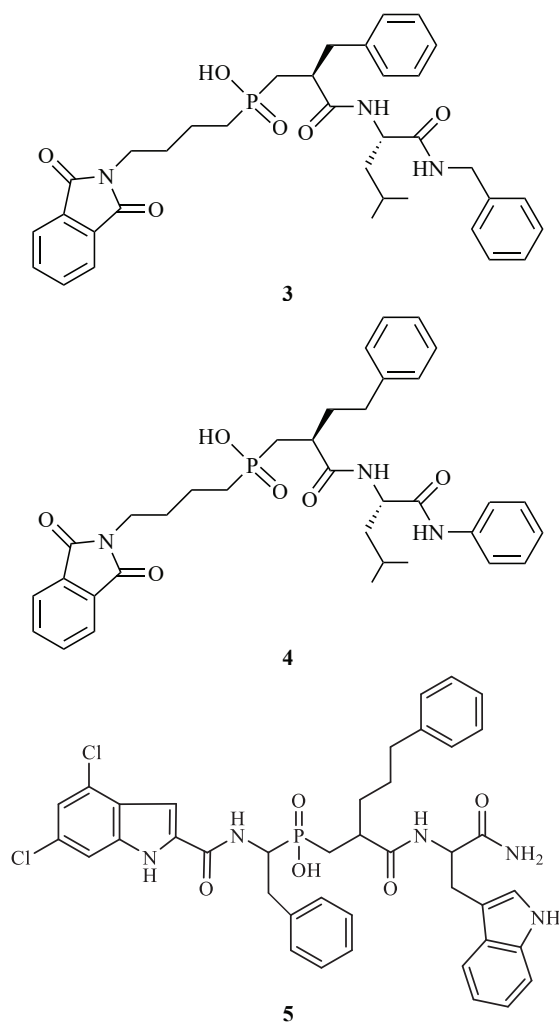


Рис. 3. Структуры ингибиторов ММР.

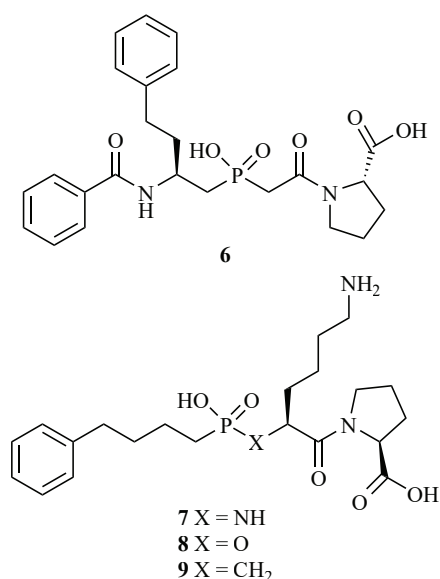


Рис. 4. Структура ингибиторов АПФ.

АПФ (кининаза II, пептидил-дипептидаза А, КФ 3.4.15.1) является сегодня, вероятно, наиболее важной мишенью с точки зрения медицинского применения ингибиторов фосфината Zn-металлопротеиназ. То обстоятельство, что АПФ может участвовать в регуляции гемопоэтических стволовых клеток путем постоянного разложения Ac-Ser-Asp-Lys-Pro, инициировало разработку ингибиторов АПФ (соединения 6–9) (рис. 4).

Кроме того, ингибирование АПФ блокирует образование ангиотензина II, а также расщепление брадикинина, что приводит к снижению артериального давления.

Таким образом, перечисленные выше ингибиторы не только повышают ферментативную стабильность модифицированных пептидов [30–34], но и перспективны при поиске эффективных нейропротекторов.

III. ОБЩИЕ МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ОБЪЕКТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

III.1. Основные подходы для синтеза пептидов и пептидных производных

В данном разделе приведены только хорошо изученные методики. В более полном объеме с методиками синтеза пептидов и пептидных производных можно ознакомиться в монографиях [35, 36].

Если реагенты растворимы в неполярных средах, существует множество методов, позво-

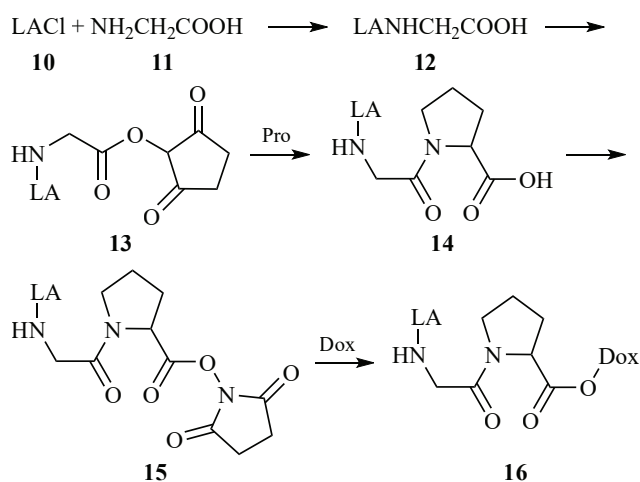


Схема 1. Синтез соединений, содержащих жирные кислоты (LA – остаток лауриновой кислоты) [26].

ляющих проводить синтезы с использованием DCC и других реагентов для конденсации защищенных аминокислот, пептидов и производных биогенных аминов и т.д. Но более часто приходится использовать методики, в которых один из компонентов растворим или в метаноле, или водном метаноле.

Для работы с такими соединениями как дофамин, доксорубин или серотонин сначала готовят *N*-оксисукцинимидный эфир реакцией с защищенными по аминогруппе аминокислотами или пептидами в присутствии DCC. Затем соответствующий *N*-оксисукцинимидный эфир растворяют в метаноле, водном метаноле или этаноле и конденсируют с дофамином, доксорубином или серотонином в присутствии Et₃N. Выход гибридных соединений – около 65–86% [37, 38].

При работе с жирными кислотами, как правило, получали хлорангидрид (с использованием хлористого тионила) (соединение 10), из которого получали производное по глицину (соединение 12), дальнейшие стадии проводили, как описано выше, с получением соединений 13–16 (схема 1) [26].

III.2. Получение флуоресцентно меченных органических соединений

Флуоресцентные аналоги пептидов и аминокислот получали для более точного расчета содержания их в пробах, особенно в тех случаях, когда они присутствуют там в микроколичествах [39]. Точность определения можно повысить после добавления в пробы соответствующ-

шего меченного тритием аналога и обработки пробы реагентом для получения флуоресцентного производного. Если в объекте исследования присутствует аналогичное добавленному меченому пептиду соединение, то уменьшение молярной радиоактивности добавленного меченного тритием пептида будет зависеть от количества немеченного соединения.

Особенно интересными являются специфические реакции на определенные аминокислоты, например, тирозин, триптофан, аргинин (соединения **17–24**) [40] (рис. 5).

Но есть работы, где специально синтезируют флуоресцентные аналоги для проведения биологических исследований [2]. Такой синтез проводят тогда, когда есть недостаток информации о процессах регулирования ингибирования и транспорта биологических объектов в живых организмах.

Среди ранее описанных ингибиторов обратного захвата дофамина эталонным является

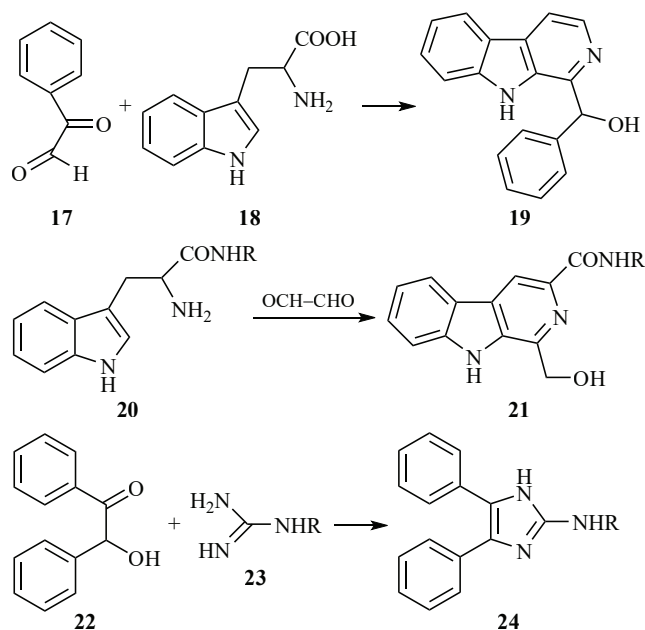


Рис. 5. Специфические реакции на аминокислоты [40].

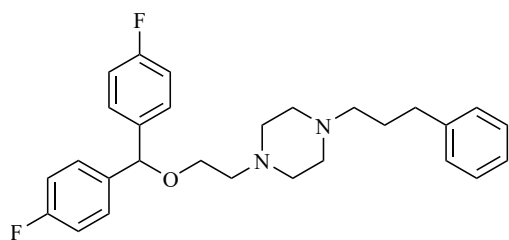


Рис. 6. Строение GBR12909.

производное N-замещенного пиперазина – GBR12909, селективное по отношению к дофаминовому транспортеру (рис. 6) [40].

Использование флуоресцентного аналога GBR12909 необходимо было для получения новых сведений о влиянии этого ингибитора на функционирование трансмембранного белка-транспортера (DAT). Флуоресцентный аналог GBR12909 синтезировали по схеме 2 (соединения **25–30**) [40].

Конденсацией третичного амина **25** с йодпроизводным **26** получали соединение **27** с выходом 98%. После удаления Вос-защиты с соединения **27** образовывалось соединение **28**, которое затем в присутствии Et_3N конденсировали со смешанным ангидридом **29** и в результате получали флуоресцентный аналог GBR12909 (**30**) с выходом 32%. Полученные данные о влиянии этого ингибитора на DAT свидетельствовали о полной блокировке захвата флуоресцентного аналога GBR12909 клетками, которая происходила при участии DAT. Убедившись в том, что полученное соединение соответствует необходимым требованиям для проведения исследования, его использовали для получения более детальной информации. Данные, полученные при использовании флуоресцентного аналога, полностью согласуются с гипотезой об интернализации GBR12909 дофаминовым транспортером [2].

III.3. Синтез фосфинатных аналогов пептидов

Синтезы различных фосфинатных аналогов эндогенных пептидов разрабатываются давно [41]. На схеме 3 показан один из таких синтезов. Синтез фосфинатного пептида из исходных компонентов проводят, когда все реакционные группы закрыты этиловой, Ad- и Z-группами (соединение **31**). Затем последовательно щелоч-

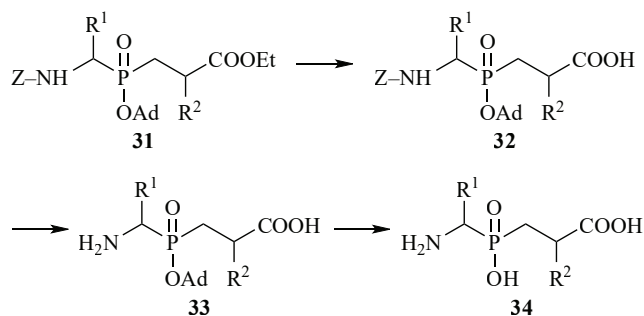


Схема 3. Фосфинатные аналоги пептидов [41].

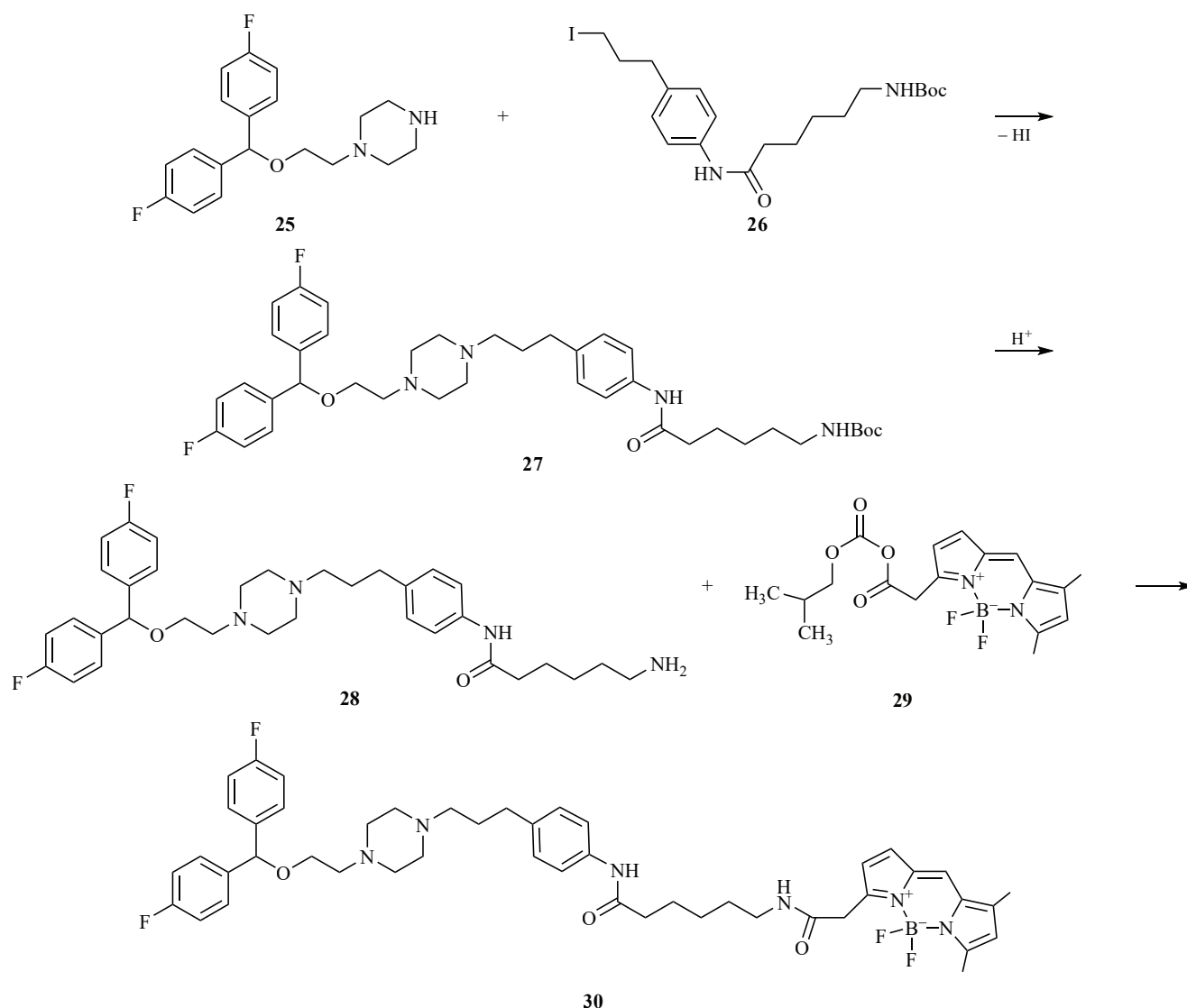


Схема 2. Синтез флуоресцентного аналога GBR12909 [2].

ным катализом (**32**), каталитическим гидрированием (**33**) и кислотным катализом (**34**) удаляют защитные группы.

До настоящего времени путем замены амидной связи метиленфосфорильным фрагментом $[-(\text{POOH})-\text{CH}_2-]$ получают все новые и новые фосфоизомеры пептидов.

Разработанная схема позволяет наращивать фосфоизомеры пептидов аминокислотными остатками (соединения **35–38**). Например, получать Pro-(POOH)-Gly-Pro (фосфинатный аналог Pro-Gly-Pro) (**38**) из Z-Pro-(POOAd)-Gly (**35**) (рис. 7) [42].

Конденсацией Z-Pro-(POOAd)-Gly (**35**) с $\text{HCl} \cdot \text{Pro-OBzl}$ в присутствии DCC и Et_3N по-

лучали фосфинатный аналог Pro-Gly-Pro (**36**). Z- и Bzl-защиты снимали каталитическим гидрированием, адамантан удаляли трифторуксусной кислотой. Выход Pro-(POOH)-Gly-Pro (**38**) составил 64%.

IV. ВВЕДЕНИЕ ТРИТИЯ В СИНТЕЗИРОВАННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

Синтез меченных изотопами водорода органических соединений необходим для проведения экспериментов *in vivo* при определении устойчивости введенного в организм соединения, образования из него метаболитов, или для определения специфического связывания соединений с мембранами мозга [43].

Таблица 1. Молярные радиоактивности (МР) производных дофамина, доксорубицина и серотонина, полученные из Boc-Gly-[³H]Pro, LA-Gly-[³H]Pro и Boc-[³H]Pro [26]

Предшественник, МР (Ки ммоль ⁻¹)	Производное, МР (Ки ммоль ⁻¹)		
BocGly-[³ H]Pro, 48	BocGly-[³ H]Pro-DOPA, 48	BocGly-[³ H]Pro-5-НТ, 48	BocGly-[³ H]ProDox, 48
LA-Gly-[³ H]Pro, 41	LA-Gly-[³ H]Pro-DOPA, 41	LA-Gly-[³ H]Pro-5-НТ, 41	LA-Gly-[³ H]Pro-Dox, 41
Boc[³ H]Pro, 46	Boc[³ H]Pro-DOPA, 46 (27 ^a)	Boc[³ H]Pro-5-НТ, 46 (26 ^a)	Boc[³ H]Pro-Dox, 46

^a Получены гидрированием BocΔPro-DOPA или BocΔPro-5-НТ в метаноле.

остатками. Знание о распределении трития необходимо, чтобы при экспериментах *in vivo* точно рассчитать не только содержание исходного пептида в пробах, но и содержание в них его метаболитов. Распределение метки в препаратах определяли с использованием масс-спектрометрии после проведения аналогичных реакций с дейтерием. Установлено, что для His-Phe-Arg-Trp-Pro-Gly-Pro это распределение составило 37 : 6 : 20 : 32 : 1 : 1 : 3, для Pro-Gly-Pro-Leu — 66 : 17 : 8 : 9, для 5-охо-Pro-Arg-Pro — 11 : 58 : 31, для 5-охо-Pro-His-Pro-NH₂ — 18 : 66 : 16 [44–47].

V. ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ГИБРИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Для оценки цитотоксичности гибридных препаратов (т.е. препаратов, составленных из нескольких биологически активных соединений) использовались методы, которые давали возможность одновременно оценивать пролиферацию, остановку деления и гибель клеток [48]. Жизнеспособность клеток оценивали по соотношению оптической плотности в пробах без вещества и в пробах с веществом.

V.1. Сравнение влияния дофамина и серотонина и их пептидных производных на жизнедеятельность клеток

Тестирование дофамина (серотонина) и Z-Gly-Pro-DOPA, Z-Gly-Pro-5-НТ, Boc-Gly-Pro-DOPA, Boc-Gly-Pro-5-НТ, Boc-Pro-5-НТ и Boc-Pro-DOPA проводили с использованием нескольких линий клеток (SH-SY5Y, A549, U-87MG и BJ-5ta) [49–52]. Полученные данные позволили сделать вывод о том, что в тестах на пролиферацию клеток, содержащих дофаминовые и серотониновые рецепторы, активность пептидных производных моноаминов относи-

тельно активности дофамина и серотонина изменялась незначительно [53]. Таким образом, пролинсодержащие производные биогенных аминов и в плане цитотоксичности, и в плане влияния на клеточные ответы сопоставимы с данными, полученными при использовании свободных дофамина и серотонина [53]. Более показательным было изменение цитотоксичности доксорубицина по сравнению с пролинсодержащими производными доксорубицина при использовании культуры одноклеточных эукариотов *Tetrahymena pyriformis* [54].

V.2. Оценка цитотоксичности пептидных производных доксорубицина

Первичный скрининг на цитотоксичность можно провести с использованием инфузории *Tetrahymena pyriformis*. В культуру инфузорий добавляли раствор доксорубицина или его производных Boc-Gly-Pro-Dox и Z-Gly-Pro-Dox в диапазоне концентраций 1–100 мкМ. В контрольные пробы добавляли такой же объем дистиллированной воды. Сравнивали динамику гибели или размножения клеток относительно контроля. Полученные результаты показали, что уже через десять минут разница в отрицательном воздействии на клетки между модифицированным и свободным Dox становится очевидной. Модифицированные молекулы доксорубицина обладают значительно меньшей способностью вызывать гибель клеток, чем свободный доксорубин. Цитотоксичность Z-Gly-Pro-Dox и Boc-Gly-Pro-Dox несколько отличается, но в обоих случаях выживаемость инфузории *Tetrahymena pyriformis*, по сравнению с Dox, выше. Выживаемость инфузории во времени для Dox и Z-Gly-Pro-Dox, Boc-Gly-Pro-Dox заметно отличается. В то время как Dox со временем повышает отрицательное воздействие на клетки, под действием

производных Дох зависимость от времени более сложная. Количество инфузории после десяти-минутного падения начинает заметно расти [54]. Аналогичная закономерность обнаружена и при тестировании этих соединений на мышах.

На основании вышеприведенных данных можно предположить, что использование пептидов является перспективным направлением для понижения цитотоксичности используемых в качестве лекарств соединений.

VI. ИССЛЕДОВАНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ СОЗДАННЫХ СТРУКТУР

VI.1. Исследование устойчивости пептидов в экспериментах *in vitro*

Для экспериментов *in vitro* использовали лейцинаминопептидазу (КФ 3.4.11.1), карбоксипептидазы Y (КФ 3.4.16.1) и B (КФ 3.4.17.2), пролиновую эндопептидазу (PER) (КФ 3.4.21.26), назальную слизь, микросомальную фракцию мозга (МФМК) и плазму крови крыс, полученные из самцов крыс Wistar [55]. Работы проводили по методикам, описанным в работах [14, 55, 56]. В качестве субстрата использовали АКТГ(6-9)-PGP, Pro-Gly-Pro-Leu, Boc-Gly-Pro-DOPA, Z-Gly-Pro-DOPA, LA-Gly-Pro-DOPA, Boc-Gly-Pro-5-НТ, Z-Gly-Pro-5-НТ и фосфинатный аналог Pro-Gly-Pro. Изменение содержания исходных субстратов определяли методами ВЭЖХ и масс-спектрометрии [55, 57].

При исследовании устойчивости АКТГ(6-9)-PGP в присутствии лейцинаминопептидазы установлено, что через два часа в инкубационной среде присутствует около 23% исходного пептида [58]. В присутствии карбоксипептидазы Y уже через час только 9% АКТГ(6-9)-PGP остается в инкубационной среде.

Устойчивость АКТГ(6-9)-PGP в присутствии аминопептидазы выше, чем карбоксипептидазы. Устойчивость АКТГ(6-9)-PGP в присутствии ферментов крови и МФМК примерно одинаковая и, по-видимому, определяется действием карбоксипептидаз. Данные, полученные при использовании ферментной системы назальной слизи, указывают на большее влияние аминопептидаз в этом случае на протеолиз АКТГ(6-9)-PGP [58].

В присутствии аминопептидаз из АКТГ(6-9)-PGP могут образоваться Phe-Arg-Trp-Pro-Gly-Pro, Trp-Pro-Gly-Pro и Arg-Trp-Pro-Gly-Pro.

В течение первых 90 мин в присутствии лейцинаминопептидазы содержание метаболита без His (28%) превалирует перед Trp-Pro-Gly-Pro (без His-Phe-Arg, 18%). Но уже через 4 ч после начала реакции количество метаболита без His (2%), а Trp-Pro-Gly-Pro (12%) [58]. Таким образом, со временем соотношение метаболитов меняется.

Карбоксипептидаза Y в основном гидролизует C-концевой пролин. При этом содержание His-Phe-Arg-Trp-Pro-Gly за 90 мин растёт до 83%, затем начинает снижаться. Через 4 ч после начала реакции содержание His-Phe-Arg-Trp-Pro-Gly уменьшается до 66% [58].

Устойчивость Pro-Gly-Pro-Leu к лейцинаминопептидазе, МФМК, назальной слизи и плазме крови показала другие закономерности. В присутствии лейцинаминопептидазы уже через 2 ч количество исходного пептида уменьшается до 2.1%. В то время как с МФМК его количество составляет 71.2%. Еще выше количество Pro-Gly-Pro-Leu в присутствии назальной слизи и плазмы крови — 97.7% и 87.4%, соответственно [59].

VI.2. Исследование устойчивости производных биогенных аминов в экспериментах *in vitro*

Пептидные производные дофамина и серотонина более устойчивы, чем DOPA или 5-НТ с незащищенной аминокислотной группой. Особенно это касается DOPA, который окисляется легче, чем 5-НТ. В этих гибридных соединениях наблюдается взаимное влияние пептидного фрагмента и биогенного амина на их общую устойчивость в инкубационной среде [60]. По-видимому, наличие пролинового остатка и защитных групп на N-концевой аминокислоте ожидаемо увеличивает устойчивость DOPA и 5-НТ, а DOPA или 5-НТ, в свою очередь, защищают пептидный фрагмент от действия пептидаз. Не удивительно, что эти соединения устойчивы к действию как индивидуальных ферментов (лейцинаминопептидазы, карбоксипептидазы Y и B), так и ферментов плазмы крови [21].

Известно, что пролиназы присутствуют, например, в элементах крови, в мозге, они участвуют в процессе переваривания пролинсодержащих пептидов [60–70]. В качестве примера пролиновых пептидаз можно привести аминопептидазу P (КФ 3.4.11.9) [61–64], пептидазу D (КФ 3.4.13.9, иминопептидаза) [64, 66], дипептидилпептида-

зу IV (КФ 3.4.14.5, DPP-IV) [64, 67–69], дипептидилпептидазу II (КФ 3.4.14.2, DPP-II) [70], пролиновую эндопептидазу (КФ 3.4.21.26) [64]. Различное содержание пролиновых пептидаз в разных тканях и органах организма приводит к образованию разных количеств дофамина и серотонина в них. В результате можно ожидать избирательное действие гибридных соединений из пептидов и биогенных аминов в разных органах и тканях организма.

Для того, чтобы выяснить, происходит ли образование свободных биогенных аминов при деградации этих гибридных соединений, проводили протеолиз в присутствии PEP. Установлено, что при соотношении соединение/PEP 10 мкмоль ед⁻¹ содержание соединений с Вос-защитой в течение 4 ч составило 80–85%. В то время как с Z-защитой — в количестве 0–5%. Для более эффективного протеолиза соединений с Вос-защитой нужно увеличить концентрацию PEP в 10 раз. В этом случае за 4 ч содержание Вос-Gly-Pro-DOPA снизилось до 1%, а Вос-Gly-Pro-5-НТ — до 14%. Для оценки устойчивости LA-Gly-Pro-DOPA, где защиту глицинового фрагмента осуществляли жирной кислотой, концентрацию PEP пришлось увеличить еще в 10 раз. И даже при этом через 4 ч содержание LA-Gly-Pro-DOPA было более 60% [21].

Установлено, что под действием PEP Z-Gly-Pro-DOPA, Вос-Gly-Pro-DOPA и Z-Gly-Pro-5-НТ, Вос-Gly-Pro-5-НТ являются источниками DOPA и 5-НТ [21]. За 4 ч выход DOPA составляет 75–80%, а 5-НТ — 90–92%. По результатам этого исследования можно сделать вывод, что, используя производные DOPA и 5-НТ с разными защитными группами, можно регулировать образование этих биогенных аминов в живом организме.

VI.3. Исследование устойчивости фосфинатного аналога PGP

Для использования в качестве ингибиторов фосфинатных аналогов пептидов их протестируют на цитотоксичность и на устойчивость к действию протеаз по приведенной выше методике с использованием линии человеческой глиобластомы U-87MG и иммортализованных фибробластов BJ-5ta с помощью МТТ-теста [42]. При этом оказалось, что фосфинатный аналог PGP в концентрациях от 0.1 до 100 мкМ на жизнеспособность глиобластомы и фибробластов

не влияет. Кроме того установлено, что эти соединения ингибируют активность протеаз [42].

VI.4. Исследование устойчивости пептидов в экспериментах *in vivo*.

Ход проведения исследований по оценке устойчивости пептидов в экспериментах *in vivo* можно продемонстрировать при работе с АКТИГ(6-9)-PGP и Pro-Gly-Pro-Leu.

Для проведения работ *in vivo* равномерно меченный Pro-Gly-Pro-Leu интраназально (ИВ) или внутривенно (ВВ) вводили в организм крыс и определяли содержание Pro-Gly-Pro-Leu в крови и в тканях мозга [57, 71–73] (табл. 2).

Полученные результаты показали, что при ВВ содержание в крови Pro-Gly-Pro-Leu в течение часа снижается почти в 15 раз. В ткани мозга при этом попадает менее 1% от содержащегося в крови Pro-Gly-Pro-Leu. За час содержание пептида в мозге крыс уменьшается в 4 раза. При ИВ Pro-Gly-Pro-Leu наблюдается другая картина: в крови количество Pro-Gly-Pro-Leu проходит через максимум. В первые 20 мин содержание пептида в крови возрастает в 9 раз, а в мозге оно практически не меняется в течение 40 мин. Такое различие объясняется тем, что при ИВ биологически активные соединения могут попадать в кровь и мозг более сложными путями, чем при ВВ, когда пептид проникает в мозг практически только из кровотока. ИВ основано на способности пептидов всасываться в слизистую оболочку носовой полости и поступать постепенно в мозг и в системный кровоток одновременно. Таким образом, использование ИВ дает возможность введения пептидов напрямую в ЦНС, что может обеспечить высокую биодоступность [74, 75]. Помимо попадания препаратов в ЦНС через слизистую оболочку носовой полости установлены еще два пути их проникновения в ткани

Таблица 2. Зависимость содержания Pro-Gly-Pro-Leu в крови и мозге крыс от времени при ВВ или ИВ.

Время, мин	ВВ		ИВ	
	Содержание, пмоль г ⁻¹			
	Мозг	Кровь	Мозг	Кровь
2	3.3	608.2	1.0	7.4
5	4.9	359.3	1.1	10.9
20	3.7	98.0	1.0	67.4
40	2.3	73.4	0.9	1.2
60	1.2	41.6	0.5	1.1

мозга — через зону обонятельного нерва и через зону средней ветви тройничного нерва. Т.е. ИВ, в отличие от ВВ, позволяет обойти богатое различными протеазами кровеносное русло. Но при ИВ нельзя избежать деградации Pro-Gly-Pro-Leu под действием ферментов носовой полости и образование тритиевой воды под действием оксидоредуктазы, деаминазы, цитохрома Р450 и др., разрушающих аминокислотные остатки в пептидах [76]. Очевидно, что, если пептид всасывается из слизистой оболочки носовой полости в кровь и мозг постепенно, это объясняет появление максимумов на кинетических кривых и продолжительное постоянство Pro-Gly-Pro-Leu в тканях мозга.

Аналогичные закономерности обнаружены при определении концентрации АКТГ(6-9)-PGP в крови после ИВ и ВВ (табл. 3) [77, 78].

Так как при ИВ адсорбированный в носовой полости АКТГ(6-9)-PGP переходит в кровеносное русло постепенно, падение содержания АКТГ(6-9)-PGP в крови оказывается более плавным, чем при использовании ВВ.

Возникает вопрос, почему пептиды, которые очень быстро деградируют в живом организме, оказывают продолжительное действие после введения? По-видимому, механизм этого феномена заключается в том, что в носовой полости достаточно рецепторов, через которые реализуется нужное воздействие на ткани мозга для достижения необходимого клеточного ответа. Например, нейроны обонятельного рецептора (ОРН), аксоны которого заканчиваются на митральных клетках обонятельных луковиц, передают сенсорную информацию в ЦНС [79]. Передача этой информации заключается в поглощении сигнальных молекул в ОРН пассив-

ной диффузией с последующим медленным переносом ее вдоль нервных волокон, что может занимать время от нескольких часов до нескольких дней. В результате влияние этого препарата на функционирование жизненно важных систем может тоже быть продолжительным [39].

VI.5. Фармакокинетические параметры АКТГ(6-9)PGP и Pro-Gly-Pro-Leu

При исследовании фармакокинетических параметров при ВВ и ИВ АКТГ(6-9)-PGP и Pro-Gly-Pro-Leu установлено, что распределение Pro-Gly-Pro-Leu и его элиминация из крови и из организма в целом происходит быстрее, чем АКТГ(6-9)PGP (табл. 4) [73, 78, 80].

При ИВ АКТГ(6-9)-PGP и Pro-Gly-Pro-Leu максимальная концентрация АКТГ(6-9)PGP в ткани отличается от соответствующего значения для Pro-Gly-Pro-Leu в 1.7 раза (табл. 4). Расчетное время полной абсорбции АКТГ(6-9)-PGP из носовой полости отличается от Pro-Gly-Pro-Leu более чем в 4 раза. Особенно впечатляет разница в абсолютной биодоступности, для АКТГ(6-9)-PGP она более, чем в 200 раз выше, чем в случае Pro-Gly-Pro-Leu.

При сравнении фармакокинетических свойств Pro-Gly-Pro-Leu и АКТГ(6-9)PGP оказалось, что как процесс распределения Pro-Gly-Pro-Leu, так и его элиминации из крови происходит намного быстрее, чем АКТГ(6-9)PGP. Среднее время пребывания Pro-Gly-Pro-Leu в организме (MRT) также оказалось ниже, чем у АКТГ(6-9)PGP. Таким образом, АКТГ(6-9)-PGP и Pro-Gly-Pro-Leu существенно отличаются по ряду фармакокинетических показателей. В целом, при внутриненном введении АКТГ(6-9)-PGP демонстрирует более длительное пребывание в кровотоке, но в гораздо меньших концентрациях, чем Pro-Gly-Pro-Leu. Это позволяет сделать вывод, что молекула АКТГ(6-9)-PGP, в отличие от молекулы Pro-Gly-Pro-Leu, обладает способностью встраиваться в элементы крови и относительно долго ими удерживаться, предохраняя АКТГ(6-9)-PGP от быстрой деградации протеазами.

Проведенный по методу, описанному в работе [81], расчет показал, что при интраназальном способе введения около 33% и АКТГ(6-9)PGP, и Pro-Gly-Pro-Leu поступают из носовой полости в мозг крыс путем прямого транспорта, а около 67% опосредованно, после всасывания в кровь.

Таблица 3. Концентрация АКТГ(6-9)-PGP в крови крыс при разных способах введения пептида

Время, мин	Содержание, пмоль мл ⁻¹	
	ИВ	ВВ
5	0.4	2.1
10	0.6	1.5
30	0.7	0.9
60	1.0	0.5
120	1.1	0.5
180	0.6	0.2
300	0.1	0.1

Таблица 4. Значения фармакокинетических параметров, рассчитанных из данных по ВВ и ИВ, пептидов АКТГ(6-9)PGP и Pro-Gly-Pro-Leu

Фармакокинетический параметр	АКТГ(6-9)PGP		Pro-Gly-Pro-Leu	
	ВВ	ИВ	ВВ	ИВ
D , мкг кг ⁻¹	72.3	73.5	200	190
$C_{\max}$, нг мл ⁻¹	1.90	1.0	137.5	0.6
K_{abs} , мин ⁻¹	35×10^{-3}	22×10^{-3}	0.27	89×10^{-3}
K_{el} , мин ⁻¹	12×10^{-3}	0.01	0.14	83×10^{-3}
$t_{1/2, \text{abs}}$, мин ⁻¹	5.3	32.2	1.51	7.8
$t_{1/2, \text{el}}$, мин ⁻¹	84.5	71.4	19.3	8.4
AUC_{∞} , нг мл ⁻¹ мин ⁻¹	125	198	2428	18.9
MRT , мин	108	131	21.5	12.1
V_1 , мл кг ⁻¹	25090	33830	589	121310
V_{ss} , мл кг ⁻¹	62690	52460	1768	121310
C_1 , мл мин ⁻¹ кг ⁻¹	579	371	82.4	10050

VII. СПЕЦИФИЧЕСКОЕ СВЯЗЫВАНИЕ СИНТЕЗИРОВАННЫХ ПЕПТИДОВ, ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С РЕЦЕПТОРНЫМИ СИСТЕМАМИ

Меченные тритием препараты имеют существенные преимущества при исследовании лиганд-рецепторного связывания. Высокая молярная радиоактивность, практическое отсутствие изотопных эффектов при специфическом связывании с рецепторами позволяют добиться высокой чувствительности определения степени связывания, что необходимо для изучения механизма действия биологически активных препаратов [82].

Одним из ключевых этапов молекулярного механизма действия биологически активных препаратов являются специфические взаимодействия этих молекул с функционально значимыми специализированными белками, локализованными на поверхности клеток-мишеней. В основном такими структурами являются G-белки, рецепторы, сопряженные с G-белком (GPCR), ионные каналы, активируемые нейромедиаторами, или другие типы рецепторов, а также различные моно- и гетеромерные белки — рецепторные комплексы, представленные на внешних плазматических мембранах нервных клеток [83].

В основе системы скрининга лежит количественный анализ изменений, вызванных введением пептида, а именно: характер специ-

фических взаимодействий меченных тритием лигандов — различных эффекторных молекул (в том числе аналогов эндогенных нейромедиаторов) с соответствующими им рецепторными комплексами, локализованными на внешней мембране клеток головного мозга [82, 84, 85]. При помощи этой методики можно количественно оценить степень влияния исследуемых пептидов на молекулярно-функциональную активность клеточных рецепторных систем.

Известно, что дерморфин (Tyr-D-Ala-Phe-Gly-Tyr-Pro-Ser-NH₂) обладает сильнейшим анальгетическим действием. Встал вопрос, какой фрагмент этой молекулы ответственен за взаимодействие с опиоидной системой организма? Для этого были синтезированы Tyr-Pro-Ser-NH₂ и Tyr-D-Pro-Ser-NH₂ и исследована способность данных трипептидов связываться с дерморфиновыми рецепторами головного мозга крыс [86–88]. Изучали вытеснение [³H]-дерморфина из мест специфического связывания дерморфина с МФМК немечеными Tyr-Pro-Ser-NH₂ и Tyr-D-Pro-Ser-NH₂ в зависимости как от изменения концентрации [³H]дерморфина, так и от изменения концентрации немеченных лигандов. При этом оказалось, что характер связывания [³H]дерморфина с МФМК в присутствии Tyr-Pro-Ser-NH₂ и Tyr-D-Pro-Ser-NH₂, которые рассматривались как фрагменты молекулы дерморфина, изменяется только на одном участке насыщения >5 нМ [88].

Таким образом, получено еще одно свидетельство, что один из механизмов анальгетического действия С-концевых аналогов дерморфина связан с возможностью их взаимодействия с опиоидной системой организма. Значение подобных исследований не ограничивается поиском соединений, которые могут быть использованы для разработки лекарственных средств для решения конкретной задачи, но и приближают биологов и медиков к пониманию общих законов пептидной регуляции [89–92].

К сожалению, использование методики, основанной на специфических взаимодействиях меченных тритием препаратов с соответствующими им рецепторными комплексами, локализованными на внешней мембране клеток головного мозга, как правило, имеет целый ряд методических ограничений, возникающих при попытке использования стандартной, общепринятой в рамках метода техники постановки экспериментов. Фактически, условия проведения серии опытов для каждого радиоактивно меченого лиганда и группы немеченых пептидов требуется подбирать заново, корректировать и приводить к единому стандарту. Основная часть указанных выше затруднений связана с проявлением индивидуальных физико-химических свойств каждого конкретного пептида и является следствием особенностей молекулярного механизма его действия. К последним можно отнести:

- быструю деградацию пептидов под действием протеолитических ферментов, содержащихся в биологических жидкостях или на мембранах клеток мозга;
- большое число неспецифических взаимодействий пептидных лигандов на мембранах клеток мозга;
- стремление некоторых пептидов к образованию нестабильных комплексов со свободными (не закрепленными на мембране) белками;
- специфическую локализацию мест лиганд-рецепторных взаимодействий молекул нейропептидов (связанную с конкретным отделом мозга);
- возможное существование на мембранах клеток мозга сразу нескольких мест специфических взаимодействий, характеризующихся довольно высокими константами диссоциации лиганд-рецепторного комплекса;

– существование конкуренции за места связывания нативного пептида со стороны коротких фрагментов, образованных в ходе протеолиза исходной молекулы.

Кроме того, существует целый ряд других фактов, отражающих сложную организацию механизма действия пептидных регуляторов. Например, поиск мест специфического связывания некоторых меченных тритием пептидов – семакса, His-Phe-Pro-Gly-Pro, Pro-Gly-Pro – на плазматических мембранах клеток спинного и различных отделов головного мозга крысы позволил сделать выводы о существовании на поверхности нервных клеток мест специфических взаимодействий биологически активных пептидов данной группы, а также некоторых пептидных продуктов деградации изучаемых молекул. Несмотря на существование отличий в локализации мест специфического взаимодействия пептидов этой группы, установлено, что все указанные выше глипролины меланокортинового ряда имеют места специфического связывания на плазматических мембранах клеток гиппокампа. Так, как специфическое связывание на клетках гиппокампа у АКТГ(4-7)-Pro-Gly-Pro (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro) и АКТГ(6-7)-Pro-Gly-Pro (His-Phe-Pro-Gly-Pro) отличается всего в 1.3 раза, эти пептиды способны за них взаимно конкурировать [56].

В целом необходимо отметить ряд функционально важных особенностей молекулярного механизма действия глипролинов меланокортинового ряда группы. Во-первых, все биологически активные молекулы группы имеют места специфических взаимодействий на поверхности нервных клеток, при этом нельзя полностью исключать существование соответствующих пептидам орфановых рецепторов. Во-вторых, помимо центров связывания с высокой аффинностью, возможно существование центров связывания с более низким сродством, но достаточным для возникновения конкуренции за места связывания со стороны пептидов по отношению к эффекторным молекулам уже известных нейрорецепторов. В-третьих, все исследованные пептиды группы, модифицированные глипролинами, имеют места специфических взаимодействий на мембранах нервных клеток гиппокампа крыс, что позволило скорректировать и, в дальнейшем, стандартизировать методику проведения сравнительных экспериментов на выбранном биологическом объекте.

Приведенные данные носят достоверный количественный характер, но не дают качественную оценку мест специфического взаимодействия меченых пептидов, позволяя лишь с некоторой долей вероятности предполагать существование у изучаемого пептида сродства к тому или иному типу известных нейрорецепторов. Для того чтобы сделать качественную оценку этим взаимодействиям, необходимо использовать и другие схемы проведения экспериментов. Для реализации этих новых подходов учитываются данные о физиологических эффектах исследуемых пептидов, об их влиянии на культуры клеток, на изменение активности генов и т.п. (известно, например, о способности семакса оказывать влияние на нейрохимические показатели дофамин- и серотонинергических систем мозга животных, увеличивать скорость оборота серотонина, активировать гены раннего ответа в ядрах ряда нейронов, влиять на уровень циклического аденозинмонофосфата, концентрацию ионов Ca^{2+} в цитоплазме), а также используются результаты экспериментов по вытеснению меченых пептидов немечеными лигандами. В результате оказывается возможным дать как количественную, так и качественную характеристики пептидного взаимодействия с определенными рецепторными структурами.

VIII. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При конструировании лекарственных средств одним из перспективных направлений этого процесса является поиск материала, содержащего фрагмент, который обладает необходимой биологической активностью. После идентификации этого фрагмента становится возможным получение положительного результата. Удачным примером такого направления является получение таких лекарственных препаратов, как семакс или селанк.

Другими перспективными направлениями могут быть следующие:

1. Синтез ингибиторов, необходимых для регулирования процессов, определяющих жизнедеятельность живых клеток. Они являются основным механизмом контроля в биологических системах, влияя на функционирование фермента. Здесь, как правило, используют неприродные пептиды типа олигоаргининовых или фосфинатных пептидов.

2. Использование гибридных соединений. Например, пролинсодержащие биологически активные вещества, такие как производные дофамина, серотонина, доксорубина, которые с одной стороны более устойчивы в живых организмах, с другой — приобретают дополнительные свойства, полезные при лечении патологий.

3. Формирование набора меченных тритием аналогов пептидов и/или пептидных производных, содержащих флуоресцентные зонды, для проведения экспериментов *in vivo* и для определения специфического связывания. Без фармакокинетических исследований нельзя определить параметры, которые важны для использования на практике лекарственных препаратов.

4. Необходимо подчеркнуть, что, хотя использование дейтерия для отработки условий введения трития в органические соединения носит вспомогательный характер, но в тоже время он необходим для оценки распределения метки, и эта предварительная работа часто занимает основное время. По-видимому, весьма уместно здесь уделить несколько строчек направлению, связанному с получением дейтерированных препаратов, которые могут использоваться и как лекарственные средства. Особенно это стало актуальным в последнее время, когда FDA (США) одобрило дейтерированные препараты в качестве лекарств, после чего начались клинические испытания большого количества дейтерированных препаратов. Именно получению дейтерированных препаратов посвящено в последнее время много работ [93–99].

Только опираясь на знания, перечисленные выше, можно достаточно подробно разобраться, как взаимодействует кандидат в лекарственные препараты с рецепторными системами клетки, приблизиться к пониманию молекулярной основы формирования клеточного ответа [100, 101]. И только потом станет возможным проведение доклинических процедур, проведение клинических исследований, оформление разрешительной документации на лекарственное средство и внедрение препарата в клиническую практику.

БЛАГОДАРНОСТИ

Коллектив авторов благодарит В.В. Безуглова (Государственный научный центр РФ Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН), О.Ю. Соколова (Научный центр психического здоровья) и В.В. Рагу-

лина (Институт физиологически активных веществ Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии РАН) и их сотрудникам за данные, которые были включены в обзор.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ “Курчатовский институт”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Lebedev D.S., Kryukova E.V., Ivanov I.A., Egorova N.S., Timofeev N.D., Spirova E.N., Tufanova E.Yu., Siniavin A.E., Kudryavtsev D.S., Kasheverov I.E., Zouridakis M., Katsarava R., Zavrashvili N., Iagorshvili Ia., Tzartos S.J., Tsetlin V.I.* // *Mol. Pharmacol.* 2019. V. 96. № 5. P. 664–673. <https://doi.org/10.1124/mol.119.117713>
2. *Лаврова А.В., Грецкая Н.М., Акимов М.Г., Безуглов В.В.* // *Биоорг. химия.* 2019. Т. 45. № 5. С. 545–554. <https://doi.org/10.1134/S0132342319040055>
3. *Osmakov D.I., Koshelev S.G., Ivanov I.A., Andreev Y.A., Kozlov S.A.* // *Biomolecules.* 2019. V. 9. № 9. Article 401. <https://doi.org/10.3390/biom9090401>
4. *Liu X., Lynn B.C., Zhang J., Song L., Bom D., Du W., Curran D.P., Burke Th.G.* // *J. Am. Chem. Soc.* 2002. V. 124. № 26. P. 7650–7651. <https://doi.org/10.1021/ja0256212>
5. *Zhang X., Zhang X., Yu P., Han Y., Li Y., Li C.* // *J. Pharm. Sci.* 2013. V. 102. № 1. P. 145–153. <https://doi.org/10.1002/jps.23344>
6. *Huang S., Fang R., Xu J., Qiu Sh., Zhang H., Du J., Cai Sh.* // *J. Drug Target.* 2011. V. 19. № 7. P. 487–496. <https://doi.org/10.3109/1061186X.2010.511225>
7. *Gileva A., Sarychev G., Kondrya U., Mironova M., Sapach A., Selina O., Budanova U., Burov S., Sebyakin Yu., Markvicheva E.* // *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 2019. V. 100. P. 724–734. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.02.111>
8. *Глазова Н.Ю., Левицкая Н.Г., Андреева Л.А., Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф.* // *Докл. АН.* 1999. Т. 367. № 1. С. 137–140.
9. *Ашмарин И.П., Алфеева Л.Ю., Андреева Л.А., Гривенников И.А., Дубынин В.А., Каменский А.А., Козловская М.М., Левицкая Н.Г., Мясоедов Н.Ф., Незавибатько В.Н., Середенин С.Б.* Семейство пептидов, обладающих нейротропными свойствами. Патент РФ № 2206573. 2003.
10. *Алфеева Л.Ю., Андреева Л.А., Воронина Т.А., Гузевых Л.С., Емельянова Т.Г., Мясоедов Н.Ф., Середенин С.Б.* Семейство пептидов, обладающее анальгетической активностью. Патент РФ № 2286169. 2006.
11. *Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф., Зозуля А.А., Кост Н.В., Мешавкин В.К., Воронина Т.А., Гарибова Т.Л., Середенин С.Б.* Средство, обладающее антипсихотической активностью. Патент РФ № 2411248. 2011.
12. *Андреева Л.А., Мезенцева М.В., Шаповал И.М., Щербенко В.Э., Ершов Ф.И., Мясоедов Н.Ф.* Средство против вирусов: энцефаломиокардита, гриппа А, простого герпеса 2. Патент РФ № 2411249. 2011.
13. *Kolomin T., Shadrina M., Slominsky P., Limborska S., Myasoedov N.F.* // *Neurosci. Med.* 2013. V. 4. № 4. P. 223–252. <https://doi.org/10.4236/nm.2013.44035>
14. *Вьюнова Т.В., Андреева Л.А., Шевченко К.В., Шевченко В.П., Мясоедов Н.Ф.* // *Нейрохимия.* 2016. Т. 33. № 3. С. 230–237. <https://doi.org/10.7868/S1027813316030134>
15. *Пономарева-Степная М.А., Бахарев В.Д., Незавибатько В.Н., Андреева Л.А., Алфеева Л.Ю., Потаман В.Н.* // *Хим.-фарм. журн.* 1986. Т. 20. № 6. С. 667–670.
16. *Пономарева-Степная М.А., Незавибатько В.Н., Антонова Л.В., Андреева Л.А., Алфеева Л.Ю., Потаман В.Н., Каменский А.А., Ашмарин И.П.* // *Хим.-фарм. журн.* 1984. Т. 18. № 7. С. 790–795.
17. *Ашмарин И.П., Незавибатько В.Н., Мясоедов Н.Ф., Каменский А.А., Гривенников И.А., Пономарева-Степная М.Я., Андреева Л.А., Каплан А.Я., Кошелев В.Б., Рясина Т.В.* // *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова.* 1997. Т. 47. № 2. С. 420–430.
18. *Семенова А.И.* // *Практическая онкология.* 2009. Т. 10. № 3. С. 168–176.
19. *Minotti G., Menna P., Salvatorelli E., Cairo G., Gianni L.* // *Pharmacol. Rev.* 2004. V. 56. № 2. P. 185–229. <https://doi.org/10.1124/pr.56.2.6>
20. *Octavia Y., Tocchetti C.G., Gabrielson K.L., Janssens S., Crijns H.J., Moens A.L.* // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2012. V. 52. № 6. P. 1213–1225. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2012.03.006>

21. Шевченко К.В., Андреева Л.А., Нагаев И.Ю., Шевченко В.П., Мясоедов Н.Ф. // Биомед. химия. 2019. Т. 65. № 6. С. 498–506.
<https://doi.org/10.18097/PBMC20196506498>
22. Bisogno T., Melck D., Bobrov M.Yu., Gretskeya N.M., Bezuglov V.V., De Petrocellis L., Di Marzo V. // Biochem. J. 2000. V. 351. № 3. P. 817–824.
<https://doi.org/10.1042/bj3510817>
23. Бобров М.Ю., Генрихс Е.Е., Барсков И.В., Лыжнин А.А., Фрумкина Л.Е., Андрианова Е.Л., Обороина М.В., Хаспеков Л.Г. Нейропротекторный эффект модуляторов эндогенной каннабиноидной системы при экспериментальной церебральной ишемии. Материалы Международной конференции “Рецепторы и внутриклеточная сигнализация” (24–26 мая 2011 г., Пушкино, Россия). 2011. Т. 1. С. 94–98.
24. Радченко Е.В., Карпов П.В., Соснин С.Б., Дябина А.С., Соснина Е.А., Палюлин В.А., Зефиоров Н.С. Система прогнозирования фармакокинетических свойств и токсичности лекарственных веществ. Материалы XX Менделеевского съезда по общей и прикладной химии (26–30 сентября 2016 г., Екатеринбург, Россия). 2016. С. 432.
25. Дябина А.С., Радченко Е.В., Палюлин В.А., Зефиоров Н.С. // Докл. АН. 2016. Т. 470. № 6. С. 720–723.
<https://doi.org/10.7868/S0869565216300253>
26. Шевченко В.П., Андреева Л.А., Нагаев И.Ю., Шевченко К.В., Мясоедов Н.Ф. // Радиохимия. 2020. Т. 62. № 3. С. 247–252.
<https://doi.org/10.31857/S0033831120030090>
27. Di L., Kerns E.H., Fan K., McConnell O.J., Carter G.T. // Eur. J. Med. Chem. 2003. V. 38. № 3. P. 223–232.
[https://doi.org/10.1016/S0223-5234\(03\)00012-6](https://doi.org/10.1016/S0223-5234(03)00012-6)
28. Шевченко В.П., Андреева Л.А., Нагаев И.Ю., Шевченко К.В., Мясоедов Н.Ф. // Докл. АН. 2019. Т. 488. № 6. С. 682–684.
<https://doi.org/10.31857/S0869-56524886682-684>
29. Lee G., Dallas S., Hong M., Bendayan R. // Pharmacol. Rev. 2001. V. 53. № 4. P. 569–596.
30. Collinsova M., Jiracek J. // Curr. Med. Chem. 2000. V. 7. № 6. P. 629–647.
<https://doi.org/10.2174/0929867003374831>
31. Дмитриев М.Э., Винюков А.В., Рагулин В.В., Мясоедов Н.Ф. // Журн. общ. хим. 2015. Т. 85. № 9. С. 1576–1579
32. Peyman A., Budt K.-H., Spanig J., Stowasser B., Ruppert D. // Tetrahedron Lett. 1992. V. 33. № 32. P. 4549–4552.
[https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)61309-6](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)61309-6)
33. Peyman A., Wagner K., Budt K.-H., Spanig J., Ruppert D., Meichsner C., Paessens A. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 1994. V. 4. № 10. P. 1191–1194.
[https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(01\)80327-9](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(01)80327-9)
34. Dive V., Georgiadis D., Matziari M., Makaritis A., Beau F., Cuniassé P., Yiotakis A. // Cell. Mol. Life Sci. 2004. V. 61. № 16. P. 2010–2019.
<https://doi.org/10.1007/s00018-004-4050-y>
35. Гринштейн Дж., Виноц М. Химия аминокислот и пептидов. М.: Мир, 1965. 826 с.
36. Гершкович А.А., Кибирев В.К. Химический синтез пептидов. Киев: Наукова Думка, 1992. 360 с.
37. Шевченко В.П., Андреева Л.А., Шевченко К.В., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф. // Радиохимия. 2020. Т. 62. № 4. С. 344–347.
<https://doi.org/10.31857/S0033831120040085>
38. Шевченко В.П., Андреева Л.А., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф. // Докл. АН. 2019. Т. 485. № 2. С. 182–185.
<https://doi.org/10.31857/S0869-56524852182-185>
39. Шевченко К.В., Нагаев И.Ю., Андреева Л.А., Шевченко В.П., Мясоедов Н.Ф. // Хим.-фарм. журн. 2019. Т. 53. № 2. С. 3–15.
<https://doi.org/10.30906/0023-1134-2019-53-2-3-15>
40. Kadota T., Yamaai T., Saito Y., Akita Y., Kawashima S., Moroi K., Inagaki N., Kadota K. // J. Histochem. Cytochem. 1996. V. 44. № 9. P. 989–996.
<https://doi.org/10.1177/44.9.8773564>
41. Yiotakis A., Vassiliou S., Jiracek J., Dive V. // J. Org. Chem. 1996. V. 61. № 19. P. 6601–6605.
<https://doi.org/10.1021/jo9603439>
42. Шевченко К.В., Дмитриев М.Э., Винюков А.В., Шевченко В.П., Калашникова И.П., Нагаев И.Ю., Рагулин В.В., Мясоедов Н.Ф. // Докл. Российской академии наук. Химия, науки о материалах. 2021. Т. 498. С. 30–33.
<https://doi.org/10.31857/S2686953521010106>
43. Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф. Меченные тритием липофильные соединения. М.: Наука, 2003. 246 с.
44. Шевченко В.П., Радилов А.С., Нагаев И.Ю., Шевченко К.В., Рембовский В.Р., Мясоедов Н.Ф. // Радиохимия. 2015. Т. 57. № 5. С. 463–465.
45. Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Шевченко К.В., Мясоедов Н.Ф. // Радиохимия. 2013. Т. 55. № 3. С. 284–288.
46. Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Шевченко К.В., Мясоедов Н.Ф. // Докл. АН. 2016. Т. 466. № 6. С. 683–687.
<https://doi.org/10.7868/S086956521606013X>

47. Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Петунов С.Г., Шевченко К.В., Радилов А.С., Мясоедов Н.Ф. // Докл. АН. 2015. Т. 464. № 5. С. 562–567.
<https://doi.org/10.7868/S0869565215290149>
48. Mosmann T. // J. Immunol. Methods. 1983. V. 65. № 1–2. P. 55–63.
[https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
49. Chen J., Rusnak M., Luedtke R.R., Sidhu A. // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. № 38. P. 39317–39330.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M403891200>
50. Siddiqui M.A., Kashyap M.P., Khanna V.K., Yadav S., Al-Khedhairi A.A., Musarrat J., Pant A.B. // Toxicol. Ind. Health. 2010. V. 26. № 8. P. 533–542.
<https://doi.org/10.1177/0748233710377776>
51. Marinova Z., Walitza S., Grunblatt E. // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. 2013. V. 44. P. 64–72.
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.01.017>
52. Soll C., Riener M.-O., Oberkofler C.E., Hellerbrand C., Wild P.J., DeOliveira M.L., Clavien P.-A. // Clin. Cancer Res. 2012. V. 18. № 21. P. 5902–5910.
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-1813>
53. Нагаев И.Ю., Шевченко В.П., Дмитриев М.Э., Головаш С.Р., Бородачев А.В., Андреева Л.А., Рагулин В.В., Мясоедов Н.Ф. Повышение устойчивости дофамина и серотонина получением производных по аминокетамин и синтез меченых изотопами водорода аналогов. Материалы 6-й Российской конференции по медицинской химии Медхим 2024 (1–4 июля 2024 г., Нижний Новгород, Россия). 2024. С. 350.
54. Позднякова А.Н., Черемных Е.Г., Соколов О.Ю., Кост Н.В., Шевченко К.В., Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф. // Доклады Российской Академии Наук. Наука о жизни. 2021. Т. 497. С. 199–203.
<https://doi.org/10.31857/S2686738921020220>
55. Шевченко К.В., Вьюнова Т.В., Нагаев И.Ю., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф. // Биорг. химия. 2013. Т. 39. № 3. С. 320–325.
<https://doi.org/10.7868/S0132342313030159>
56. Вьюнова Т.В., Шевченко К.В., Андреева Л.А., Шевченко В.П., Радилов А.С., Дулов С.А., Петунов С.Г., Мясоедов Н.Ф. // Хим.-фарм. журн. 2017. Т. 51. № 5. С. 9–12.
57. Шевченко К.В., Вьюнова Т.В., Андреева Л.А., Нагаев И.Ю., Шевченко В.П., Мясоедов Н.Ф. // Хим.-фарм. журн. 2015. Т. 49. № 2. С. 12–17.
58. Шевченко К.В., Дулов С.А., Андреева Л.А., Нагаев И.Ю., Шевченко В.П., Радилов А.С., Мясоедов Н.Ф. // Биорг. химия. 2016. Т. 42. № 2. С. 171–181.
<https://doi.org/10.7868/S0132342316020123>
59. Шевченко К.В., Андреева Л.А., Нагаев И.Ю., Шевченко В.П., Мясоедов Н.Ф. Роль протеолиза пептидов в формировании клеточного ответа. Материалы 6-ой Международной конференции “Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам” (9–13 ноября 2015 г., Мытищи, Россия). 2015. С. 64.
60. Walker J.R., Altman R.K., Warren J.W., Altman E. // J. Pept. Res. 2003. V. 62. № 5. P. 214–226.
<https://doi.org/10.1034/j.1399-3011.2003.00085.x>
61. Hooper N.M., Htyszko J., Turner A.J. // Biochem. J. 1990. V. 267. № 2. P. 509–515.
<https://doi.org/10.1042/bj2670509>
62. Fleminger G., Yaron A. // Biochim. Biophys. Acta. 1984. V. 789. № 3. P. 245–256.
[https://doi.org/10.1016/0167-4838\(84\)90180-8](https://doi.org/10.1016/0167-4838(84)90180-8)
63. Lin L.N., Brandts J.F. // Biochemistry. 1979. V. 18. № 23. P. 5037–5042.
<https://doi.org/10.1021/bi00590a002>
64. Yaron A., Naider F. // Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 1993. V. 28. № 1. P. 31–81.
<https://doi.org/10.3109/10409239309082572>
65. Lin L.N., Brandts J.F. // Biochemistry. 1979. V. 18. № 1. P. 43–47.
<https://doi.org/10.1021/bi00568a007>
66. King G.F., Kuchel P.W. // Biochem. J. 1984. V. 220. № 2. P. 553–560.
<https://doi.org/10.1042/bj2200553>
67. Kenny A.J., Booth A.G., George S.G., Ingram J., Kershaw D., Wood E.J., Young A.R. // Biochem. J. 1976. V. 157. № 1. P. 169–182.
<https://doi.org/10.1042/bj1570169>
68. Heins J., Welker P., Schonlein C., Born J., Hartrodt B., Neubert K., Tsuru D., Barth A. // Biochim. Biophys. Acta. 1988. V. 954. № 2. P. 161–169.
[https://doi.org/10.1016/0167-4838\(88\)90067-2](https://doi.org/10.1016/0167-4838(88)90067-2)
69. Morita A., Chung Y.C., Freeman H.J., Erickson R.H., Sleisinger M.H., Kim Y.S. // J. Clin. Invest. 1983. V. 72. № 2. P. 610–616.
<https://doi.org/10.1172/JCI111009>
70. Mentlein R., Struckhoff G. // J. Neurochem. 1989. V. 52. № 4. P. 1284–1293.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1989.tb01877.x>
71. Шевченко К.В., Вьюнова Т.В., Андреева Л.А., Шевченко В.П., Мясоедов Н.Ф. Фармакокинетика и метаболизм Pro-Gly-Pro-Leu в различных отделах мозга крыс при интраназальном и внутривенном введении. Материалы VI Российского симпозиума “Белки и пептиды” (11–15 июня 2013 г., Уфа, Россия). 2013. С. 173.

72. Шевченко К.В., Вьюнова Т.В., Андреева Л.А., Нагаев И.Ю., Шевченко В.П., Мясоедов Н.Ф. // Бюл. эксп. биол. и мед. 2014. Т. 158. № 7. С. 43–48.
73. Шевченко К.В., Вьюнова Т.В., Андреева Л.А., Нагаев И.Ю., Шевченко В.П., Мясоедов Н.Ф. // Докл. АН. 2014. Т. 456. № 5. С. 613–617. <https://doi.org/10.7868/S0869565214170290>
74. Furubayashi T., Kamaguchi A., Kawaharada K., Masaoka Y., Kataoka M., Yamashita S., Higashi Y., Sakane T. // Biol. Pharm. Bull. 2007. V. 30. № 5. P. 1007–1010. <https://doi.org/10.1248/bpb.30.1007>
75. Hashizume R., Ozawa T., Gryaznov S.M., Bollen A.W., Lamborn K.R., Frey W.H., Deen D.F. // Neuro-Oncology. 2008. V. 10. № 2. P. 112–120. <https://doi.org/10.1215/15228517-2007-052>
76. Привалова А.М., Гуляева Н.В., Букреева Т.В. // Нейрохимия. 2012. Т. 29. № 2. С. 93–105.
77. Шевченко К.В., Нагаев И.Ю., Бабаков В.Н., Андреева Л.А., Шевченко В.П., Радилев А.С., Мясоедов Н.Ф. // Докл. АН. 2015. Т. 464. № 3. С. 373–376. <https://doi.org/10.7868/S0869565215270262>
78. Шевченко К.В., Андреева Л.А., Нагаев И.Ю., Шевченко В.П., Мясоедов Н.Ф. Протеолиз His-Phe-Arg-Trp-Pro-Gly-Pro [АКТГ(6-9)-PGP] *in vitro*, *in vivo* и степень проникновения пептида в кровь и мозг крыс при интраназальном и внутривенном введении. Материалы II Научной конференции “Физиологическая активность регуляторных пептидов”, посвященной 90-летию со дня рождения академика РАМН И.П. Ашмарина (18 сентября 2015 г., Москва, Россия). 2015. С. 45.
79. Clerico D.M., To W.C., Lanza D.C. Anatomy of the human nasal passages. In: Handbook of olfaction and gustation. 2nd edn. Doty R.L. (Ed.), New York: Marcel Dekker. Inc., 2003. P. 1–16.
80. Нагаев И.Ю., Шевченко В.П., Шевченко К.В., Андреева Л.А., Шрам С.И., Мясоедов Н.Ф. Фармакокинетические характеристики пептида Pro-Gly-Pro-Leu. Материалы V съезда фармакологов России “Научные основы поиска и создания новых лекарств” (14–18 мая 2018 г., Ярославль, Россия). 2018. С. 167.
81. Charlton S.T., Whetstone J., Fayinka S.T., Read K.D., Illum L., Davis S.S. // Pharm. Res. 2008. V. 25. № 7. P. 1531–1543. <https://doi.org/10.1007/s11095-008-9550-2>
82. Смирнов А.Н., Покровская Е.В., Шевченко В.П., Левина И.С., Камерницкий А.В. // Проблемы эндокринологии. 1998. Т. 44. № 1. С. 37–40. <https://doi.org/10.14341/probl199844137-40>
83. Мясоедов Н.Ф., Гривенников И.А. Проблемы и перспективы молекулярной генетики. М.: Наука, 2004. 330 с.
84. Bergelson L.D., Bukrinskaya A.G., Prokazova N.V., Shaposhnikova G.I., Kocharov S.L., Shevchenko V.P., Kornilova G.V., Fomina-Ageeva E.V. // Eur. J. Biochem. 1982. V. 128. № 2–3. P. 467–474. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1982.tb06988.x>
85. Проказова Н.В., Михайленко И.А., Преображенский С.Н., Иванов В.О., Шевченко В.П., Репин В.С., Бергельсон Л.Д. // Биологические мембраны. 1986. Т. 3. № 5. С. 463–471.
86. Громовых П.С., Андреева Л.А., Алфеева Л.Ю., Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Шевченко К.В., Мясоедов Н.Ф., Гузевых Л.С., Воронина Т.А. // Радиохимия. 2007. Т. 49. № 1. С. 93–96.
87. Громовых П.С., Гузевых Л.С., Шевченко К.В., Андреева Л.А., Алфеева Л.Ю., Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Воронина Т.А., Мясоедов Н.Ф. // Биоорг. химия. 2007. Т. 33. № 6. С. 581–587.
88. Громовых П.С., Соколов О.Ю., Кост Н.В., Зозуля А.А., Гузевых Л.С., Андреева Л.А., Алфеева Л.Ю., Шевченко К.В., Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф. // Докл. АН. 2008. Т. 419. № 2. С. 276–278.
89. Вьюнова Т.В., Андреева Л.А., Шевченко К.В., Шевченко В.П., Бобров М.Ю., Безуглов В.В., Мясоедов Н.Ф. // Докл. АН. 2008. Т. 419. № 1. С. 136–137.
90. Вьюнова Т.В., Шевченко К.В., Шевченко В.П., Бобров М.Ю., Безуглов В.В., Мясоедов Н.Ф. // Нейрохимия. 2006. Т. 23. № 1. С. 57–62.
91. Вьюнова Т.В., Шевченко К.В., Шевченко В.П., Бобров М.Ю., Безуглов В.В., Мясоедов Н.Ф. // Докл. АН. 2006. Т. 410. № 1. С. 134–135.
92. Вьюнова Т.В., Шевченко К.В., Шевченко В.П., Безуглов В.В., Мясоедов Н.Ф. Модифицированные фрагменты эндогенных нейропептидов – перспективные кандидаты на роль лекарственных препаратов широкого спектра действия. Материалы V Международного междисциплинарного конгресса “Нейронаука для медицины и психологии” (3–13 июня 2009 г., Судак, Россия). 2009. С. 71.
93. Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф., Стволинский С.Л. // Радиохимия. 2022. Т. 64. № 6. С. 568–572. <https://doi.org/10.31857/S0033831122060107>

94. Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Лопачев А.В., Мясо-едов Н.Ф. // Хим.-фарм. журн. 2022. Т. 56. № 11. С. 48–52.
<https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-11-48-52>
95. Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Федорова Т.Н., Мясо-едов Н.Ф. // Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. 2023. Т. 508. № 1. С. 23–29.
<https://doi.org/10.31857/S2686738922700020>
96. Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Куликова О.И., Мясо-едов Н.Ф. // Доклады Российской академии наук. Химия, науки о материалах. 2023. Т. 511. № 1. С. 42–46.
<https://doi.org/10.31857/S2686953523600058>
97. Syroeshkin A., Pleteneva T., Uspenskaya E., Zlatskiy I., Antipova N., Grebennikova T., Levitskaya O. // Chem. Eng. J. 2019. V. 377. Article 119827.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.08.213>
98. Pirali T., Serafini M., Cargnin S., Genazzani A.A. // J. Med. Chem. 2019. V. 62. № 11. P. 5276–5297.
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01808>
99. Atzrodt J., Derdau V., Kerr W.J., Reid M. // Angew. Chem. Int. Ed. 2018. V. 57. № 7. P. 1758–1784.
<https://doi.org/10.1002/anie.201704146>
100. Ляпина Л.А., Григорьева М.Е., Оберган Т.Ю., Шубина Т.А., Мясоедов Н.Ф., Андреева Л.А. Синхронизм действия регуляторных пептидов на метаболизм жиров, углеводов и систему гемостаза. М.: Ким Л.А., 2021. 110 с.
101. Мясоедов Н.Ф., Ляпина Л.А., Григорьева М.Б., Оберган Т.Ю., Шубина Т.А., Андреева Л.А. Комплексная роль глипролиновых пептидов в регуляции метаболизма жиров, углеводов и системы гемостаза. М.: Ким Л.А., 2021. 102 с.

SPECIAL APPROACHES FOR THE SYNTHESIS AND USE OF PEPTIDE FRAGMENTS AND THEIR ANALOGUES IN THE DESIGN OF MEDICINES

V. P. Shevchenko^{a, #}, T. V. Vyunova^a, L. A. Andreeva^a, I. Yu. Nagaev^a,
K. V. Shevchenko^a, Academician of the RAS N. F. Myasoedov^a

^a National Research Centre “Kurchatov Institute” (NRC “Kurchatov Institute”), 123182 Moscow, Russian Federation

[#]E-mail: nagaev.img@yandex.ru

A number of modern methods for the preparation of hybrid compounds using peptide fragments are described. Biologically active compounds were modified using organic acids, proline (Pro-Gly-Pro) and phosphinate fragments. The methods of synthesis of hybrid compounds that can be used to obtain organic compounds labeled with hydrogen isotopes are shown. Cytotoxicity, specific binding of synthesized compounds to receptor systems and other characteristics of these compounds have been studied.

Keywords: synthesis, peptide analogues, hydrogen isotopes

УДК 546.302+544.478

ПОЛУЧЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ МЕДИ И НИКЕЛЯ МЕТОДОМ МАГНЕТРОННОГО РАСПЫЛЕНИЯ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В РЕАКЦИИ АКТИВАЦИИ СВЯЗИ СЕРА–СЕРА

© 2024 г. А. С. Кашин^{1,*}

Представлено академиком РАН В.П. Ананиковым 21.10.2024 г.

Поступило 21.10.2024 г.

После доработки 15.11.2024 г.

Принято к публикации 18.11.2024 г.

Настоящая работа посвящена систематическому исследованию преимуществ и ограничений метода магнетронного распыления, являющегося удобным и перспективным способом получения наноразмерных частиц напрямую из массы металла, при его использовании для приготовления наночастиц металлов первого переходного ряда. В ходе работы проведено варьирование сред для напыления на основе ионных жидкостей, эвтектических растворителей, низко- и высокомолекулярных органических соединений. Получены частицы меди, никеля, а также медно-никелевого и медно-цинкового сплавов. На примере реакции активации связи сера–сера в дифенилдисульфиде показано, что до 96% распыленной меди может быть эффективно использовано в катализе, тогда как в случае никеля и цинка порядка трех четвертей металла может выводиться из системы в неактивной форме, при этом легкоокисляемые компоненты могут выступать в качестве жертвенных стабилизаторов для частиц умеренно активных металлов в случае напыления двухкомпонентных сплавов.

Ключевые слова: наночастицы металлов, тиолаты металлов, магнетронное распыление, электронная микроскопия, ионные жидкости

DOI: 10.31857/S2686953524050022, **EDN:** JHSTCU

ВВЕДЕНИЕ

Каталитические методы органического синтеза играют важную роль в современной химии, поскольку являются удобным и доступным инструментом создания связей углерод–углерод и углерод–элемент при конструировании сложных органических молекул, служащих основой полимеров, лекарственных препаратов, агрохимикатов и других широко востребованных синтетических материалов [1–5]. Одним из наиболее распространенных типов катализаторов для лабораторных и промышленных приложений являются наночастицы переходных металлов благодаря возможности варьирования их свойств путем изменения формы, размера, структуры поверхности, а также их допирования атомами других элементов [6–10]. Повышенный интерес к созданию металлосодержащих катализаторов данного типа привел к разработке множества методов получения наночастиц, среди которых особняком стоят подходы, основанные

на прямом получении наноразмерной металлической фазы из массы металла. К таким методам можно отнести, например, электрохимическое травление [11–14], лазерную абляцию [15–18] и магнетронное распыление [19–23].

Метод магнетронного распыления зарекомендовал себя как быстрый и универсальный способ получения высокодисперсных частиц металлов различной природы и их сплавов за счет непосредственной бомбардировки соответствующей металлической мишени ионами аргона без необходимости использования химических восстановителей и вытравливающих агентов. Частицы металлов и сплавов, полученные методом магнетронного распыления, нашли широкое применение в химии, например, в электрокатализе в процессах окисления метилового и этилового спиртов [24–27], восстановления кислорода [28–30] и углекислого газа [31]. Стоит отметить, что, несмотря на практическую привлекательность метода, в литературе найдено лишь небольшое число отдельных не систематизированных примеров использования данной техники получения наноразмерных катализато-

¹ Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук, 119991 Москва, Россия

*E-mail: a.kashin@ioc.ac.ru

ров для реакций органического синтеза. В данных работах описаны синтез частиц на основе благородных металлов — золота и палладия — и их использование в реакциях Сузуки [32], гидрирования 1,3-циклогексадиена [33], окисления 1-фенилэтанола [34] и восстановления 4-нитрофенола [35]. Кроме того, в работе [36] изложены результаты исследования взаимодействия распыленных в ионную жидкость наночастиц палладия с иодбензолом при помощи *in situ* электронной микроскопии.

В настоящей работе впервые проводится систематическое исследование возможностей использования метода магнетронного распыления для получения частиц высокоактивных металлов — меди и никеля — как потенциальных катализаторов различных процессов в тонком органическом синтезе. В результате проведенной работы было показано, что высокоактивные и стабильные частицы меди могут быть получены путем распыления в среду пиридиневой ионной жидкости $[\text{C}_4\text{Py}][\text{BF}_4]$ или полиэтиленгликоля. Распыление же высокоактивных металлов представляет собой более сложную задачу, однако в случае биметаллических систем легкоокисляемый компонент может быть использован в качестве жертвенного для стабилизации частиц умеренно активного металла, что было показано на примере сравнения химического поведения наночастиц, полученных из чистой меди и медно-цинкового сплава, в реакции активации связи сера–сера в дифенилдисульфиде.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Методы анализа. Исследование методом сканирующей просвечивающей электронной микроскопии (СПЭМ) проводили с использованием микроскопа Hitachi SU8230 (Regulus 8230). Запись изображений проводили в режиме светлого поля при ускоряющем напряжении 30 кВ. Перед проведением измерений жидкие образцы в исходном виде наносили на медные сетки (200 mesh) с ячеистой пленкой углерод/формвар. Для изучения порошкообразных материалов методом рентгеноспектрального микроанализа их приклеивали к алюминиевому столику диаметром 1 дюйм при помощи электропроводящего углеродного скотча и напыляли на них слой углерода толщиной 20 нм. Измерения проводили на электронном микроскопе Hitachi SU8000,

оснащенном энергодисперсионным рентгеновским спектрометром Oxford Instruments X-Max 80, при ускоряющем напряжении 20 кВ.

Подготовка сред для магнетронного распыления. Все исходные индивидуальные соединения (ионные жидкости $[\text{C}_4\text{mim}][\text{BF}_4]$, $[\text{C}_4\text{mim}][\text{OTf}]$, $[\text{C}_4\text{mim}][\text{OAc}]$ и $[\text{C}_4\text{Py}][\text{BF}_4]$; хлорид холина, диметилформамид, диметилсульфоксид, мочевины и полиэтиленгликоль) были получены из коммерческих источников. Глубокий эвтектический растворитель готовили смешиванием хлорида холина с мочевиной в чашке Петри в мольном отношении 1 : 2 с последующим периодическим перемешиванием в течение 1 ч при 80°C. Перед напылением металла 1 мл жидкости помещали в одноразовую чашку Петри диаметром 55 мм, предварительно обработанную аргоновой плазмой для увеличения смачиваемости. Непосредственно перед помещением заполненной чашки Петри в камеру устройства магнетронного распыления ее выдерживали при температуре 80°C и давлении 0.15 мбар с целью дегазации жидкости, удаления абсорбированной воды и первичной проверки устойчивости жидкости при пониженном давлении. Аналогичную процедуру для сред, содержащих летучие компоненты, проводили при комнатной температуре.

Распыление частиц металлов и сплавов. Чашку Петри диаметром 55 мм, содержащую 1 мл предварительно подготовленной жидкой среды, помещали в камеру устройства магнетронного распыления Cressington 208HR. Воздух из камеры откачивали до достижения давления 0.01 мбар, а затем заполняли камеру аргоном чистотой 99.9999% (марка 6.0). Процедуру повторяли трижды, после чего переводили камеру в режим постоянной продувки аргоном при давлении 0.03 мбар. Распыление металла проводили бомбардировкой металлической мишени ионами аргона при силе тока 40–60 мА. В качестве источника металла использовали мишень в форме диска диаметром 57 мм и толщиной 0.2 мм. Чистота материала мишени (медь, никель, мельхиор или латунь) составляла более 99.5%. Количество наносимого в жидкость металла контролировали при помощи кварцевых микровесов по величине толщины напыляемого слоя, которая составляла 60, 56, 59 и 63 нм для меди, никеля, мельхиора и латуни соответственно, в расчете на 0.02 М концентрацию металла в готовом образце. После окончания напыле-

ния камеру заполняли аргоном, содержимое чашки Петри перемешивали при помощи одно-разового пластикового шпателя, затем чашку Петри закрывали крышкой и герметизировали парафиновой лентой, не вынимая ее из камеры и не прекращая продувку камеры аргоном. Полученные материалы использовали для анализа методом СПЭМ и проведения химических превращений сразу же после разгерметизации чашки Петри. Контрольное напыление на алюминиевую фольгу проводили при аналогичных параметрах.

Реакция наночастиц металлов с дифенилди-сульфидом. 200 мкл дисперсии наночастиц металлов (4 мкмоль металла) в ионной жидкости $[\text{C}_4\text{Py}][\text{BF}_4]$ помещали в пластиковую микропробирку объемом 1.5 мл и добавляли к ней 43.6 мг (200 мкмоль) дифенилдисульфида. Реакционную смесь нагревали при периодическом перемешивании в течение 30 мин при 120°C . После окончания реакции небольшую порцию реакционной смеси (порядка 1 мкл) отбирали для анализа методом СПЭМ, а оставшуюся массу разбавляли 2 мл ацетонитрила. Выпавший осадок отделяли центрифугированием ($14500 \text{ об. мин}^{-1}$, 3 мин), а затем промывали ацетонитрилом (3 раза по 1 мл) с промежуточным центрифугированием ($14500 \text{ об. мин}^{-1}$, 3 мин). Полученный продукт сушили в токе воздуха, а затем исследовали методом рентгеноспектрального микроанализа.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Одним из ключевых вопросов при разработке и оптимизации методики приготовления катализаторов с использованием метода магнетрон-

ного распыления является выбор растворителя, который должен соответствовать следующим критериям: (1) устойчивость в вакууме камеры устройства для магнетронного распыления, т.е. при давлениях порядка 10^{-2} мбар; (2) инертность растворителя по отношению к субнано- и наночастицам металлов, формирующимся в газовой фазе в процессе магнетронного распыления; (3) минимальное содержание примесей воды, растворенного кислорода и продуктов деградации самого растворителя, способных вступать в реакцию с частицами металлов; (4) возможность дальнейшего использования растворителя в качестве среды для проведения каталитических превращений с участием напыленных частиц или в роли среды для последующего нанесения наноразмерных частиц металла на подложки.

В соответствии с вышесказанным, первым этапом работы по нанесению частиц реакционноспособных переходных металлов из массы металла стал подбор подходящей среды (рис. 1).

В серии проведенных экспериментов частицы меди, используемой в качестве модельного металла, распыляли на поверхность различных жидкостей под действием аргоновой плазмы в атмосфере разреженного аргона при комнатной температуре (рис. 1а), данная техника использовалась и в дальнейшем при приготовлении частиц никеля и сплавов на основе меди. Одним из важнейших типов растворителей, использованных в работе, были ионные жидкости. Эти органические соли являются устойчивыми даже в условиях высокого вакуума и, кроме того, зарекомендовали себя в качестве удобной среды для проведения различных ката-

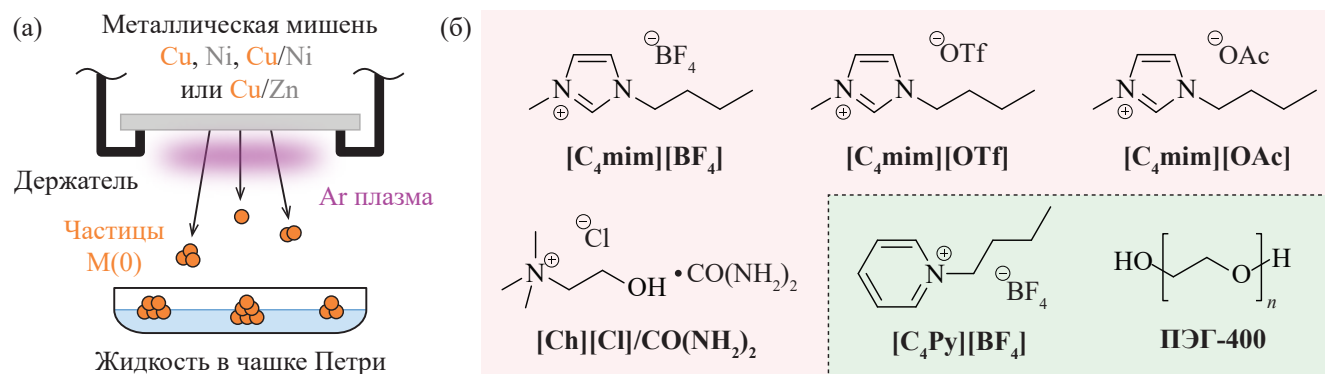


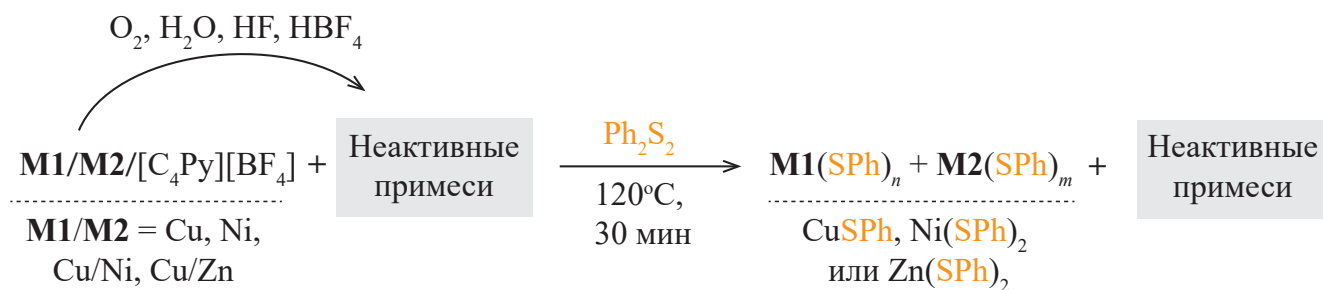
Рис. 1. (а) Принципиальная схема устройства магнетронного распыления. М(0) — металл в нулевой степени окисления. (б) Жидкие вещества, использованные в качестве среды. Красным цветом отмечены жидкости, совместимые с вакуумом камеры для напыления, но взаимодействующие с распыляемыми частицами; зеленым — инертные устойчивые среды, пригодные для использования в синтезе наночастиц.

литических превращений. Существенным недостатком ионных жидкостей является их высокая гигроскопичность и склонность к распаду благодаря наличию подвижного атома водорода в гетероцикле. В работе были использованы три имидазолиевые ионные жидкости общей формулы $[C_4mim][A]$ с различными анионами ($[A] = [BF_4], [OTf], [OAc]$), а также пиридиниевая ионная жидкость $[C_4Py][BF_4]$, характеризующаяся большей устойчивостью к разложению с элиминированием атома водорода, находящегося во втором положении пиридинового кольца, по сравнению с имидазолиевыми аналогами. В качестве альтернативы ионным жидкостям были рассмотрены глубокие эвтектические растворители на примере смеси хлорида холина и мочевины. Высококипящие низкомолекулярные растворители, такие как диметилформамид и диметилсульфоксид, оказались непригодными к применению в условиях вакуума камеры магнетронного распыления, поскольку наличие даже минимальных испарений вызывало неконтролируемую ионизацию всего объема камеры. Высокомолекулярные же растворители, такие как полиэтиленгликоль ПЭГ-400, были успешно использованы в эксперименте (рис. 1б). Визуальный анализ результатов напыления частиц меди во все рассмотренные среды показал, что задействованные в работе имидазолиевые ионные жидкости, а также эвтектика на основе хлорида холина и мочевины активно реагируют с металлической медью с образованием прозрачных растворов зеленого цвета, содержащих ионы Cu^{2+} , что может быть объяснено высокой кислотностью этих жидкостей, обусловленной описанными выше причинами. В полном соответствии с данным предположением пиридиниевая ионная жидкость, обладающая меньшей склонностью к разрыву связи $C(2)-H$, оказалась более инертной по отношению к напыляемым частицам. Отличные результаты продемонстрировал и полиэтиленгликоль ПЭГ-400, несмотря на свою гигроскопичность. Металлическая фаза, напыленная в данную среду, также оказалась устойчива в условиях проведения эксперимента (рис. 1б). На основании полученных данных можно заключить, что примеси воды и кислорода, характерные как для ионных жидкостей, так и для ПЭГ-400, являются не столь критичными и могут быть удалены при предварительном вакуумировании. Наличие же примесей кислотного характера, а именно кислот HA , в ионных жидкостях типа $[C_4mim][A]$, является

более существенным фактором, влияющим на устойчивость металлических частиц.

Несмотря на то, что проведенные эксперименты позволили осуществить предварительную подборку сред для напыления, более детальное изучение стабильности получаемых частиц металлов в жидкой среде требовало введения количественной оценки их активности. В качестве такого критерия в настоящей работе предлагается выход соответствующего металлоорганического продукта — тиолята металла — в реакции активации связи сера—сера, являющейся ключевой стадией многих каталитических методов получения сложных сераорганических соединений [37–40]. При проведении данного эксперимента полученные частицы металлов вводили в реакцию с избытком дифенилдисульфида (Ph_2S_2), а затем осаждали получающуюся металлсодержащую фазу, представляющую собой целевой тиолят металла с примесью различных соединений — оксидов, гидроксидов и солей, образующихся в побочных процессах, — и анализировали ее состав методом рентгеноспектрального микроанализа (табл. 1, рис. 2). В качестве материалов для напыления использовали медь, никель, а также сплавы на основе меди — мельхиор (сплав меди и никеля) и латунь (сплав меди и цинка); в качестве среды — пиридиниевую ионную жидкость $[C_4Py][BF_4]$. Сплавные системы изучали для оценки взаимного влияния металлов в целевом процессе окислительного присоединения дисульфида, а также с точки зрения возможности использования более активного металла в сплаве как жертвенного, позволяющего снизить интенсивность побочных процессов с участием менее активного металла (в данном случае — меди). Состав систем на основе сплавов дополнительно контролировали на различных этапах эксперимента (табл. 1).

Среди всех использованных металлических систем наибольшую активность в реакции окислительного присоединения дисульфида показали наночастицы чистой меди: выход продукта реакции составил 96%, что указывает на отсутствие заметной деградации металлических частиц в ходе напыления и использования в реакции разрыва дисульфидной связи (табл. 1, № 1). Совершенно иная картина наблюдалась в случае частиц никеля. Их заметно более высокая активность, по сравнению с частицами меди, привела к тому, что соответствующий тиолят образовывался лишь с выходом 24%, остальные же

Таблица 1. Основные характеристики металлических частиц, получаемых методом магнетронного распыления, и продуктов их реакции с дифенилдисульфидом

№	Напыляемый металл	Соотношение M1 : M2 ^a			Выход тиолята, % ^e
		Мишень	Покрытие ^b	Продукт	
1	Медь	100 : 0	100 : 0	100 : 0	96
2	Никель	100 : 0	100 : 0	100 : 0	24
3	Мельхиор (Cu/Ni)	79 : 21	82 : 18	82 : 18	73
4	Латунь (Cu/Zn)	70 : 30	69 : 31	89 : 11	82

^a Атомное соотношение по данным рентгеноспектрального микроанализа. ^b Покрытие, полученное при помощи магнетронного распыления на инертную подложку. ^c В расчете на продукт состава M1(SPh)_n + M2(SPh)_m по соотношению (M1 + M2)/сера.

частицы достаточно быстро превращались в никельсодержащие соединения, не проявляющие активности в процессе активации связи сера–сера (табл. 1, № 2).

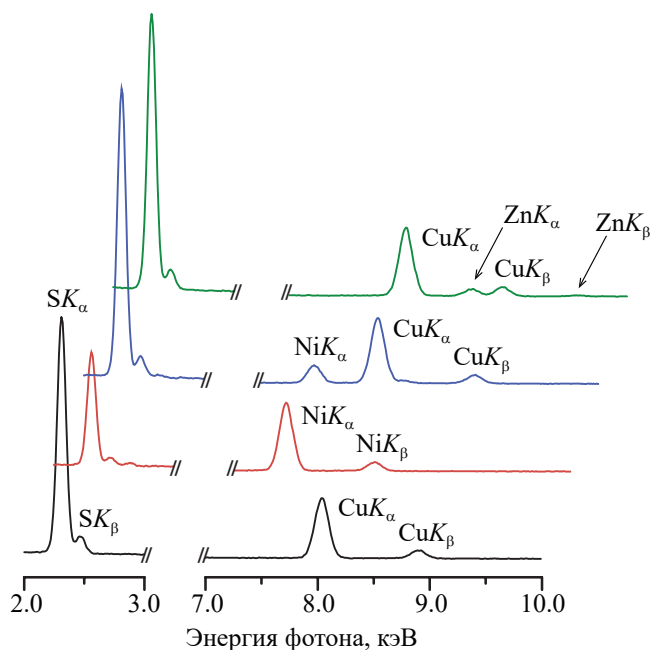


Рис. 2. Энергодисперсионные рентгеновские спектры в диапазонах 2–3 кэВ и 7–10 кэВ для образцов металлсодержащей фазы, выделенной после реакции между дифенилдисульфидом и частицами меди (черная кривая), никеля (красная кривая), медно-никелевого сплава (синяя кривая) или медно-цинкового сплава (зеленая кривая) в среде пиридиниевой ионной жидкости.

Аналогичное поведение никеля наблюдалось и в случае сплавных частиц. Добавка никеля к меди привела к заметному уменьшению количества поглощаемой серы в расчете на суммарное содержание металлов. Общий выход тиолятов меди и никеля составил 73% и, вероятно, в первую очередь обусловлен вкладом тиолята меди в смешанный продукт. Примечательно, что соотношение металлов оставалось постоянным как при напылении на инертную подложку (алюминиевую фольгу) в контрольном эксперименте, так и при напылении в среду ионной жидкости с последующей реакцией с дифенилдисульфидом, и соответствовало соотношению металлов в исходном сплаве (табл. 1, № 3).

Суммарный выход тиолятов металлов при использовании сплава меди и цинка был несколько выше, чем при использовании сплава меди и никеля, и составил 82%. Стоит, однако, учитывать, что проведение серии описанных превращений способствовало потере цинка в виде растворимых соединений. Если содержание данного металла в исходном сплаве и в покрытии, напыленном на инертную подложку, составляло порядка 30 мол. %, то в выделенном продукте это значение уменьшилось до 11 мол. % (табл. 1, № 4). Таким образом, полученные данные указывают на то, что цинк действительно может служить в качестве жертвенного металла, который посте-

пенно удаляется в ходе приготовления и использования металлических наночастиц меди. Более детально поведение частиц меди и латуни в ходе реакции с дифенилдисульфидом было изучено при помощи жидкостной электронной микроскопии (рис. 3).

Для сравнения морфологии и химического поведения частиц меди и латуни в реакции с дифенилдисульфидом образцы исходных дисперсий металлических частиц в ионной жидкости и образцы реакционных смесей после завершения процесса были исследованы методом сканирующей просвечивающей электронной микроскопии в нативном состоянии без предварительной обработки (рис. 3). Чистая медная фаза представляла собой слабо агломерированные наночастицы слегка искаженной сферической формы, имеющие размер 2.7 ± 0.8 нм (рис. 3а,б). Наличие цинка в распыляемом сплаве привело, во-первых, к уменьшению среднего размера наночастиц до 1.6 ± 0.7 нм, а, во-вторых, к заметной их агломерации, вызванной, по всей видимости, не столько слипанием самих частиц, сколько формированием оболочки из инертной цинксодержащей фазы (рис. 3г,д). Электронная микроскопия также позволила выявить заметные различия в строении продукта реакции

медьсодержащей фазы с дифенилдисульфидом. Тиолят меди CuSPh , полученный из чистого металла, представлял собой длинные игольчатые кристаллы правильной формы шириной порядка 10–20 нм, что, вероятно, свидетельствует об относительно медленном протекании реакции, способствующем росту упорядоченной тиолятной фазы (рис. 3в). Более быстрое протекание реакции в случае частиц меди с добавкой цинка привело в результате к образованию тиолята с менее упорядоченной структурой, представляющей собой плотные сгустки тонких нитевидных частиц неправильной формы, имеющих толщину порядка 5–7 нм, в отдельных случаях — несколько десятков нанометров (рис. 3е). На основании данных электронной микроскопии и рентгеноспектрального микроанализа можно заключить, что частицы меди, получаемые из чистого металла, являются достаточно устойчивыми в жидкой среде и могут эффективно вступать в реакции окислительного присоединения, например, с дифенилдисульфидом. Использование же сплава меди с более активным металлом (цинком), способствует уменьшению размера получаемых частиц и, вероятно, дополнительной стабилизации медьсодержащей фазы за счет более интенсивного расходования цинка в побочных процессах.

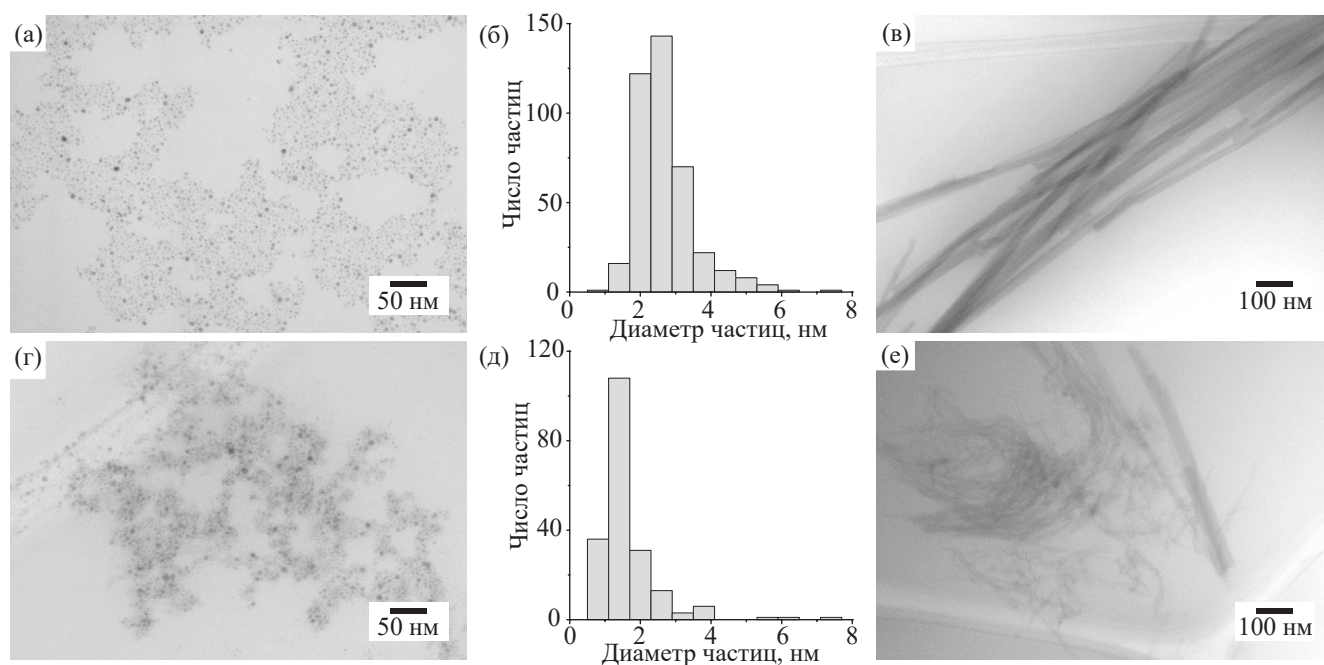


Рис. 3. СПЭМ-изображения частиц меди и медно-цинкового сплава в среде пиридиниевой ионной жидкости (а) и (г) и соответствующие гистограммы распределения частиц по размерам (б) и (д); СПЭМ-изображения реакционных смесей, полученных после обработки частиц меди и медно-цинкового сплава дифенилдисульфидом в среде ионной жидкости (в) и (е).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе проведено систематическое исследование возможности использования метода магнетронного распыления для приготовления жидкофазных дисперсий наночастиц активных переходных металлов, таких как медь и никель. Было показано, что наиболее подходящими средами для распыления металлов являются полиэтиленгликоль и ионные жидкости на основе катиона пиридиния. Несовместимость же других аналогичных сред, например, имидазолиевых ионных жидкостей, с условиями и требованиями эксперимента вызвана не столько наличием примесей воды и кислорода, которые содержатся во всех испробованных средах, сколько их выраженным кислотным характером, обусловленным наличием подвижных атомов водорода в структуре.

На примере чистых меди и никеля, а также медьсодержащих сплавов — мельхиора и латуни — показано, что частицы меди в любой форме являются устойчивыми в отношении побочных процессов и имеют высокую активность в реакциях окислительного присоединения, в частности, в реакции разрыва связи сера—сера, имеющей важное значение для каталитических реакций синтеза серасодержащих органических соединений. Количество доступной для реакции напыленной меди превышает 95%. В то же время заметно более высокая активность никеля приводит к деградации порядка 3/4 металла в ходе синтеза и последующего использования наночастиц.

Несмотря на склонность высокоактивных металлов к деградации в условиях эксперимента по магнетронному распылению, такие металлы могут быть использованы в качестве жертвенных с целью повышения стабильности одновременно напыляемых частиц менее активного металла. Сравнение данных электронной микроскопии для частиц меди и латуни в среде ионной жидкости, а также частиц тиолята меди, образующихся в результате реакции металлической меди с дифенилдисульфидом показало, что введение добавки цинка при напылении соответствующего сплава приводит к уменьшению размера частиц меди и, как следствие, может способствовать повышению их активности в реакции разрыва связи сера—сера.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант РНФ № 22-13-00286.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Biffis A., Centomo P., Del Zotto A., Zecca M. // *Chem. Rev.* 2018. V. 118. № 4. P. 2249–2295. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00443>
2. Dalton T., Faber T., Glorius F. // *ACS Cent. Sci.* 2021. V. 7. № 2. P. 245–261. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c01413>
3. Chan A.Y., Perry I.B., Bissonnette N.B., Buksh B.F., Edwards G.A., Frye L.I., Garry O.L., Lavagnino M.N., Li B.X., Liang Y., Mao E., Millet A., Oakley J.V., Reed N.L., Sakai H.A., Seath C.P., MacMillan D.W.C. // *Chem. Rev.* 2022. V. 122. № 2. P. 1485–1542. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00383>
4. Devendar P., Qu R.-Y., Kang W.-M., He B., Yang G.-F. // *J. Agric. Food Chem.* 2018. V. 66. № 34. P. 8914–8934. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b03792>
5. Hayler J.D., Leahy D.K., Simmons E.M. // *Organometallics.* 2019. V. 38. № 1. P. 36–46. <https://doi.org/10.1021/acs.organomet.8b00566>
6. Xia Y., Yang H., Campbell C.T. // *Acc. Chem. Res.* 2013. V. 46. № 8. P. 1671–1672. <https://doi.org/10.1021/ar400148q>
7. Xie C., Niu Z., Kim D., Li M., Yang P. // *Chem. Rev.* 2020. V. 120. № 2. P. 1184–1249. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00220>
8. Astruc D. // *Chem. Rev.* 2020. V. 120. № 2. P. 461–463. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00696>
9. Hong K., Sajjadi M., Suh J.M., Zhang K., Nasrollahzadeh M., Jang H.W., Varma R.S., Shokouhimehr M. // *ACS Appl. Nano Mater.* 2020. V. 3. № 3. P. 2070–2103. <https://doi.org/10.1021/acsanm.9b02017>
10. Ohtaka A. // *Catalysts.* 2021. V. 11. № 11. P. 1266. <https://doi.org/10.3390/catal1111266>
11. Cha J.-H., Park S.-M., Hong Y.K., Lee H., Kang J.W., Kim K.-S. // *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2012. V. 12. № 4. P. 3641–3645. <https://doi.org/10.1166/jnn.2012.5590>
12. Cloud J.E., McCann K., Perera K.A.P., Yang Y. // *Small.* 2013. V. 9. № 15. P. 2532–2536. <https://doi.org/10.1002/sml.201202470>
13. Cloud J.E., Yoder T.S., Harvey N.K., Snow K., Yang Y. // *Nanoscale.* 2013. V. 5. № 16. P. 7368–7378. <https://doi.org/10.1039/c3nr02404k>

14. *Sarcina L., García-Manrique P., Gutiérrez G., Ditaranto N., Cioffi N., Matos M., Blanco-López M.d.C.* // *Nanomaterials*. 2020. V. 10. № 8. P. 1542. <https://doi.org/10.3390/nano10081542>
15. *Zhang J., Chaker M., Ma D.* // *J. Colloid Interface Sci.* 2017. V. 489. P. 138–149. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.07.050>
16. *Jiang Z., Li L., Huang H., He W., Ming W.* // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. № 23. P. 14658. <https://doi.org/10.3390/ijms232314658>
17. *Balachandran A., Sreenilayam S.P., Madanan K., Thomas S., Brabazon D.* // *Results Eng.* 2022. V. 16. P. 100646. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2022.100646>
18. *Nyabadza A., Vazquez M., Brabazon D.* // *Crystals*. 2023. V. 13. № 2. P. 253. <https://doi.org/10.3390/cryst13020253>
19. *Wender H., Migowski P., Feil A.F., Teixeira S.R., Dupont J.* // *Coord. Chem. Rev.* 2013. V. 257. № 17–18. P. 2468–2483. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.01.013>
20. *Cha I.Y., Yoo S.J., Jang J.H.* // *J. Electrochem. Sci. Technol.* 2016. V. 7. № 1. P. 13–26. <https://doi.org/10.5229/JECST.2016.7.1.19>
21. *Qadir M.I., Kauling A., Ebeling G., Fartmann M., Grehl T., Dupont J.* // *Aust. J. Chem.* 2019. V. 72. № 2. P. 49–54. <https://doi.org/10.1071/CH18183>
22. *Cano I., Weillhard A., Martin C., Pinto J., Lodge R.W., Santos A.R., Rance G.A., Åhlgren E.H., Jónsson E., Yuan J., Li Z.Y., Licence P., Khlobystov A.N., Alves Fernandes J.* // *Nat. Commun.* 2021. V. 12. P. 4965. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25263-6>
23. *Nguyen M.T., Deng L., Yonezawa T.* // *Soft Matter*. 2022. V. 18. № 1. P. 19–47. <https://doi.org/10.1039/D1SM01002F>
24. *Hirano M., Enokida K., Okazaki K.-i., Kuwabata S., Yoshida H., Torimoto T.* // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2013. V. 15. № 19. P. 7286–7294. <https://doi.org/10.1039/c3cp50816a>
25. *Zhou Y.-Y., Liu C.-H., Liu J., Cai X.-L., Lu Y., Zhang H., Sun X.-H., Wang S.-D.* // *Nano-Micro Lett.* 2016. V. 8. № 4. P. 371–380. <https://doi.org/10.1007/s40820-016-0096-2>
26. *Liu C., Cai X., Wang J., Liu J., Riese A., Chen Z., Sun X., Wang S.-D.* // *Int. J. Hydrogen Energy*. 2016. V. 41. № 31. P. 13476–13484. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.05.194>
27. *Sriram P., Kumar M.K., Selvi G.T., Jha N.S., Mohanapriya N., Jha S.K.* // *Electrochim. Acta*. 2019. V. 323. P. 134809. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2019.134809>
28. *Tsuda T., Yoshii K., Torimoto T., Kuwabata S.* // *J. Power Sources*. 2010. V. 195. № 18. P. 5980–5985. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2009.11.027>
29. *Cha I.Y., Ahn M., Yoo S.J., Sung Y.-E.* // *RSC Adv.* 2014. V. 4. № 73. P. 38575–38580. <https://doi.org/10.1039/C4RA05213G>
30. *Zhu M., Nguyen M.T., Sim W.J., Yonezawa T.* // *Mater. Adv.* 2022. V. 3. № 24. P. 8967–8976. <https://doi.org/10.1039/D2MA00688J>
31. *Chung M.W., Cha I.Y., Ha M.G., Na Y., Hwang J., Ham H.C., Kim H.-J., Henkensmeier D., Yoo S.J., Kim J.Y., Lee S.Y., Park H.S., Jang J.H.* // *Appl. Catal. B: Environ.* 2018. V. 237. P. 673–680. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2018.06.022>
32. *Oda Y., Hirano K., Yoshii K., Kuwabata S., Torimoto T., Miura M.* // *Chem. Lett.* 2010. V. 39. № 10. P. 1069–1071. <https://doi.org/10.1246/cl.2010.1069>
33. *Luza L., Gual A., Eberhardt D., Teixeira S.R., Chiaro S.S.X., Dupont J.* // *ChemCatChem*. 2013. V. 5. № 8. P. 2471–2478. <https://doi.org/10.1002/cctc.201300123>
34. *Chang J.-B., Liu C.-H., Liu J., Zhou Y.-Y., Gao X., Wang S.-D.* // *Nano-Micro Lett.* 2015. V. 7. № 3. P. 307–315. <https://doi.org/10.1007/s40820-015-0044-6>
35. *Liu C.-H., Liu J., Zhou Y.-Y., Cai X.-L., Lu Y., Gao X., Wang S.-D.* // *Carbon*. 2015. V. 94. P. 295–300. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2015.07.003>
36. *Kashin A.S., Prima D.O., Arkhipova D.M., Ananikov V.P.* // *Small*. 2023. V. 19. № 43. P. 2302999. <https://doi.org/10.1002/sml.202302999>
37. *Lee C.-F., Liu Y.-C., Badsara S.S.* // *Chem. – Asian J.* 2014. V. 9. № 3. P. 706–722. <https://doi.org/10.1002/asia.201301500>
38. *Lee C.-F., Basha R.S., Badsara S.S.* // *Top. Curr. Chem.* 2018. V. 376. № 3. P. 25. <https://doi.org/10.1007/s41061-018-0203-6>
39. *Beletskaya I.P., Ananikov V.P.* // *Chem. Rev.* 2022. V. 122. № 21. P. 16110–16293. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00836>
40. *Kashin A.S., Arkhipova D.M., Sahharova L.T., Burykina J.V., Ananikov V.P.* // *ACS Catal.* 2024. V. 14. № 8. P. 5804–5816. <https://doi.org/10.1021/acscatal.3c06258>

PREPARATION OF COPPER AND NICKEL BASED NANOPARTICLES BY MAGNETRON SPUTTERING AND THEIR USE IN SULFUR–SULFUR BOND ACTIVATION REACTION

A. S. Kashin^{a, #}

Represented by Academician of the RAS V.P. Ananikov on 21.10.2024

^a*N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
119991 Moscow, Russian Federation*

[#]*E-mail: a.kashin@ioc.ac.ru*

The present work is devoted to a systematic study of the advantages and limitations of the magnetron sputtering method, which is a convenient and promising way to obtain nanosized particles directly from the bulk metal, when it is used to prepare nanoparticles of the first-row transition metals. In the course of the study, variation of sputtering media based on ionic liquids, eutectic solvents, low and high molecular weight organic compounds was carried out. Particles of copper, nickel, a copper-nickel alloy and a copper-zinc alloy were obtained. Using the example of the activation reaction of the sulfur–sulfur bond in diphenyl disulfide, it has been shown that up to 96% of the sputtered copper can be effectively used in catalysis, whereas in the case of nickel and zinc about three quarters of the metal can be converted to an inactive form, at the same time readily oxidizable components can act as sacrificial stabilizers for moderately active metal particles in sputtering two-component alloys.

Keywords: metal nanoparticles, metal thiolates, magnetron sputtering, electron microscopy, ionic liquids

УДК 541.64, 66-963

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НАПОЛНИТЕЛЕЙ НА СМАЧИВАЕМОСТЬ И ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ ПОЛИСИЛОКСАНОВЫХ ПЛЕНОК МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

© 2024 г. А. С. Баикин^{1,*}, Е. О. Насакина¹, Г. А. Давыдова², М. А. Сударчикова¹,
А. А. Мельникова¹, К. В. Сергиенко¹, С. В. Конушкин¹, М. А. Каплан¹, М. А. Севостьянов^{1,3},
член-корреспондент РАН А. Г. Колмаков¹

Поступила 22.04.2024 г.
После доработки 03.06.2024 г.
Принято к публикации 17.06.2024 г.

Предложен способ синтеза двух новых видов пленок на основе полисилоксана: с введенным хитозаном и с введенным гидрокарбонатом натрия с последующим его удалением. Установлено, что полученные пленки обладают разветвленной внутренней структурой каналов, пригодной для дальнейшего наполнения биологически активными веществами. Исследование гидрофобности полученных пленок, в сравнении с пленками чистого полисилоксана, показало незначительное (не более 6%) снижение равновесного краевого угла смачивания, а также выравнивание его значений с внешней и внутренней сторон, по сравнению с пленками без модификации. Комплексное исследование *in vitro* показало перспективность использования пленок полисилоксана с введенным хитозаном, поскольку они не оказывают достоверного токсического действия на исследуемые клетки. Пленки чистого полисилоксана и полисилоксана, изготовленного с использованием гидрокарбоната натрия, проявили токсическое воздействие на изучаемые клетки и закисляли среду. Установлено, что все образцы обладают неадгезивностью для клеток.

Ключевые слова: силоксан, хитозан, гидрокарбонат натрия, цитотоксичность, смачиваемость, полимерные пленки

DOI: 10.31857/S2686953524050035, EDN: JGXIEA

ВВЕДЕНИЕ

Эволюция стентов, устройств для расширения сузившихся полых органов организма, имеет длительную историю. Еще в 1977 г. Андресом Грюнцом была проведена первая коронарно-баллонная ангиопластика, направленная на лечение основной причины смертности в мире — ишемической болезни сердца [1, 2]. Первые стенты изготавливались из чистого металла и имели целый ряд послеоперационных осложнений, например: высокая пролиферация клеток, неоинтимальная гиперплазия и рестеноз

и т.д. [3, 4]. Процесс совершенствования стентов шел и до сих пор идет различными путями с одной целью — повышение биосовместимости и устранение послеоперационных осложнений. Стенты покрывались биологически активными веществами [5, 6], антителами [7], менялся материал изготовления стентов (нержавеющая сталь, титан, кобальт/хром, платина [8]) и способы его обработки [9, 10]. Разрабатывались различные наружные и внутренние полимерные покрытия стентов с возможностью и без доставки лекарственных препаратов. Стенты изготавливались целиком из биоразлагаемых полимеров [8, 11], например, из поли-L-молочной кислоты или поли-DL-молочной кислоты [12, 13]. Однако все разработки имеют свои плюсы и минусы, и исследования в этой области медицины до сих пор продолжаются, так как на кону стоят человеческие жизни.

Не последней проблемой при показаниях к имплантации стентов является наличие у пациентов онкологических заболеваний, при ко-

¹ Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова Российской академии наук, 119334 Москва, Россия

² Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, 142290 Пущино, Россия

³ Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, 143050 Большие Вяземы, Московская обл., Россия

*E-mail: baikinas@mail.ru

торых происходит неконтролируемое деление клеток, что может вызывать деформацию стента или рестеноз [14].

В данной работе рассмотрено получение полимерных пленок на основе силоксана для дальнейшего создания предотвращающего рестеноз внешнего покрытия для металлических стентов с возможностью доставки биологически активных веществ за счет сети взаимосвязанных каналов, а также исследование смачиваемости и цитотоксичности полученных пленок.

Кремнийорганические силиконовые материалы активно применяются в различных сферах производства, медицине, косметологии [15]. Медицинский силикон должен проходить государственную сертификацию, а в России должен иметь свидетельство государственной регистрации Роспотребнадзора.

В первую очередь материалы, контактирующие или длительно присутствующие в организме пациента и выполняющие определенные функции, должны быть нетоксичными, неиммуногенными, нетромбогенными, неонкогенными, не вызывающими раздражения и т.п. И первое из требований — непричинение вреда здоровью. Принято считать, что цитотоксичность, определяемая как свойство химических веществ оказывать токсическое действие на клетки, затрагивает различные аспекты клеточной функции, такие как жизнеспособность, пролиферация, адгезия и морфология клетки [16]. Изучение данных характеристик при культивировании клеток *in vitro* позволяет проводить оценку токсикологических рисков использования тестируемого материала.

Материалы для покрытия стентов, в зависимости от зоны имплантации и назначения, подбираются гидрофильными, гидрофобными или амфифильными. Поверхностная энергия гидрофобного полимера могла бы не давать внутренней среде организма каким-либо образом деформировать внутренние сквозные каналы и нарушать общую целостность покрытия [17]. С учетом этого в данной работе стояла задача исследования влияния наполнителей, используемых при синтезе полисилоксановых пленок, на их смачиваемость.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и оборудование. Для синтеза образцов использовали следующие реактивы

и материалы: каучук синтетический термостойкий низкомолекулярный СКТН-А (ООО «Пента-91», Россия), катализатор К-18 (ООО «Пента-91», Россия), хитозан высокомолекулярный высокой степени очистки (молекулярная масса 310–375 кДа, степень деацетилирования более 75%; Sigma-Aldrich, Исландия) и NaHCO_3 99.9% (АО «Башкирская содовая компания», Россия).

Структуру полученных пленок определяли методом электронной микроскопии на сканирующем электронном микроскопе Hitachi TM4000 (Япония).

Краевой угол смачивания (КУГ) образцов водой измеряли при помощи установки Longroy SDC-350 (Китай) при угле наклона стойки 0° . На образец наносили каплю воды объемом 6 мкл, снимок капли на образце делали спустя 1 мин. Для расчета краевого угла смачивания форма капли описывалась моделью эллипса по 5 точкам. Краевой угол исследовали с обеих сторон пленки. Погрешность измерения составляла 0.01° .

Синтез и подготовка образцов. В качестве контрольных образцов изготавливали пленки из чистого силоксана. В стеклянном стакане смешивали 6 мл СКТН-А и 0.3 мл катализатора К-18. Раствор перемешивали в течение 2 мин и разливали по чашкам Петри диаметром 80 мм. Снятие полученных пленок производили через сутки.

Пленки с использованием наполнителей двух видов готовили на основании ранее проведенных исследований [18].

Первым видом образцов были пленки с добавлением NaHCO_3 . В стеклянном стакане смешивали 6 мл СКТН-А и 0.3 мл катализатора К-18 и разливали по чашкам Петри. В них добавляли 3.0 г NaHCO_3 и тщательно перемешивали. Снятие пленок производили через сутки. Полученные пленки помещали в раствор 4 г лимонной кислоты в 50 мл дистиллированной воды (концентрация лимонной кислоты в пересчете на моногидрат не менее 99.8%) на одни сутки для растворения/удаления NaHCO_3 . В результате в структуре силоксановой пленки формировались каналы. После обработки раствором лимонной кислоты пленки помещали 2 раза на сутки в 50 мл дистиллированной воды для максимальной промывки от NaHCO_3 и кислоты.

Вторым видом были образцы пленок с добавлением хитозана. Хитозан является биосовместимым и биodeградируемым полимером, обладающим высокой биологической активностью. Хитозан может являться матрицей для введения лекарственных препаратов, тем самым замедляя их вымывание из полимерной пленки, что может требоваться для обеспечения пролонгированного выделения активного вещества [19, 20]. Хитозан предварительно измельчали в фарфоровой ступке в течение минуты. В стеклянном стакане смешивали 6 мл СКТН-А и 0.3 мл катализатора К-18 и разливали раствор по чашкам Петри. После этого добавляли 1.0 г измельченного хитозана и тщательно перемешивали. Снятие полученных пленок производили через сутки.

Исследования in vitro. Цитотоксичность полисилоксановых пленок исследовали с использованием экстрактов из образцов, погруженных в модифицированную среду Игла Дульбекко (DMEM), в соответствии с ISO 10993.5-2011 [21, 22]. Для получения экстрактов образцы выдерживали в среде DMEM в течение 3 суток при температуре 37°C. Мышинные фибробласты NCTC clone L929 инкубировали в экстрактах в течение 24 ч. Испытания каждого образца проводились в трех повторностях. Отношение площади поверхности материала к объему DMEM составляло 3 см² мл⁻¹. Клетки высевали в концентрации 30 000 кл см⁻² в 96-луночный планшет. Через 24 ч после посева клеток культуральную среду заменяли экстрактами и культивировали при 37°C в течение 24 ч. Для оценки метаболической активности клеток проводили колориметрический МТТ-тест, основанный на восстановлении бесцветной соли тетразолия (3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид, МТТ) митохондриальными и цитоплазматическими дегидрогеназами живых метаболически активных клеток с образованием голубых кристаллов формазана, растворимого в диметилсульфоксиде. Количество восстановленного формазана определяли по оптической плотности растворов на фотометре BIO-RAD 680 (США) при длине волны 540 нм.

Постнатальные стволовые клетки пульпы зуба человека (DPSC) были выделены из рудимента третьего моляра, экстрагированного по ортодонтическим показаниям, как описано ранее [23]. Клетки выращивали в среде DMEM/F12

(ПанЭко, Россия) с добавлением 10% фетальной телячьей сыворотки FBS (HyClone, США) в увлажненном инкубаторе при 37°C и содержании в атмосфере 5% CO₂. Среду меняли через 24 ч в первичной клеточной культуре. Клетки выдерживали до образования плотных островков роста или образования монослоя клеток, а затем пассировали для роста. Для этого исследования использовались клетки четвертого пассажа.

Анализы жизнеспособности клеток в присутствии пленок проводили методом прямого контакта. Для этого в лунки 24-луночного планшета высевали клетки DPSC в концентрации 3×10^4 кл см⁻² в среде DMEM/F12 (1 : 1) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (FBS) и 100 Ед мл⁻¹ пенициллин/стрептомицина и 2 ммоль L-глутамин и культивировали при 37°C в атмосфере с содержанием 5% CO₂. Через 24 ч стерилизованные спиртом пленки помещали в ячейки 24-луночного планшета и культивировали при 37°C в атмосфере, содержащей 5% CO₂, в течение 24 ч.

Оценку количества прикрепленных DPSC проводили через 1 сутки методом дифференцированного флуоресцентного окрашивания живых и мертвых клеток с применением флуоресцентных красителей. Микрофотосъемку проводили на инвертированном микроскопе Axiovert 200 (Zeiss, Германия). Флуоресцентный краситель SYTO 9 в режиме исследования $\lambda_{\text{возб}} = 450\text{--}490$ нм, $\lambda_{\text{эмисс}} = 515\text{--}565$ нм окрашивает в зеленый цвет ДНК и РНК живых и мертвых клеток. Интеркалирующий реагент иодид пропидия (PI) в режиме исследования $\lambda_{\text{возб}} = 546$ нм, $\lambda_{\text{эмисс}} = 575\text{--}640$ нм окрашивает в красный цвет ядра погибших клеток. Флуоресцентный краситель Hoechst 33342 в режиме исследования $\lambda_{\text{возб}} = 343$ нм, $\lambda_{\text{эмисс}} = 483$ нм окрашивает в синий цвет ДНК живых и мертвых клеток.

Подсчет количества жизнеспособных клеток проводили на фиксированной площади поверхности (микрофотографии) по числу клеток, окрашенных красителями Hoechst 33342 (все клетки) и PI (мертвые клетки).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Структура полученных пленок полисилоксана представлена на рис. 1. Толщина каждой из полученных пленок силоксана составляла порядка 900 мкм. Пленки чистого полисилоксана

(рис. 1а) не имели включений и полостей. Можно отметить гладкую, однородную структуру.

Использование гидрокарбоната натрия в процессе изготовления пленок и последующее его удаление приводит к формированию многочисленных пор, хаотично пронизывающих пленку по всей толщине (рис. 1б). Сода в пленке полисилоксана распределяется таким образом, что в результате вытравливания образуются поры, выходящие на поверхность. За счет этого возможно удаление из пленки остатков соды и кислоты при промывке.

При изготовлении полисилоксановых пленок с использованием хитозана, он целенаправленно не удалялся. Исследование среза образцов с хитозаном показало, что он оставался внутри

пленки в виде агломератов сложной формы, слои которых пересекались между собой и выходили на поверхность пленки (рис. 1в). Это предполагает возможность использования хитозана в качестве матрицы для введения в него лекарственных препаратов, обеспечивая впоследствии их замедленное высвобождение.

Краевой угол смачивания измеряли с двух сторон пленок: с внешней стороны, контактирующей с воздухом в процессе изготовления, и внутренней, контактирующей с дном чашки Петри. Данные измерений КУГ представлены в табл. 1. Примеры определения КУГ пленок полисилоксана представлены на рис. 2. Согласно результатам измерений, внешняя сторона всех пленок остается гидрофобной: КУГ более 90° .

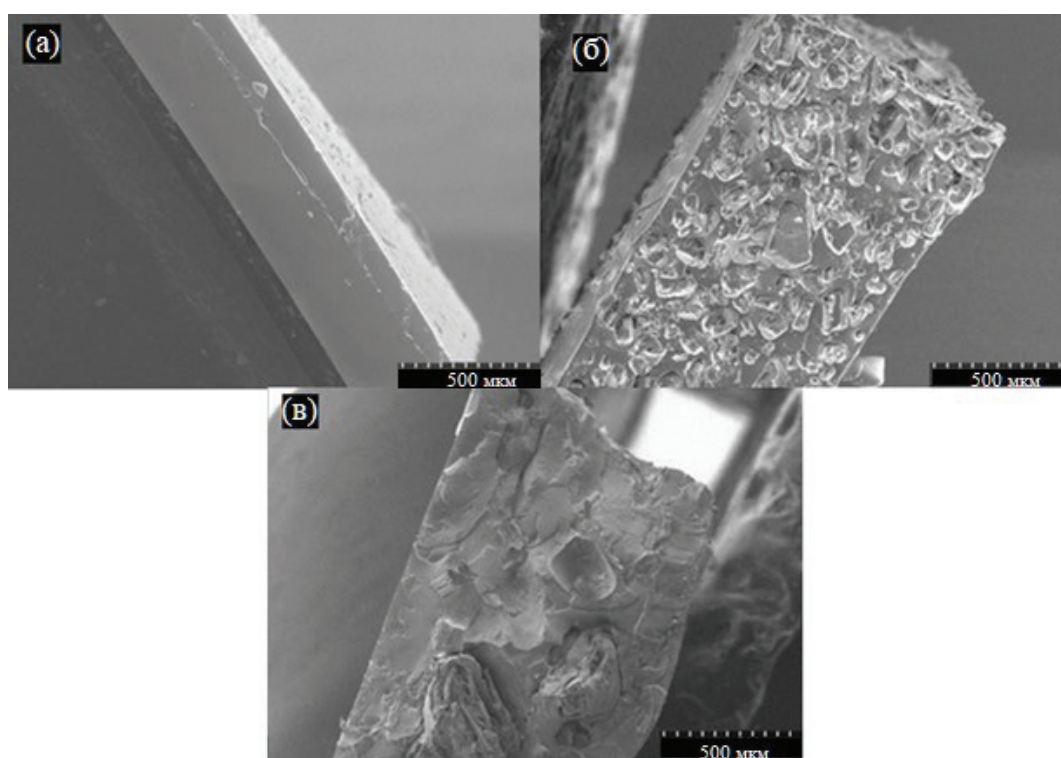


Рис. 1. Изображение СЭМ среза пленок полисилоксана: без использования наполнителей [24] (а), изготовленных с использованием гидрокарбоната натрия (б) [24], изготовленных с использованием хитозана (в).

Таблица 1. Значения краевого угла смачивания полученных пленок

Образец	θ (внешняя сторона), град.	θ (внутренняя сторона), град.
Пленки полисилоксана без наполнителей	101.85 ± 0.79	89.39 ± 0.73
Пленки полисилоксана, изготовленные с использованием гидрокарбоната натрия	100.31 ± 2.56	96.38 ± 6.95
Пленки полисилоксана, изготовленные с использованием хитозана	94.04 ± 3.11	94.65 ± 5.81

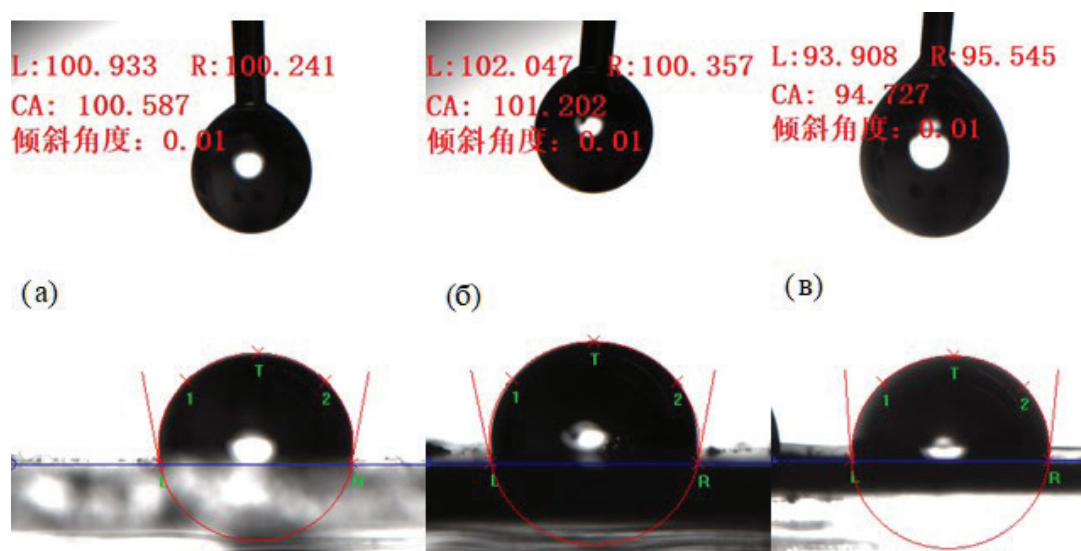


Рис. 2. Определение краевого угла смачивания пленок полисилоксана: без наполнителя (а), изготовленных с использованием гидрокарбоната натрия (б), изготовленных с использованием хитозана (в).

При этом в пленках полисилоксана без наполнителя он составил 101.85° , и использование гидрокарбоната натрия в процессе изготовления на это значение существенно не повлияло (100.31°). Введение хитозана снизило это значение примерно на 6% (до 94.04°), что может быть связано с влиянием выходящей на поверхность пленки части хитозана, который обладает гидрофильными свойствами.

Иная ситуация происходила с внутренней стороной пленок, обращенных при изготовлении к чашкам Петри. Наблюдалось значительное снижение КУГ примерно на 12% (до 89.39°), нехарактерное для полисилоксана. Скорее всего, это связано с формированием иной морфологии поверхности пленки при взаимодействии со стеклянным дном чашки Петри. Однако использование гидрокарбоната натрия при изготовлении полисилоксановых пленок вело к меньшему снижению КУГ — всего на 4%, а в случае модификации пленок хитозаном значение КУГ сохранялось. Это можно объяснить тем, что при формировании пленок распределение по объему и поверхностям хитозана или гидрокарбоната натрия было достаточно равномерным, что приводило к единообразию морфологии и строения внешней и внутренней сторон. Но также было отмечено, что при синтезе полисилоксановых пленок использование различных наполнителей ведет к существенному (в несколько раз) увеличению разброса значений КУГ, что можно связать с разницей строения и морфо-

логии поверхностей отдельных участков пленок, на которых происходило измерение, а именно, количества и формы агломератов хитозана или пор после удаления гидрокарбоната натрия.

Результаты проведенного исследования показали, что вытяжки пленок полисилоксана без использования наполнителей и изготовленных с использованием гидрокарбоната натрия, оказывают токсическое воздействие на жизнеспособность клеток (рис. 3). При этом мы наблю-

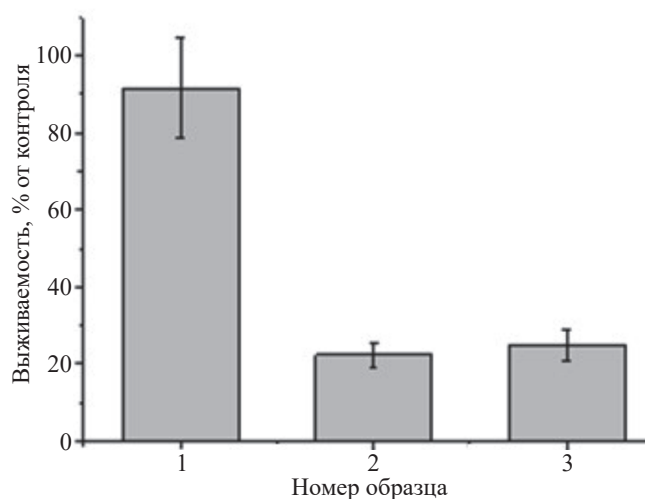


Рис. 3. Метаболическая активность клеток NCTC L929 по результатам МТТ-теста при инкубации в течение 24 ч с 3-суточными вытяжками из пленок полисилоксана: изготовленных с использованием хитозана (образец 1) без использования наполнителей (образец 2), изготовленных с использованием гидрокарбоната натрия (образец 3).

дали слабое закисление среды, что говорит об экстракции из силиконов низкомолекулярных компонентов. Аналогичные результаты ранее были описаны в работе [25], в которой высказано предположение, что за влияние силиконовых эластомеров на клетки могут отвечать разные механизмы. Такое воздействие на клеточные культуры можно объяснить активными и вымы-

ваемыми компонентами материалов. Также токсические эффекты могут быть связаны с влиянием катализатора, сшивающего агента, спирта или комбинацией этих элементов. Диффузия катализатора может частично способствовать цитотоксическому поведению материалов. Чтобы идентифицировать вымываемые компоненты и определить, какие из них ответственны за из-

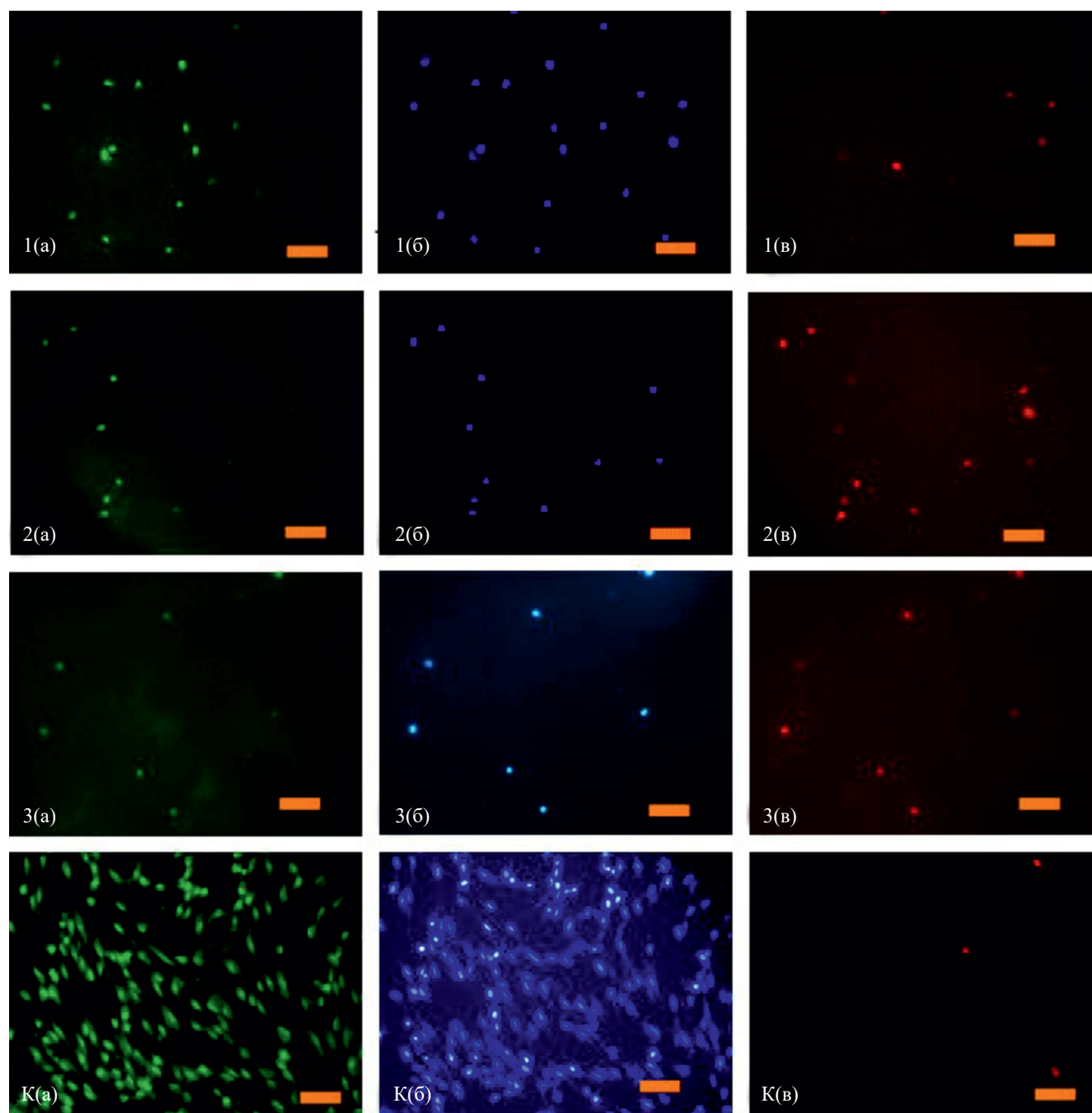


Рис. 4. Внешний вид мезенхимальных стволовых клеток (МСК) из пульпы зуба человека (клон Th44), при инкубации на материале через 24 ч после посева. Образцы пленок полисилоксана: изготовленных с использованием хитозана (образец 1), без использования наполнителей (образец 2), изготовленных с использованием гидрокарбоната натрия (образец 3). Образец К – Контроль. Окраска SYTO 9 (а), Hoechst 33342 (б) и PI (в). Линейка 100 мкм.

менения в культивируемых клетках, необходимы серьезные аналитические исследования.

Пленки полисилоксана, изготовленные с использованием хитозана, не оказали достоверного влияния на жизнеспособность клеток (рис. 3, образец 3). Закисление среды не наблюдалось, что скорее всего объясняется природой хитозана, являющегося основанием. А возможная химическая модификация поверхности частиц хитозана полисилоксаном влияет, в свою очередь, на их цитосовместимость [26]. После выдерживания в воде или в буферном растворе PBS (*Phosphate Buffered Saline*) в течение недели образцы пленок полисилоксана без использования наполнителей и изготовленных с использованием гидрокарбоната натрия оставались закисленными.

Изучение адгезивных характеристик материалов показало, что все образцы не адгезивны для клеток (рис. 4). Возможно, в случае пленок полисилоксана, изготовленных с использованием хитозана, это связано не только с токсичностью материала, но и с гидрофобностью поверхности, что было отмечено в результатах данной работы выше, а также в работе [25].

Оценка морфологии клеток под поверхностью исследуемых материалов и определение их жизнеспособности показало, что под пленками живые клетки практически отсутствовали. Пленки плотно прилегали ко дну лунки и, по-видимому, отсутствовала достаточная диффузия питательной среды к культуре клеток.

ВЫВОДЫ

В работе предложен способ синтеза двух новых видов пленок на основе силоксана: с введенным хитозаном, а также с введенным гидрокарбонатом натрия с последующим его удалением. Установлено, что полученные пленки обладают разветвленной внутренней структурой, пригодной для дальнейшего наполнения биологически активными веществами. Проведено исследование гидрофобности полученных пленок в сравнении с пленками чистого полисилоксана. Показано незначительное (не более 6%) снижение равновесного краевого угла смачивания у полученных пленок и выравнивание его значений с внешней и внутренней сторон, по сравнению с пленками без модификации. Комплексное исследование *in vitro* полученных пленок показало перспективность использования пленок полисилоксана

с введенным хитозаном, не оказывающих достоверного токсического действия на исследуемые клетки. Пленки чистого полисилоксана и полисилоксана, изготовленного с использованием гидрокарбоната натрия, проявили токсическое воздействие на изучаемые клетки и закисляли среду. Все образцы показали неадгезивность для клеток, объясняемую гидрофобностью поверхности. Таким образом, пленки с введенным хитозаном могут быть перспективны для дальнейшей разработки материала покрытия стентов, предотвращающего рестеноз, с возможностью введения и последующего высвобождения биологически активных веществ.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 21-79-10256, <https://rscf.ru/project/21-79-10256/>).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все эксперименты проводились в соответствии с принципами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и этическими принципами, содержащимися в текущей версии Хельсинкской декларации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. World Health Organization // <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (ссылка активна на 17.04.2024).
2. Grüntzig A. // *Lancet*. 1978. V. 1. № 8058. P. 263.
3. Anqiang S., Wang Z., Fan Z., Tian X., Zhan F., Deng X., Liu X. // *Med. Eng. Phys.* 2015 V. 37. P. 840–844. <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2015.05.016>
4. Sommer C., Gockner T., Stampfl U., Bellemann N., Sauer P., Ganten T., Weitz J., Kauczor H., Radeleff B. // *Eur. J. Radiol.* 2012. V. 81. P. 2273–2280. <https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2011.06.037>
5. Doshi R., Shah J., Jauhar V., Decter D., Jauhar R., Meraj P. // *Heart Lung*. 2018. V. 47. № 3. P. 231–236. <https://doi.org/10.1016/j.hrtlng.2018.02.004>
6. Wawrzyńska M., Arkowski J., Włodarczak A., Kopaczyńska M., Biały D. Development of drug-eluting stents (DES). In: *Functionalised Cardiovascular Stents*, Ch. 3. Wall J.G., Podbielska H., Wawrzyńska M. (Eds.). Woodhead Publishing, 2018. P. 45–56. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100496-8.00003-2>
7. Julio C., Palmaz M.D. // *J. Vasc. Interv. Radiol.* 2002. V. 13. № 2. P. 272–274. [https://doi.org/10.1016/S1051-0443\(02\)70172-3](https://doi.org/10.1016/S1051-0443(02)70172-3)
8. Kraak R., Grundeken M., Koch K., Winter R., Wykrzykowska J. // *Expert Rev. Med. Devices*. 2014. V. 11. № 5. P. 467–480. <https://doi.org/10.1586/17434440.2014.941812>

9. Dong J., Pacella M., Liu Y., Zhao L. // *Bioact. Mater.* 2022. V. 10. P. 159–184.
<https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.08.023>
10. Mirhosseini N., Lin L., Liu Z., Mamas M., Fraser D., Wang T. // *Heliyon.* 2024. V. 10. № 5. e26425.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e26425>
11. Toong D.W.Y., Ng J.C.K., Huang Y., Wong P.E.H., Leo H.L., Venkatraman S.S., Ang H.Y. // *Materialia.* 2020. V. 12. 100727.
<https://doi.org/10.1016/j.mtla.2020.100727>
12. Rocher L., Cameron J., Barr J., Dillon B., Lennon A., Menary G. // *Eur. Polym. J.* 2023. V. 195. 112205.
<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2023.112205>
13. Li F., Gu Y., Hua R., Ni Z., Zhao G. // *J. Drug Delivery Sci. Technol.* 2018. V. 48. P. 88–95.
<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.08.026>
14. Liang J.J., Sio T.T., Slusser J.P. // *JACC: Cardiovascular Interventions.* 2014. V. 7. № 12. P. 1412–1420.
<https://doi.org/10.1016/j.jcin.2014.05.035>
15. Arzhakova O.V., Arzhakov M.S., Badamshina E.R., Bryuzgina E.B., Bryuzgin E.V., Bystrova A.V., Vaganov G.V., Vasilevskaya V.V., Vdovichenko A.Yu., Gallyamov M.O., Gumerov R.A., Didenko A.L., Zefirov V.V., Karpov S.V., Komarov P.V., Kulichikhin V.G., Kurochkin S.A., Larin S.V., Malkin A.Ya., Milenin S.A., Muzafarov A.M., Molchanov V.S., Navrotsky A.V., Novakov I.A., Panarin E.F., Panova I.G., Potemkin I.I., Svetlichny V.M., Sedush N.G., Serenko O.A., Uspenskiy S.A., Philippova O.E., Khokhlov A.R., Chvalun S.N., Sheiko S.S., Shibaev A.V., Elmanovich I.V., Yudin V.E., Yakimansky A.V., Yaroslavov A.A. // *Russ. Chem. Rev.* 2022. V. 91. № 12. RCR5062.
<https://doi.org/10.57634/RCR5062>
16. Ferruti P., Bianchi S., Ranucci E., Chiellini F., Piras A. // *Biomacromolecules.* 2005. V. 6. № 4. P. 2229–2235.
<https://doi.org/10.1021/bm050210+>
17. Rezapour-Lactoe A., Yeganeh H., Nasser Ostad S., Gharibi R., Mazaheri Z., Ai J. // *Mater. Sci. Eng.* 2016. V. 69. P. 804–814.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.07.067>
18. Баикин А.С., Насакина Е.О., Мельникова А.А., Михайлова А.В., Каплан М.А., Сергиенко К.В., Конушкин С.В., Колмаков А.Г., Севостьянов М.А. // *Перспективные материалы.* 2023. № 10. С. 17–25.
<https://doi.org/10.30791/1028-978X-2023-10-17-25>
19. Neslihan K., Aytakin A.Ö. Chitosan nanogel for drug delivery and regenerative medicine. In: *Polysaccharide Hydrogels for Drug Delivery and Regenerative Medicine*, Ch. 14. Giri Tapan K., Ghosh B., Badwaik H. (Eds.). Elsevier, 2024. P. 215–232.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95351-1.00018-1>
20. Farnoush S.R., Sharifianjazi F., Esmailkhanian A., Salehi E. // *Carbohydr. Polym.* 2021. V. 273. 118631.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118631>
21. ГОСТ Р ИСО 10993.5-11 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 5. Исследование на цитотоксичность: методы *in vitro*».
22. ГОСТ Р ИСО 10993.12-15 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 12. Приготовление проб и стандартные образцы».
23. Poltavtseva R.A., Pavlovich S.V., Klimantsev I.V., Tyutyunnik N.V., Grebennik T.K., Nikolaeva A.V., Sukhikh G.T., Nikonova Y.A., Selezneva I.I., Yaroslavl'tseva A.K., Stepanenko V.N., Esipov R.S. // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2014. V. 158. P. 164–169.
<https://doi.org/10.1007/s10517-014-2714-7>
24. Baikin A.S., Nasakina E.O., Melnikova A.A., Mikhailova A.V., Kaplan M.A., Sergienko K.V., Konushkin S.V., Kolmakov A.G., Sevostyanov M.A. // *Inorg. Mater: Appl. Res.* 2024. V. 15. № 2. P. 352–357.
<https://doi.org/10.1134/S2075113324020060>
25. Polyzois G.L., Hensten-Pettersen A., Kullman // *J. Prosthet. Dent.* 1994. V. 71. № 5. P. 505–510.
[https://doi.org/10.1016/0022-3913\(94\)90191-0](https://doi.org/10.1016/0022-3913(94)90191-0)
26. Shirosaki Y., Tsukatani Y., Okamoto K., Hayakawa S., Osaka A. // *Pharmaceutics.* 2022. V. 14. № 5. 1111.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14051111>

STUDY OF THE INFLUENCE OF FILLERS ON THE WETTIBILITY AND CYTOTOXICITY OF POLYSILOXANE FILMS FOR MEDICAL USE

A. S. Baikin^{a, #}, E. O. Nasakina^a, G. A. Davydova^b, M. A. Sudarchikova^a, A. A. Melnikova^a,
K. V. Sergienko^a, S. V. Konushkin^a, M. A. Kaplan^a, M. A. Sevostyanov^{a, c},
Corresponding Member of the RAS A. G. Kolmakov^a

^a A.A. Baikov Institute of Metallurgy and Materials Science, Russian Academy of Sciences,
119334 Moscow, Russian Federation

^b Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of Russian Academy of Sciences,
Pushchino, Moscow region, Russian Federation

^c All-Russian Research Institute of Phytopathology,
143050 Bolshiye Vyazemy, Moscow Region, Russian Federation

[#] E-mail: baikinas@mail.ru

A method for synthesis of two new types of polysiloxane-based films is proposed: with introduced chitosan and with introduced sodium bicarbonate with its subsequent removal. It was found that the obtained films have a branched internal structure of channels suitable for further filling with biologically active substances. The study of the hydrophobicity of the obtained films, in comparison with pure polysiloxane films, showed an insignificant (no more than 6%) decrease in the equilibrium wetting edge angle, as well as equalization of its values from the outer and inner sides, compared with films without modification. A comprehensive *in vitro* study demonstrated the promising use of polysiloxane films with introduced chitosan, since they do not have a reliable toxic effect on the studied cells. Films of pure polysiloxane and polysiloxane with the use of sodium hydrogen carbonate had a toxic effect on the investigated cells and acidified the medium. All samples were found to be non-adhesive to cells.

Keywords: siloxane, chitosan, sodium bicarbonate, cytotoxicity, wettability, polymer films

УДК 544.726

ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ КОМПЛЕКСОВ ЛАНТАНИДОВ
В НАНОАНИОНИТАХ© 2024 г. М. В. Королева¹, В. В. Ягов¹, А. Ю. Оленин^{1,*}, А. М. Долгоносков¹,
член-корреспондент РАН Р. Х. Хамизов¹Поступило 14.05.2024 г.
После доработки 06.08.2024 г.
Принято к публикации 16.08.2024 г.

Впервые показана возможность применения наноанионитов в качестве организованной среды для усиления люминесценции комплексов редкоземельных элементов (РЗЭ). При введении золя, образованного наночастицами анионита, в раствор, содержащий теноилтрифторацетон (ТТА) и следовые количества солей европия(III) или самария(III), анионы ТТА концентрируются в фазе ионита и вызывают катионы РЗЭ с образованием отрицательно заряженных комплексов, что сопровождается повышением интенсивности люминесценции на три порядка величины.

Ключевые слова: люминесценция, наноаниониты, анионные ионообменные смолы, комплексы редкоземельных элементов, теноилтрифторацетон, европий, самарий

DOI: 10.31857/S2686953524050048, EDN: JGSHNV

Некоторые комплексы лантанидов характеризуются высокой интенсивностью люминесценции, характерными структурными спектрами и длительными временами жизни возбужденного состояния, что находит широкое применение в химическом анализе и сенсорах. Указанные свойства обусловлены внутримолекулярным переносом энергии с ароматического лиганда на ион лантанида («эффект антенны»), при этом триплетный уровень лиганда должен быть немного выше резонансного уровня иона лантанида. Условием высокого квантового выхода люминесценции комплексов редкоземельных элементов (РЗЭ) также является удаление молекул воды из координационной сферы катиона. Кроме того, повышению интенсивности свечения способствует использование организованных сред (мицелл, модифицированных сорбентов), обеспечивающих жесткость окружения люминесцирующих комплексов, что снижает вероятность безызлучательной дезактивации возбужденного состояния [1, 2]. Перспективным видом организованных сред могли бы стать гелевые иониты, представляющие собой жесткие трехмерные сетки с иммобилизованными ионами и полостями, доступными для

противоионов. Однако промышленные иониты, образованные макроскопическими зернами, характеризуются слишком медленной кинетикой обмена, что особенно существенно для громоздких комплексов РЗЭ с ароматическими лигандами. Интересной альтернативой могут стать наноиониты – тонкие фракции продукта механического диспергирования промышленных ионообменных смол [3]. Например, золи наночастиц анионита (НИА) характеризуются высокой стабильностью в водных растворах и низкой интенсивностью собственной люминесценции, что создает предпосылки для их применения в качестве организованной среды для усиления люминесценции [3–5].

Цель настоящей работы состояла в том, чтобы на примере люминесценции комплексов Eu(III) и Sm(III) с теноилтрифторацетоном (ТТА) в золях НИА продемонстрировать возможности диспергированных ионообменных смол в качестве организованных сред.

Аквасоли НИА, состоящие из частиц размером от 100 до 300 нм, получали из полистирольного высокоосновного анионита АВ-17-8 по методике, описанной в работе [3]. Концентрация исходного водного раствора НИА соответствовала содержанию 5 мМ групп четвертичного аммония в гидроксидной форме. Водные растворы солей европия(III) и самария(III) готовили рас-

¹ Институт геохимии и аналитической химии
им. В.И. Вернадского Российской академии наук,
119991 Москва, Россия

*E-mail: olenin@geokhi.ru

творением навесок $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ и $\text{SmCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ в дистиллированной воде. ТТА растворяли в дистиллированной воде при нагревании.

Образцы растворов помещали в кварцевые кюветы с длиной оптического пути 1 см. Спектры возбуждения и люминесценции регистрировали при помощи спектрофлуориметра JobinYvon 3CS (Франция). Относительная суммарная погрешность при регистрации оптических спектров не превышала 2%. Все измерения проводили при комнатной температуре.

Опыты проводили с разбавленными зольми НИА: во всех опытах концентрация ТТА многократно превышала концентрацию НИА (функциональных групп НИА). В этих условиях гидроксидная форма НИА переходит в теноилтрифторацетонатную (схема 1): этот процесс можно рассматривать как ионный обмен или как нейтрализацию слабой кислоты в фазе ионита.

На рис. 1 приведены спектры возбуждения и люминесценции растворов, содержащих Eu^{3+} и ТТА в отсутствие (рис. 1а) и в присутствии НИА (рис. 1б); условия измерений идентичны, значения интенсивности можно сравнивать. В спектрах люминесценции наблюдаются характерные для иона Eu^{3+} полосы, соответствующие переходам с уровня $^5\text{D}_0$ на подуровни $^7\text{F}_j$ ($j = 0, 1, 2, 3, 4$) [1] с глобальным максимумом при 613 нм ($j = 2$), причем введение золь НИА в систему Eu^{3+} –ТТА вызывает повышение интенсивности люминесценции в 2000 раз.

Высокая интенсивность люминесценции в системе НИА–ТТА– Eu^{3+} наблюдается только при большом избытке β -дикетона. При добавлении НИА равновесие между нейтральным и анионным комплексами смещается вправо (схема 2), что подтверждается почти нулевой интенсивностью полосы, соответствующей переходу $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$ в спектре люминесценции раствора НИА–ТТА– Eu^{3+} (рис. 1б), что характерно для β -дикетонатных тетраакис-комплексов Eu^{3+} [6].

Тысячекратное усиление люминесценции анионного комплекса, по сравнению с нейтральным, по-видимому, вызвано вытеснением молекул воды из внутренней координационной сферы центрального иона, причем преимущественно повышается интенсивность полосы сверхчувствительного перехода $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$, доминирование которой над остальными компонентами мультиплета в присутствии НИА проявляется особенно ярко (рис. 1б).

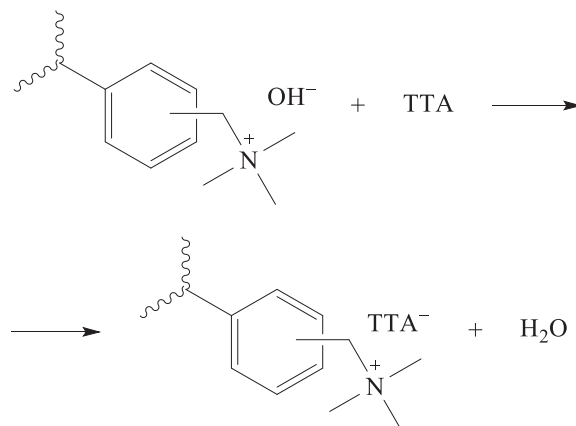


Схема 1. Реакция ОН-формы НИА с водным раствором ТТА.

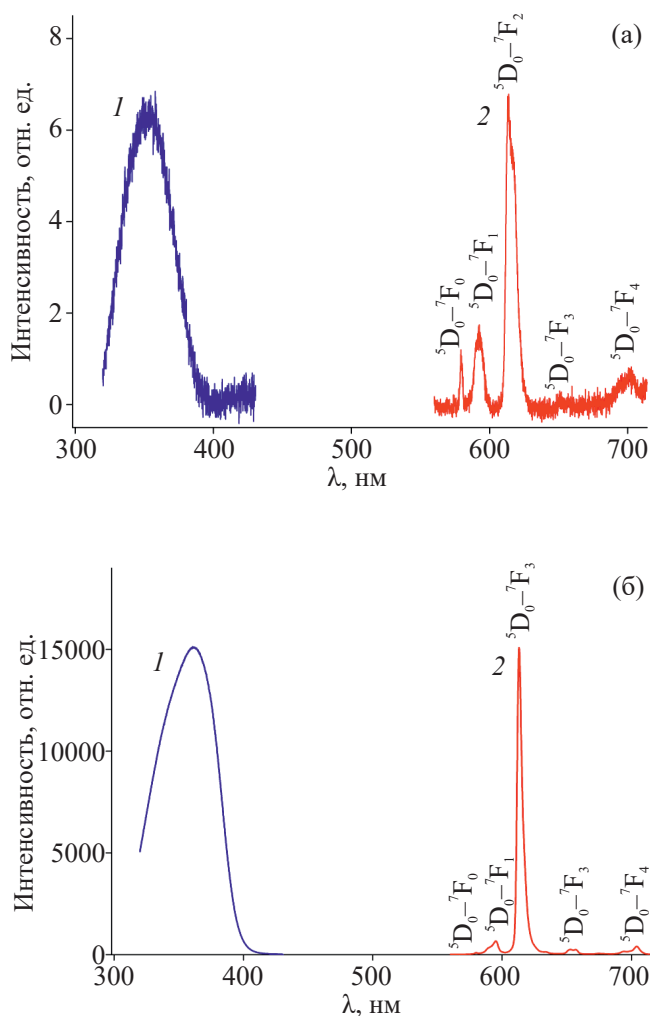
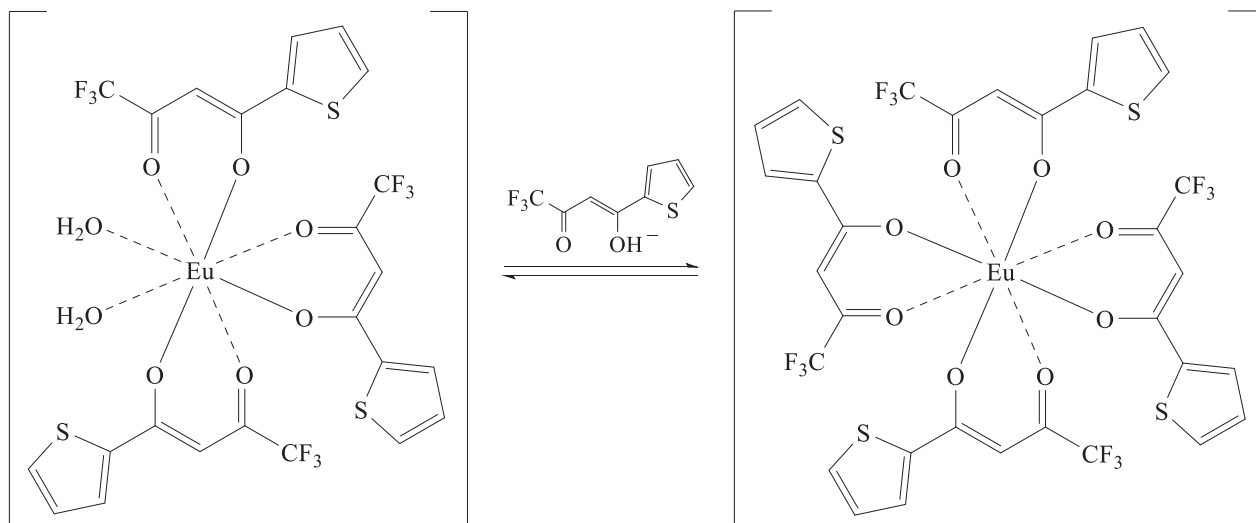


Рис. 1. Спектры возбуждения (кривая 1, $\lambda_{\text{люм}} = 613$ нм) и люминесценции (кривая 2, $\lambda_{\text{возб}} = 360$ нм) водных растворов, содержащих 40 мкМ $\text{Eu}(\text{III})$ и 400 мкМ ТТА в отсутствие НИА (а) и в присутствии 50 мкМ НИА (б).


 Схема 2. Равновесие реакции комплексообразования в системе НИА–ТТА–Eu³⁺.

Аналогично, усиление люминесценции происходит при введении НИА в растворы комплексов, содержащих ионы Sm³⁺ и ТТА (рис. 2). В отсутствие НИА интенсивность сигналов слишком низкая, спектр сливается с осью абсцисс. В спектре люминесценции комплекса самария(III) наблюдаются полосы, соответствующие переходам с уровня $^4G_{5/2}$ на подуровни 6H_j ($j = 5/2, 7/2, 9/2, 11/2$), характерные для иона Sm³⁺ [1], с глобальным максимумом при 647 нм ($j = 9/2$).

Таким образом, введение НИА в растворы европия(III) и самария(III), содержащие большой (более порядка) избыток ТТА, приводит к резкому усилению люминесценции. ТТА обладает

заметной кислотностью (для ТТА $pK_a = 6.2$, [7]), что предотвращает образование слабо люминесцирующих гидроксокомплексов европия и самария. Небольшие добавки гидроксильной формы НИА на фоне избытка ТТА почти не вызывают подщелачивания (для всех использованных растворов pH не превышало значения 5.2). При этом в фазе НИА достигается высокая (около 1 М) локальная концентрация анионов ТТА⁻, что обеспечивает образование ярко люминесцирующих комплексов катионов РЗЭ с четырьмя ароматическими лигандами.

На рис. 3 представлены зависимости интенсивности люминесценции от концентраций

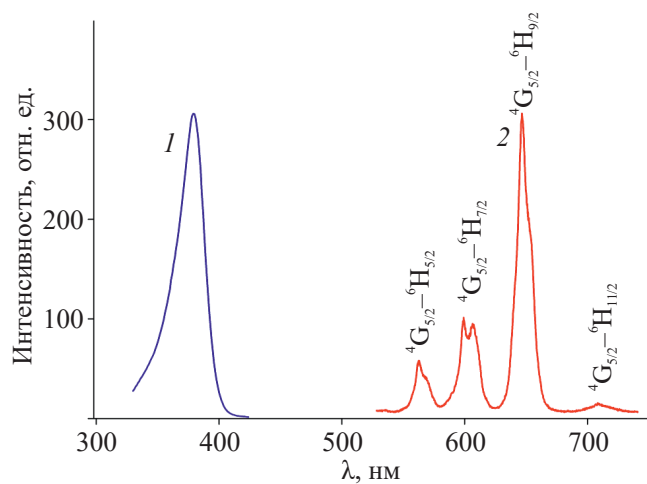


Рис. 2. Спектры возбуждения (кривая 1, $\lambda_{\text{возб}} = 360$ нм) и люминесценции (кривая 2, $\lambda_{\text{возб}} = 380$ нм) водных растворов, содержащих 50 мкМ Sm(III) и 2 мМ ТТА в присутствии 250 мкМ НИА.

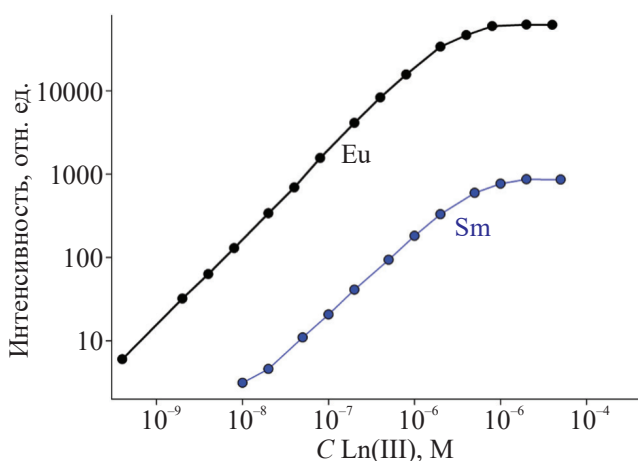


Рис. 3. Зависимость интенсивности люминесценции от концентрации Eu(III) и Sm(III). Условия для Eu(III): $\lambda_{\text{возб}} = 360$ нм, $\lambda_{\text{люм}} = 613$ нм, 0.4 мМ ТТА и 50 мкМ НИА; для Sm(III): $\lambda_{\text{возб}} = 380$ нм, $\lambda_{\text{люм}} = 647$ нм, 2 мМ ТТА и 250 мкМ НИА.

Eu(III) и Sm(III) в оптимальных для определения этих металлов условиях. Установлено, что линейность градуировочных графиков соблюдается в широком диапазоне концентраций: $(5 \times 10^{-10}) - (5 \times 10^{-6})$ М с пределом обнаружения 1×10^{-10} М для европия(III) и $(5 \times 10^{-8}) - (5 \times 10^{-6})$ М с пределом обнаружения 1×10^{-8} М для самария(III).

Представленные данные позволяют рассматривать НИА в качестве перспективной организованной среды для усиления люминесценции комплексов РЗЭ, в частности, для определения самих металлов. Проведенные нами предварительные исследования свидетельствуют о том, что возможности НИА не исчерпываются описанными выше системами, сходные эффекты наблюдаются также для других РЗЭ и других лигандов.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена за счет средств бюджетного финансирования ГЕОХИ РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Полужетов Н.С., Кононенко Л.И., Ефрешина Н.П., Бельтюкова С.В. Спектрофотометрические и люминесцентные методы определения лантаноидов. Пилипенко А.Т. (ред.). Киев: Наукова думка, 1989. 256 с.
2. Проблемы аналитической химии. Т. 20. Нанообъекты и нанотехнологии в химическом анализе. Штыков С.Н. (ред.). М.: Наука. 2015. 430 с.
3. Долгоносов А.М., Хамизов Р.Х., Колотилина Н.К., Шайхина С.У., Евстигнеева П.В. // Сорб. хром. проц. 2016. Т. 16. № 4. С. 400–414.
4. Долгоносов А.М., Хамизов Р.Х., Колотилина Н.К. // Журн. аналит. хим. 2019. Т. 74. № 4. С. 285–296. <https://doi.org/10.1134/S0044450219030034>
5. Nehra K., Dalal A., Hooda A., Bhagwan S., Saini R.K., Mari B., Kumar S., Singh D. // J. Mol. Struct. 2022. V. 1249. Art. 131531. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131531>
6. Blois L., Carneiro N.A., Longo R.L., Costa I.F., Paolini T.B., Brito H.F., Malta O.L. // Опт. спектроск. 2022. Т. 130. № 1. С. 207–214. <https://doi.org/10.21883/OS.2022.01.51909.35-21>
7. Atanassova M. // Separations. 2022. V. 9. № 6. Art. 154. <https://doi.org/10.3390/separations9060154>

LUMINESCENCE OF LANTHANIDE COMPLEXES IN NANO ANION EXCHANGERS

M. V. Koroleva^a, V. V. Yagov^a, A. Yu. Olenin^{a, #}, A. M. Dolgonosov^a,
Corresponding Member of the RAS R. Kh. Khamizov^a

^a*V.I. Vernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry, Russian Academy of Sciences,
119991 Moscow, Russian Federation*

[#]*E-mail: olenin@geokhi.ru*

The possibility of using nanoanion exchangers as an organized medium for enhancing the luminescence of rare earth element complexes has been demonstrated for the first time. When a sol formed by anion exchanger nanoparticles is introduced into a solution containing thenoyltrifluoroacetone (TTA) and traces of europium(III) or samarium(III) salts, TTA anions concentrate in the ionite phase and bind rare earth cations into negatively charged complexes, which is accompanied by an increase in luminescence intensity by three orders of magnitude.

Keywords: luminescence, nanoanion exchangers, anionic ion exchange resins, rare earth element complexes, thenoyltrifluoroacetone, europium, samarium