

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ
ИМ. Н.Н. СЕМЕНОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК



СБОРНИК ТРУДОВ
XXVIII ЕЖЕГОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ ФИЦ ХФ РАН
СЕКЦИЯ
«ДИНАМИКА ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ
ПРОЦЕССОВ»

Москва
2023 г.

УДК 577.1:541.1:544.4:531.3(063)

ББК 24.5+28.072

С23

Редакционная коллегия:

О.Т.Касакина, А.Н. Костров

Сборник трудов XXVIII ежегодной научной конференции Федерального исследовательского центра химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук, секция «Динамика химических и биологических процессов». Москва, 2023 - 216 с.: ил.

В сборнике опубликованы статьи по материалам докладов, представленных на XXVIII ежегодной конференции Отдела динамики химических и биологических процессов (ОДХБП) ФИЦ ХФ РАН в 2023г., которые отражают основные научные направления в области химической физики и биохимии, катализа химических и биохимических процессов, нанохимии, а также в разработке новых методов исследования и оптимизации химических и физических процессов.

Для научных работников, преподавателей, аспирантов и студентов.

ПРОГРАММА

XXVIII ежегодной научной конференции

ФИЦ ХФ РАН

СЕКЦИЯ

ДИНАМИКА ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

21.03.2023.

11.00 – 17.20

1. А.Ф. Ванин

Динитрозильные комплексы железа с тиол-содержащими лигандами – источники одного из универсальных цитотоксинов – катиона нитрозония.

2. Градов О.В., Градова М.А.

Фотоиндуцированная и СВЧ-индуцированная самоорганизация в полупроводниках: от неравновесных фазовых переходов, обусловленных генерационно-рекомбинационными механизмами, до реакционно-диффузионных процессов самоорганизации микроструктур.

3. Васин А. А., Гулин А. А., Корозникова Е. Е., Донцов А. Е., Яковлева М.А., Фельдман Т. Б., Надточенко В.А., Островский М. А.

Механизм фотоокисления побочных продуктов зрительного цикла.

4. Шатов А.А., Астафьев А.А., Шахов А.М.

Фемтосекундный лазерный синтез люминесцентных наночастиц из толуола и их модификация.

5. А.В. Гусенков, А. Н. Костров, В. А. Надточенко

Очистка холста от клеевого грунта методом лазерной абляции: анализ морфологии и химического состава очищенной поверхности.

6. Потапова Н.В., Касаикина О.Т.

Супрамолекулярные катализаторы генерирования радикалов на основе QAC.

7. Зинатуллина К.М., Орехова А.В., Касаикина О.Т., Храмеева Н.П., Будник М.И., Борисов Ю.А.

Роль интермедиатов в реакции глутатиона с пероксидом водорода.

8. Егорова Ю.Н., Мотякин М.В., Кондратович В.Г., Касаикина О.Т.

Особенности механизма взаимодействия иодида ацетилходина с пероксидом водорода.

9. Аствацатуров Д.А., Чумакова Н.А., Кокорин А.И.

Подвижность полярных жидкостей в межплоскостном пространстве оксида графита.

10. Матвеев М.В., Чумакова Н.А.

Ориентационная упорядоченность мембран из оксида графита по данным метода спинового зонда и сканирующей электронной микроскопии.

11. Каплин А.В., Еремина Е.А., Коробов М.В., Ребрикова А.Т., Чумакова Н.А., Кокорин А.И.

Синтез и сорбционные свойства порошков и мембран на основе оксида графита.

12. Егорова М.С., Осыченко А.А., Залесский А.Д., Мартиросян Д.Ю., Точило У.А., Надточенко В.А.

Влияние фемтосекундной лазерной энуклеации на структуру цитоскелета ооцитов мышцы.

13. О.Т. Калинина, Ю.А. Федоров, А.А. Осыченко, А.Д. Залесский, Д.Ю. Мартиросян, У.А. Точило, В.Н. Надточенко

Влияние флуоресцентного красителя BioTracker Blue на эффективность слияния клеток с помощью фемтосекундного лазерного излучения ближнего инфракрасного диапазона.

14. Сайфулина К. Э., Филюшкина В.И., Белова Е.М., Томский А.А., Гамалея А.А., Седов А.С.

Связь активности субталамического ядра с клиническими симптомами болезни Паркинсона.

15. А.А. Незвинский, Е.М. Белова, А.А. Гамалея, А.А. Томский, А.С. Седов.

Альфа осцилляции субталамического ядра пациентов с болезнью Паркинсона в покое и при выполнении движений.

16. Джалагония И.З., Усова С.В., Гамалея А.А., Томский А.А., Седов А.С.

Анализ эффективности DBS по нейронной активности бледного шара.

17. Захаров Н.И., Белова Е.М., Гамалея А.А., Томский А.А., Седов А.С.

Энтропийный подход к предсказанию эффективности стимуляции глубоких структур мозга у пациентов с болезнью Паркинсона.

22.03.2023.

11.00 – 14.00

18. Градов О.В.

Спектрозональная и гиперспектральная безлинзовая микроскопия как инструмент физико-химических и структурно-биофизических исследований с пространственным и временным разрешением (3D / 4D).

19. Швыдкий В.О., Травин С.О., Штамм Е.В., Шишкина Л.Н

Биотестирование как интегральный показатель качества природных и сточных вод.

20. М. С. Шебанов, В. Б. Иванов

Анализ термодеструкции полиариленкетонатов в неизотермическом режиме в широком интервале температур методом термогравиметрии.

21. Федотов В. Г.

О поглощении и оптическом усилении в атмосферном воздухе.

22. И.Н. Когарко, В.В. Петушкова, Б.С. Когарко, Е.А. Нейфах, О.В.

Ктиторова, И.И. Ганеев, Н.С. Кузьмина, Е.И. Селиванова

Изучение радиационно-химических нарушений системы крови при контакте облученных и необлученных животных при ионизирующей радиации.

23. А. А. Осипов, Г. А. Посыпанова.

Сравнительный анализ количественных изменений фокусов белков репарации ДР ДНК γ H2AX и pATM в нейральных стволовых клетках, подвергавшихся воздействию гамма-нейтронного излучения.

24. Игнатов М.А., Трубоченкова Т.М., Яшкина Е.И, Осипов А.Н.

Влияние хлорохина на радиационно-индуцированную гибель клеток глиобластомы человека.

25. Яшкина Е.И., Трубоченкова Т.М., Игнатов М.А., Воробьева Н.Ю.,

Осипов А.Н.

Влияние ионов цинка на радиационно-индуцированное старение фибробластов человека.

26. Ю.А. Зрилова, Т.М. Бычкова, О.В. Никитенко, И.М. Парфенова, Т.А.

Караулова, А.А. Иванов

Влияние острого облучения на массу и температуру тела в эксперименте на мышах.

СТЕНДОВАЯ СЕССИЯ

27. Борунова А.Б., Воробьева А.Г., Леонов А.В., Попов В.А.

Механоактивация хром+ наноалмазы. Приготовление металломатричного композита.

28. М.Г.Маклецова, Полещук В.В., М.Ю.Вакуленко, Г.Т.Рихирева

Полиаминный стресс-ответ и возраст-зависимые заболевания.

29. Калипина И.Г., Иванов В.Б., Семенов С.А., Жданова О.А., Казарин В.В.

Кинетические закономерности воздействия метаболитов плесневого гриба на диэлектрические свойства композиционного полимерного материала.

30. Градова М.А., Маклакова И.А., Лоухина И.В., Худяева И.С., Лобанов А.В., Белых Д.В.

Фотокаталитическая активность катионных производных хлорина еб, адсорбированных на поверхности частиц слоистого силиката магния.

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

Антибактериальные свойства $Fe^{III}Cl$ -тетрафенилпорфирина в комплексе с полимером.

32. Грузнова О.А., Лобанов А.В., Сохликов А.Б., Грузнов Д.В.

Содержание 5-гидроксиметил-2-фуральдегида в меде при воздействии высоких температур.

33. Смурова Л.А., Будник М.И., Касаикина О.Т., Овчаренко А.В., Апашева Л.М., Савранский В.В., Лобанов А.В.

Тестирование на начальных стадиях развития семян, обработанных экопероксидом и лазерным излучением.

34. Апашева Л.М., Будник М.И., Овчаренко Е.Н., Степнова А.Ф., Казиев Г.З., Гущенко У.А., Мвенге К.Л., Орлова В.В., Лобанов А.В.

Инкрустация полимерным покрытием семян, стимулирующая их рост.

35. Киселевский М.В., Будник М.И., Касаикина О.Т., Лобанов А.В., Зинатуллина К.М., Смурова Л.А., Апашева Л.М., Овчаренко Е.Н., Турбин В.В., Розанцев М.В.

Перспективы использования пероксида водорода при онкологических заболеваниях.

36. Борулева Е.А., Лобанов А.В.

Влияние белков и нуклеиновых кислот на спектрально-люминесцентные свойства оксида цинка, модифицированного детонационными наноалмазами.

37. Наговицын И.А., Чудинова Г.К., Лобанов А.В.

Люминесценция пленок $ZnO:SiO_2$, допированных церием.

38. Китушина Е.В., Клименко И.А., Орешкина А.В., Казиев Г.З., Лобанов А.В.

Взаимодействие гемина и ZnII-комплекса тетра(4-пиридил)порфирина с гексамолибденоникелат-полианионом в водных средах.

УЧАСТНИКИ БЕЗ ДОКЛАДА

39. Шарыгин В.Л., Сипягина А.Е., Балева Л.С., Карахан Н.М., Яблонская М.И.

Открытые вопросы методологии и результатов системного анализа физико-химических механизмов радиогенных повреждений организма.

ДИНИТРОЗИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА С ТИОЛ-СОДЕРЖАЩИМИ ЛИГАНДАМИ - ИСТОЧНИКИ ОДНОГО ИЗ УНИВЕРСАЛЬНЫХ ЦИТОТОКСИНОВ -КАТИОНА НИТРОЗОНИЯ

А.Ф.Ванин

*Федеральный исследовательский центр химической физики им.
Н.Н.Семенова РАН, Москва, Россия*

Основные тезисы сообщения:

1. Динитрозильные комплексы железа с тиол-содержащими лигандами (ДНКЖ, резонансная структура моноядерной формы $[(RS^-)_2Fe^{2+}(NO)(NO^+)]$ - функционально активная, «рабочая» форма системы оксида азота (NO) в живых организмах.
2. Наличие катионов нитрозония (NO^+) в ДНКЖ определяется механизмом образования этих комплексов.
3. При блокаде тиоловых групп в ДНКЖ высвобождающиеся из них катионы NO^+ гидролизуются до нитрита.
4. При сохранении тиоловых групп в тиол-содержащих лигандах ДНКЖ высвобождающиеся из этих комплексов катионы NO^+ обнаруживаются по возникающим при их участии S-нитрозогиолам ($RS^- - NO^+$).
5. В обоих случаях (пункты 3 и 4) максимальное количество высвобождающихся из ДНКЖ катионов NO^+ не превышает половины нитрозильных лигандов в этих комплексах.
6. При концентрации в растворе тиолов, не включённых в ДНКЖ (свободных тиолов), в 2 и более раза превышающей концентрацию этих комплексов, высвобождающиеся катионы NO^+ восстанавливаются тиолами до NO при участии ионов железа как спиновых катализаторов реакции.
7. Приводятся примеры цитотоксического действия катионов NO^+ на биосистемы, в том числе на размножение коронавируса SARS-Cov-2 в организме сирийских хомячков.

МЕХАНИЗМ ФОТООКИСЛЕНИЯ ПОБОЧНЫХ ПРОДУКТОВ ЗРИТЕЛЬНОГО ЦИКЛА

**Васин А.А.*, Гулин А.А., Корозникова Е.Е., Донцов А.Е., Яковлева М.А.,
Фельдман Т.Б., Надточенко В.А., Островский М.А.**

*ФГБУН Федеральный исследовательский центр химической физики им.
Н. Н. Семенова РАН, ул. Косыгина, 4, корп. 1, Москва, 119991, Россия
e-mail: a2vasin@yandex.ru

Пигментный эпителий сетчатки (ПЭС) – монослой пигментных клеток, тесно контактирующих с нейральной сетчаткой и через мембрану Бруха с сосудистой оболочкой. ПЭС играет важную роль в обеспечении функционирования зрительных рецепторов. Однако, клетки ПЭС подвержены высокому риску фотоокислительного стресса из-за длительного воздействия света, высокого содержания кислорода и присутствия фотосенсибилизирующих пигментов, в том числе стареющего пигмента липофусцина. Бис-ретиноид N-ретинилиден-N-ретирилэтаноламин (A2E) является одним из основных компонентов липофусциновых гранул и синтезируется из транс-ретинала и фосфатидилэтанолamina как побочный продукт зрительного цикла. После воздействия света A2E способствует повышению уровня активных форм кислорода (АФК), становясь токсичным для ПЭС. Таким образом, накопление липофусцина в клетках ПЭС приводит к развитию нескольких форм дегенерации сетчатки, что является частой причиной слепоты у людей. A2E и продукты его окисления, накапливаемые клетками ПЭС, по-видимому, вовлечены в патогенез нескольких дегенеративных заболеваний сетчатки, таких как макулярная дистрофия Беста, болезнь Штаргардта и возрастная макулярная дегенерация (ВМД). Поэтому была выдвинута гипотеза, что атрофические поражения, наблюдаемые при заболеваниях сетчатки могут быть результатом отравления из-за хронического образования A2E и продуктов его окисления. Конкретные механизмы повреждающего действия A2E на клетки ПЭС остаются

неясными. Поэтому целью данной работы было моделирование процесса фотоокисления A2E и анализ продуктов его фотоокисления.

В данной работе проводилось фотоокисление синтетического A2E диодом LED мощностью 10 Вт/см². Процесс фотоокисления контролировался по изменениям спектров флуоресценции. На каждом этапе фотоокисления отбирались пробы для анализа методом ToF-SIMS и Фурье-ИК спектроскопией методом нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО). В частности, было выявлено увеличение интенсивности ионов с $m/z = 29$ (ион CHO^+), $m/z = 43$ (ион $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}^+$), $m/z = 60$ (ион $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2^+$) и $m/z = 69$ (ион $\text{C}_4\text{H}_7\text{O}^+$) в окисленных образцах. Образование альдегидов было подтверждено увеличением интенсивности полос 1750 см⁻¹, 1450 см⁻¹, 1350 см⁻¹ в ИК-спектрах. Кроме того, был проведен анализ ионов, показывающих рост при окислении A2E. На основании точных масс и механизмов окисления подобных структур были предложены структуры некоторых ионов. Продукты, накопившиеся в результате фотоокислительной деструкции, оценивали на содержание реакционноспособных карбониллов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой. Было выявлено, значительное повышение ТБК-активности в процессе фотоокисления.

На основании полученных данных, мы предположили, что водорастворимые продукты фотодеструкции A2E являются одним из потенциальных источников воспалительного сигнала в клетках ПЭС. Эти продукты вызывают модификацию белков, что приводит к накоплению дефектных белков, которые могут быть распознаны системой комплемента как «чужеродные». Взаимодействие белков с водорастворимыми продуктами фотоокислительной деструкции A2E приводит к накоплению модифицированных, поврежденных белков. Накопление таких модифицированных белков может приводить к развитию воспалительных процессов и, что немаловажно, лежать в основе патогенеза многих заболеваний глаз, в том числе сенильных заболеваний, при которых бисретиноид A2E накапливается в клетках ПЭС.

ФЕМТОСЕКУНДНЫЙ ЛАЗЕРНЫЙ СИНТЕЗ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ИЗ ТОЛУОЛА И ИХ МОДИФИКАЦИЯ

Шатов А.А.^{1✉}, Астафьев А.А.¹, Шахов А.М.¹

¹ФГБУН Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, Косыгина 4
[✉]shatovalexander98@gmail.com

Возможность углерода принимать различные виды гибридизации, делает наноматериалы на его основе крайне интересными. В последние годы среди исследователей вызывают значительный, растущий интерес углеродные наноточки (УНТ).

УНТ – новый класс наноразмерных углеродных материалов, которые состоят из sp^3 - и sp^2 -гибридного углеродного ядра и оболочки в виде различных поверхностных функциональных органических групп, таких как -COOH, -OH, -NH₂. Широкий интерес исследователей к УНТ обуславливается их яркой и перестраиваемой люминесценцией, высоким квантовым выходом и стабильностью, низкой токсичностью и отличной биосовместимостью. Вследствие обнаруженных уникальных свойств УНТ, их использование является очень привлекательным материалом для флуоресцентного биоимиджинга, флуоресцентного зондирования, светоизлучающих устройств, фотокатализа и других применений [1–4].

Химический состав и структура углеродных точек определяют уникальность их оптических и фотофизических свойств. Однако механизмы люминесценции и их связь со структурой до сих пор остается дискуссионным вопросом [5]. Несмотря на это, на сегодняшний день большое количество исследований показывает, что УНТ способны демонстрировать люминесцентные свойства в видимом диапазоне. Напротив, лишь в нескольких работах [6–9] были описаны исследования по УФ люминесценции УНТ, хотя она представляет значимый интерес для применений в таких областях, как микро- и нанотехнологии, биомедицинские исследования, хранение данных и так далее. Данная работа направлена на разработку

фундаментальных основ фемтосекундного лазерного синтеза углеродных наноматериалов, изучение физико-химических свойств и выявление механизмов люминесценции УНТ.

Материалы и методы

Синтез углеродных наночастиц. Образец жидкого ароматического прекурсора из толуола в количестве двух миллилитров помещали в пенициллиновый флакон и при комнатной температуре подвергали облучению сфокусированными фемтосекундными лазерными импульсами, усиленными с помощью регенеративного усилителя (Spitfire, Spectra-Physics) и сфокусированными сферической линзой с $NA = 0,3$. Центральная длина волны импульса, частота повторения, длительность и энергия составляли 800 нм, 1 кГц, 50 фс и 1,4 мДж соответственно. Облученные образцы высушивали в пенициллиновых флаконах при комнатной температуре для удаления непрореагировавших прекурсоров или их летучих продуктов реакции. После удаления побочных продуктов реакции оставался осадок, который растворяли в этаноле, и для удаления крупных агрегатов центрифугировали в УЗВ. Далее с помощью установки для диализа 2k MWCO удаляли низкомолекулярную фракцию в растворе. В результате образовывался раствор продуктов, облученных фемтосекундным лазером, массой не более чем 2 килодальтон, который затем анализировали дальнейшими методами.

В экспериментах с УФ-облучением около 3 мл раствора наночастиц из толуола в этаноле подвергали ультрафиолетовому облучению ртутной лампы низкого давления в течение 60 минут. Спектры поглощения и люминесценции в УФ – видимом диапазоне измеряли в одной и той же кювете до и после облучения.

Характеризация образцов. Образец сканировали с помощью установки АСМ (СМЕНА-В, NT-MDT). Фотографии образца были записаны на просвечивающем электронном микроскопе высокого разрешения JEM 2100F (JEOL Co., Ltd., Япония). Спектры поглощения фотолюминесценции образцов в этаноле регистрировали с помощью спектрофотометра Shimadzu

(UV-3600) и спектрофлуориметра (RF-5031 PC). Инфракрасные спектры поглощения собирали с помощью микроскопа-спектрометра Bruker Lumos II FTIR в режиме отражения. Спектры комбинационного рассеяния регистрировались с помощью спектрометра SENTERRA Raman microscope (Bruker) с возбуждением на 785 нм. Время жизни флуоресценции и время затухания анизотропии были рассчитаны как средневзвешенные по амплитуде значения на основе трехэкспоненциальной подгонки кинетики затухания.

Обсуждение результатов

Как было описано ранее, импульсное лазерное облучение толуола приводило к образованию окрашенных и люминесцентных УНТ. Анализ морфологии методом просвечивающей электронной микроскопии высокого разрешения (рис. 1) углеродных наноматериалов выявил, что в составе растворимой фракции находились УНТ с характерной кристаллической структурой, образованной концентрическими графеновыми слоями с периодом решетки 0,35 нм и периодической структурой из параллельных атомных слоев с периодом 0,25 нм. Эти параметры совпадали с периодом кристаллической решетки графита, что подтверждает факт наличия графитовой кристаллической структуры в образце. На АСМ изображении было выявлено также наличие наноразмерных частиц, лежащих на стеклянной подложке (рис. 2).

Метод рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии выявил наличие двух элементов в образце УНТ из толуола: углерода и кислорода, процентное содержание которых составляло 91,2% и 8,8% соответственно (табл. 1). Нехарактерное наличие атомов кислорода в продуктах из толуола связано с окислением этих молекул в присутствии кислорода воздуха.

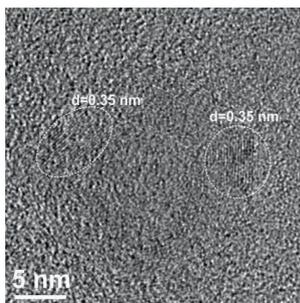


Рис.1. Изображение просвечивающей электронной микроскопии для УНТ из толуола, показывающее тип кристаллической структуры углеродной точки.

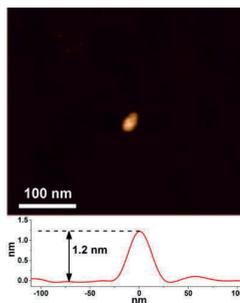


Рис.2. АСМ-изображение УНТ из толуола, показывающее, что размер углеродной точки составлял порядка нескольких нанометров.

Концентрация элементов в УНТ из толуола	
Содержание С, %	91,2
Содержание О, %	8,8

Табл. 1. Концентрация элементов в УНТ из толуола, полученные методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии.

Наличие графитовой кристаллической структуры было подтверждено методом спектроскопии комбинационного рассеяния, который показал типичные полосы D и G при 1310 и 1590 см^{-1} соответственно, приписываемые sp^2 -гибризованному углероду и конденсированным гексагональным ароматическим кольцам в графитовых кристаллитах (рис. 3). Спектр ИК-Фурье спектроскопии УНТ из толуола демонстрировал характерные особенности ароматических фрагментов: ряд резких пиков растяжения ароматического кольца между 1500 и 1600 см^{-1} , пики изгиба СН вне плоскости $730\text{-}780\text{ см}^{-1}$, пик деформации ароматического кольца около 700 см^{-1} и растяжение ароматической связи СН в районе 3000 и 3100 см^{-1} (рис. 4). Результаты рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии были подтверждены наличием пиков, соответствующих гидроксильным ($3200\text{-}3600\text{ см}^{-1}$) и карбонильным группам ($1650\text{-}1750\text{ см}^{-1}$).

Следующим шагом исследования было изучение оптических свойств УНТ. Спектр поглощения ароматических УНТ в УФ–видимом диапазоне

показал сильный пик поглощения в УФ-области спектра при длине волны около 250 нм и более слабое поглощение, простирающееся в ближней УФ- и видимой областях (рис. 5). Несмотря на то, что толуол люминесцирует в области глубокого ультрафиолетового излучения, полученные из него УНТ показали как ультрафиолетовую, так и заметную видимую фотолюминесценцию.

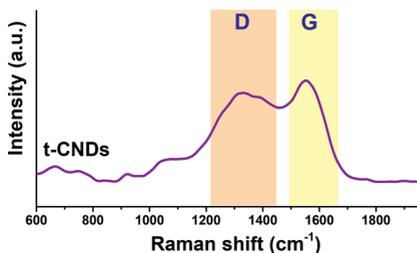


Рис.3. Спектр комбинационного рассеяния УНТ из толуола (t-CNDs) с типичными полосами D и G для кристаллической структуры графита.

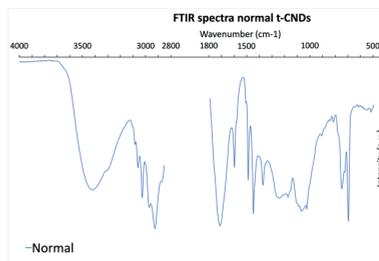


Рис.4. ИК-Фурье спектр нормального образца УНТ из толуола (t-CNDs).

Анализ спектров фотолюминесценции видимого диапазона УНТ из толуола показал, что максимум видимого излучения непрерывно смещался в сторону более красных длин волн при увеличении длины волны возбуждения (рис. 6). Этот сдвиг сопровождался ослаблением интенсивности излучения.

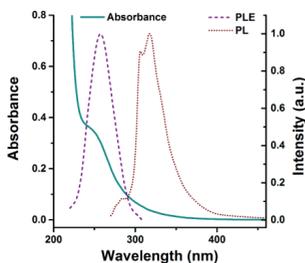


Рис.5. Спектр УФ и видимого поглощения обычного раствора УНТ из толуола. Спектр УФ возбуждения и излучения УНТ из толуола.

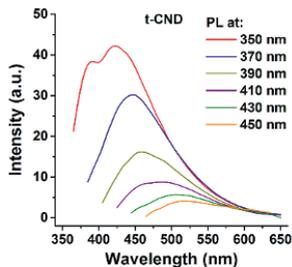


Рис.6. Спектры фотолюминесценции видимого диапазона УНТ из толуола.

Для изучения дополнительных оптических свойств УНТ были исследованы кинетики затухания видимой фотолюминесценции и кинетики затухания анизотропии фотолюминесценции. Среднее время деполяризации, измеренное в различных частях спектра излучения, для УНТ из толуола составляло 1,14 нс. В соответствие с полученными данными (табл. 2), мы делаем вывод, что аномально быстрая деполяризация вращательного излучения может быть приписана сегментированному движению УНТ, имеющих флуорофоры, которые не жестко связаны с наночастицей путем ковалентных связей и могут свободно вращаться вокруг нее.

Чтобы проверить предположение, что большой вклад в поглощение и излучение вносят периферийные флуорофоры мы исследовали свойства УНТ, которые были окислены в растворе этанола в присутствии атмосферного кислорода под воздействием ультрафиолетового света ртутной лампы. Поглощение в дальнем УФ диапазоне стало значительно меньше, а в ближнем УФ и видимом спектральном диапазоне стало значительно больше (рис. 7).

Параметры флуоресценции УНТ из толуола		
Максимум излучения (возб. на 356 нм)	436 нм	318 нм
Квантовый выход (возб. на 356 нм и 260 нм)	3,3%	25,4 %
Время жизни люминесценции на 450 нм	2 нс	-
Время затухания анизотропии на 450 нм	1,14 нс	-

Табл. 2. Параметры флуоресценции УНТ из толуола.

Мы делаем вывод, что произошло дальнейшее окисление с образованием дополнительных кислородсодержащих фрагментов на поверхности УНТ. Видимая фотолюминесценция УНТ становилась сильнее после УФ облучения (рис. 8). Это наблюдение подтверждает, что поглощение УНТ неоднородно, и в дополнение к флуорофорам при окислении образуются нелюминесцентные хромофоры.

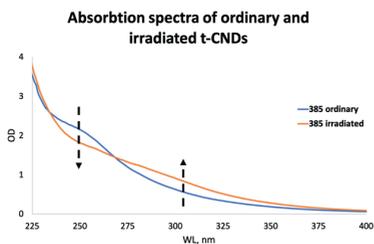


Рис.7. Сравнение спектров поглощения ароматических УНТ из толуола до и после УФ-облучения.

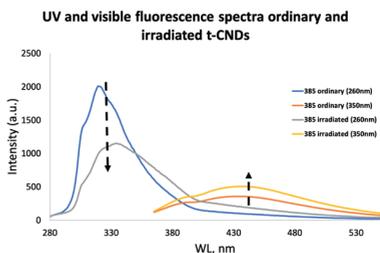


Рис.8. Сравнение спектров фотолюминесценции ароматических УНТ из толуола до и после УФ-облучения.

Изменение ИК-Фурье спектров подтвердило окисление УНТ из толуола (рис. 9). Данные ИК-спектроскопии после УФ-облучения показали значительное увеличение гидроксильных и карбонильных групп, а также уменьшение пиков колебания ароматических связей C-H при 729 см^{-1} и 3000 см^{-1} .

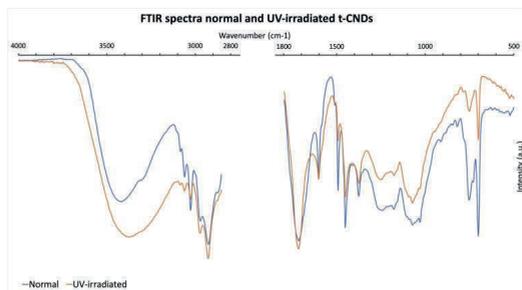


Рис. 9. Сравнение ИК-Фурье спектров ароматических УНТ из толуола до и после УФ-облучения.

Важно отметить, что время затухания анизотропии люминесценции уменьшилось после УФ облучения. Это связано с образованием поверхностных флуорофоров, которые быстро могут совершать поворот вокруг ковалентной связи. Таким образом, мы предполагаем, что сильная УФ-люминесценция возникает из-за наличия олигофенильных групп, присоединенных к наночастице. После окисления УНТ из толуола, к ним

присоединились дополнительные гидроксогруппы, которые являются причиной смещения сильной люминесценции в видимый диапазон.

Выводы

Мы продемонстрировали, что при фемтосекундном лазерном облучении толуола образуются УНТ с частично кристаллической структурой и зависящей от возбуждения видимой люминесценцией. Мы показали, что УНТ из толуола имеют одновременно флуоресценцию как в УФ, так и в видимом диапазоне. Эффект от фотоокисления показывает, что за счет него можно управлять оптическими свойствами УНТ. Нами предложена модель, объясняющая механизм флуоресценции и механизм изменения люминесцентных свойств при фотоокислении.

Работа проводилась при поддержке гранта РФФИ 21-72-20169.

Литература

1. Nandi S. et al. // Membrane analysis with amphiphilic carbon dots. *Chemical Communications*. 2014. Vol. 50, № 71. P. 10299–10302.
2. Kong B. et al. // Carbon dot-based inorganic-organic nanosystem for two-photon imaging and biosensing of pH variation in living cells and tissues. *Advanced Materials*. 2012. Vol. 24, № 43. P. 5844–5848.
3. Xie S. et al. // Remarkable photoelectrochemical performance of carbon dots sensitized TiO₂ under visible light irradiation. *J Mater Chem A Mater. Royal Society of Chemistry*, 2014. Vol. 2, № 39. P. 16365–16368.
4. Chen Y. et al. // A Self-Quenching-Resistant Carbon-Dot Powder with Tunable Solid-State Fluorescence and Construction of Dual-Fluorescence Morphologies for White Light-Emission. *Advanced Materials. Wiley-VCH Verlag*, 2016. Vol. 28, № 2. P. 312–318.
5. Zhu S. et al. // The photoluminescence mechanism in carbon dots (graphene quantum dots, carbon nanodots, and polymer dots): current state and future perspective. *Nano Research. Tsinghua University*, 2015. Vol. 8, № 2. P. 355–381.
6. Song S.Y. et al. // Deep-Ultraviolet Emissive Carbon Nanodots. *Nano Lett. American Chemical Society*, 2019. Vol. 19, № 8. P. 5553–5561.
7. Tang L. et al. // Deep ultraviolet photoluminescence of water-soluble self-passivated graphene quantum dots. *ACS Nano*. 2012. Vol. 6, № 6. P. 5102–5110.
8. Zhu C. et al. // Deep ultraviolet emission photoluminescence and high luminescence efficiency of ferric passivated graphene quantum dots: Strong negative inductive effect of Fe. *Synth Met. Elsevier Ltd*, 2015. Vol. 209. P. 468–472.
9. Gan Z. et al. // Ultraviolet Photoluminescence of Carbon Nanospheres and its Surface Plasmon-Induced Enhancement. *Small. Wiley-VCH Verlag*, 2018. Vol. 14, № 16.

ОЧИСТКА ХОЛСТА ОТ КЛЕЕВОГО ГРУНТА МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ АБЛЯЦИИ: АНАЛИЗ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ОЧИЩЕННОЙ ПОВЕРХНОСТИ

А.В. Гусенков¹, А.Н. Костров², В.А. Надточенко^{1,2}

*¹Московский физико-технический институт
(национальный исследовательский университет)*

²Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН (ФИЦ ХФ РАН)

Использование лазерных технологий, как высокоточного инструмента для очистки объектов культурного наследия, приобретает все больший интерес со стороны реставраторов [1-2]. Лазерные методы предоставляют более точный и предсказуемый способ очистки объектов искусства, чем привычные механические методы. Но из-за чувствительности к свету компонентов живописи, пигментов, связующих веществ, лаков и основ требуются тщательные исследования влияния используемых характеристик лазерного излучения на эти материалы. Для обеспечения безопасной стратегии лазерной очистки в работе рассматривается использование эксимерного лазера на ArF.

В данной работе представлен метод лазерной очистки тканной основы холста от клея животного происхождения на основе ArF-лазера с длиной волны 193 нм и диаметром лазерного луча 0,9 мм. Выбор рабочих параметров лазерного излучения для достижения желаемого результата, которым является постепенное удаление клеевого слоя без повреждения структуры холста, проходил при тщательном исследовании влияния следующих параметров: плотности потока энергии и времени облучения (рис. 1).



Рис. 1. Фотография образца холста и различных зон облучения: 1) время обработки 100 с; 2) время обработки 80 с; 3) время обработки 35 с; 4) время обработки 44 с.

Эффективность лазерной обработки контролировалась с помощью ИК спектроскопии и рамановской спектроскопии. На (рис. 2) приведены ИК спектры, снятые с разных точек. Здесь сравниваются необработанная поверхность холста и области, обработанные лазером. Так для холста, покрытого слоем клея наиболее интенсивны белковые полосы Amide-I (1636 см^{-1}) и Amide-II (1540 см^{-1}). Для очищенных пятен наблюдается падение интенсивности белковых пиков и увеличение интенсивности характерных пиков целлюлозы ($1000\text{-}1100 \text{ см}^{-1}$). И видно, что под воздействием лазера с увеличением времени экспозиции все сильнее проявляются целлюлозные полосы, а интенсивность белковых полос сильно ослабевает. И в случае потемневших пятен вклад белков не то, чтобы совсем исчезает, но больше размывается.

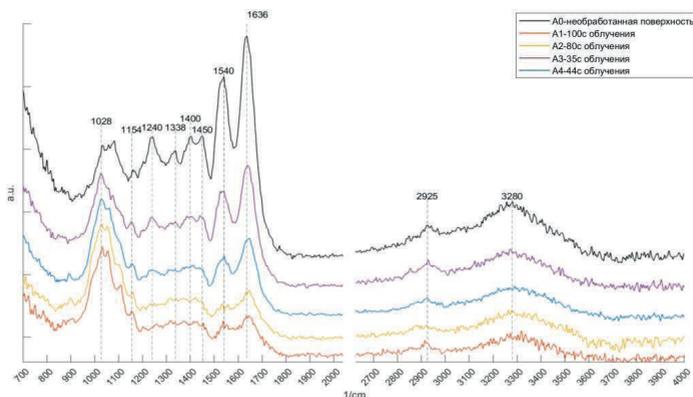


Рис. 2. ИК спектры, снятые в режиме неполного внутреннего отражения с точек (A0, A1, A2, A3, A4).

Рамановская спектроскопия в дополнение к ИК-спектроскопии наглядно показывает структуру полисахаридов (в нашем случае целлюлозы). Рамановские спектры были сняты с необработанной поверхности холста и с областей, подвергнутых лазерной обработке (рис. 3). После обработки

поверхности холста лазером для очищенного пятна наблюдается появление характерной полосы целлюлозы, связанной с гликозидной связью (1095 см^{-1}), для потемневшего пятна обнаруживаются характерные D и G полосы, связанные с разного рода графитовыми соединениями. На основании вышесказанного можно утверждать, что в случаях с правильно подобранными рабочими условиями лазера наблюдается уменьшение вклада от клея в рамановский спектр, то есть клей испаряется и улетает. А для вариантов с потемневшими пятнами происходит карбонизация материала.

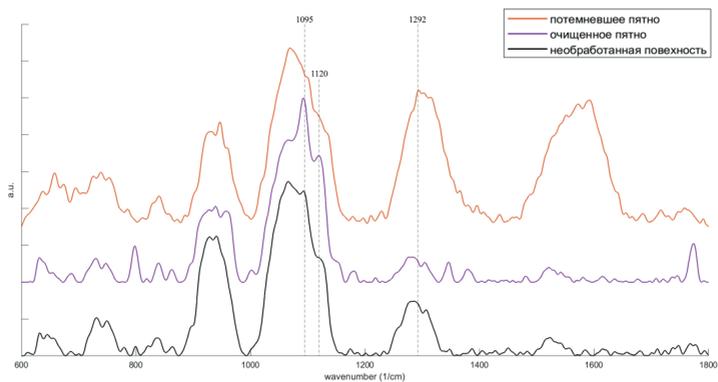


Рис. 3. Рамановские спектры для потемневшего пятна, очищенного пятна, образца необработанной поверхности.

В результате были подобраны рабочие условия лазера, при которых происходило удаление клея с поверхности холста без повреждения самой поверхности холста. С помощью спектральных методов анализа показаны изменения, происходящие с материалом после очистки. Проведены оценка температур, расчеты абляции, объяснения процессов, происходящих в слое клея, подвергаемого облучению лазером.

Работа была выполнена совместно с Третьяковской галереей.

Литература

1. Paraskevi P., Irina-Alexandra P., Giannis B., Savas G., Costas F. The potential of UV femtosecond laser ablation for varnish removal in the restoration of painted works of art // *Applied Surface Science*. 2008. V. 254. P. 6875-6879.
2. Siano, S., Salimbeni R. Advances in laser cleaning of artwork and objects of historical interest: the optimized pulse duration approach // *Accounts of chemical research*. 2019. V. 43. P. 739-750.

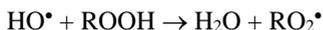
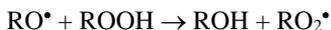
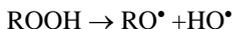
СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КАТАЛИЗАТОРЫ ГЕНЕРИРОВАНИЯ РАДИКАЛОВ НА ОСНОВЕ QAC

Потапова Н.В., Касаикина О.Т., Плащина И.Г., Ольхов А.А.

*Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, ул. Косыгина, 4, корп. 1, Москва, 119991, Россия
e-mail: pot.natalia2010@yandex.ru

Производные холина (Ch) ацетилхолин (ACh) и L-карнитин (LCh), содержащие катион тетраалкиламмония $(\text{CH}_3)_3\text{RN}^+$, можно отнести к большому классу четвертичных аммониевых соединений (QAC), катионных биоцидов с широким спектром антимикробной активности [1]. Ацетилхолин является важнейшим нейромедиатором и участником иммунного ответа, который синтезируется в Т-клетках [2]. Холин является предшественником ацетилхолина и отвечает за нейропластичность нервной системы. L-карнитин участвует в метаболизме аминокислот и стабилизирует клеточные мембраны.

В работах [3-7] на примере катионных поверхностно-активных веществ (кПАВ) было показано, что QAC в сочетании с гидропероксидами (ROOH) инициируют процессы окисления и полимеризации. ПАВ образуют с ROOH смешанные микроагрегаты - мицеллы. В смешанных мицеллах ROOH с катионными ПАВ пероксидная связь локализуется и ориентируется в сильном электрическом поле двойного электрического слоя напряженностью $\sim 10^5\text{-}10^7$ В/м, которое ослабляет эту связь и облегчает ее гомолитический распад с последующим образованием в обменных реакциях воды и спирта и выходом пероксильных радикалов RO_2^\bullet из мицеллы в объем:



Производные холина, включающие четвертичный аммониевый катион, играют важную роль в живых организмах и являются основой для многих лекарственных препаратов. В работах [8-11] показано, что ацетилхолин, как и

кПАВ, при диспергировании в углеводородной среде совместно с ROOH образует микроагрегаты ACh-ROOH в которых наблюдается ускоренный распад ROOH.

В данной работе исследовано влияние структурных факторов (катион-π взаимодействие с ароматическими соединениями, добавки холестерина) на генерирование радикалов в системах эндогенных QAC – ацетилхолина, холина и L-карнитина в сочетании с ROOH, изучена возможность использования холина и его производных, иммобилизованных на твердых носителях, в качестве гетерогенных катализаторов гомолитического распада ROOH, как химической основы бактерицидных эффектов и для инициирования процессов полимеризации и окисления.

Материалы и методы

Ацетилхолин хлорид (ACh), гидропероксид кумила (ГПК), гидропероксид третбутила (ГПТБ) и кверцетин (Q) (все Fluka), хлороформ, декан и хлорбензол (Sigma-Aldrich) использовали без дополнительной очистки. Исследовали взаимодействие ACh с полимерами полилактидом (ПЛА) (SONGHAN Plastics Technology Co., Ltd.), поликапролактоном (ПКЛ) и полигидроксибутиратом (ПГБ), серии 16F, “BIOMER®” (Германия). При этом ПЛА и ПКЛ были взяты в виде нетканого материала из ультратонких волокон, полученных методом электроформования из раствора. Полигидроксибутират плохо растворяется в органических растворителях, поэтому из ПГБ была получена пленка из расплава, которую затем растворили в хлороформе.

Растворы гидропероксида кумила (ГПК) и гидропероксида третбутила (ГПТБ) (20 мМ) готовили в различных растворителях, концентрацию гидропероксидов определяли методом йодометрического титрования. Раствор ACh, (10^{-2} М) готовили в смеси хлороформ:метанол (2:1).

Средний эффективный гидродинамический размер и дзета-потенциал микроагрегатов ПЛА, ПГБ и ПКЛ и их смесей с ACh в хлороформе определяли методом динамического светорассеяния (ДСР) с помощью анализатора Zetasizer NanoZS (“Malvern Instruments”, Великобритания), оснащенном 4 мВт

He–Ne-лазером с длиной волны 633 нм. Измерения выполняли при 25°C и постоянном угле рассеяния 173°.

Скорость образования радикалов в реакциях распада ГПК и ГПТБ в смешанных агрегатах с кПАВ, биополимерами и ACh определяли методом ингибиторов с использованием в качестве акцептора радикалов кверцетина (Q) в хлорбензоле и β-каротина в декане, концентрацию которых в ходе реакции контролировали спектрофотометрически. Реакцию проводили непосредственно в термостатируемой кварцевой кювете (1 см) спектрофотометра СФ-2000 при 37 или 22°C. Погрешность определения скорости генерирования радикалов не превышает 15%.

Результаты и обсуждение

Определение скоростей генерирования радикалов (W_i) методом ингибиторов по кинетике расходования кверцетина показало, что при одинаковых начальных концентрациях всех реагентов W_i уменьшается в ряду: ACh > Ch >> LCh. ACh и Ch каталитически ускоряют распад ROOH на радикалы в среде хлорбензола с скоростями порядка 10^{-9} М/с, в то время как LCh практически не влияет на распад ROOH [9].

В работах [12-14] экспериментально и теоретически исследовали энергию связывания катионов тетраалкиламмония $(CH_3)_3RN^+$ с модельными соединениями и биологическими сайтами и выявили явление катион-π взаимодействия с ароматическими фрагментами и повторяющийся в структурной биологии мотив, который получил название "ароматическая коробка" ("aromatic box"). Для выяснения влияния катион-π взаимодействия на формирование микроагрегатов и генерирование радикалов мы сопоставили размеры микроагрегатов и W_i в разных растворителях хлорбензоле и н-декане и для гидропероксида третбутила (ГПТБ) и гидропероксида кумила (ГПК), в молекуле которого есть ароматическое кольцо.

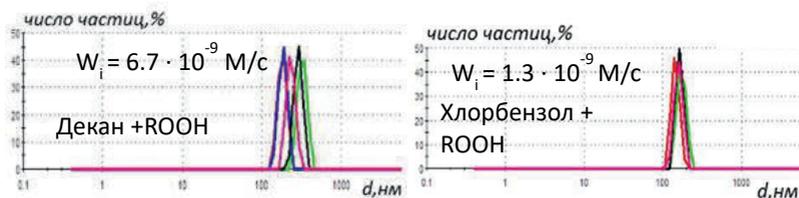


Рис.1 Распределение по размерам частиц, образующихся при диспергировании 1 мМ АСh в смеси с 20 мМ ГПТБ в среде н-декана и хлорбензола в течение часа в день приготовления. Кривые разного цвета получены в повторных параллельных измерениях (~10 мин) и отражают динамический и неустойчивый характер образующихся микроагрегатов.

Из рис.1 видно, что при смешении реагентов в хлорбензоле размеры микроагрегатов меньше, устанавливаются быстрее. Однако $W_i = 1.3 \cdot 10^{-9}$ М/с в хлорбензоле в разы меньше, чем в н-декане ($W_i = 6.7 \cdot 10^{-9}$ М/с).

Таблица 1. Скорости образования радикалов при распаде 20 мМ ГПК и ГПТБ с добавками 1мМ АСh в декане после смешения и через неделю, 37°С

Время после смешения	$W_i, 10^{-9}$ моль/(л·с) ГПК	$W_i, 10^{-9}$ моль/(л·с) ГПТБ
В декане		
Несколько часов	7.9	6.7
Через неделю	5.9	12.1

Из Табл.1 видно, что в среде н-декана W_i изменяется с течением времени, при этом в случае ГПТБ W_i увеличивается, а с ГПК, включающем ароматическое кольцо, W_i – уменьшается. Это может означать, что микроагрегаты АСh с ГПК быстрее образуются, но со временем структура релаксирует, приходит под влиянием катион-π взаимодействия к относительному термодинамическому равновесию, которое нарушает ориентацию гидропероксида в микроагрегате, благоприятствующую гомолитическому распаду -О-О-связи.

Таким образом, ароматические фрагменты в хлорбензоле и в гидропероксиде кумила способствуют образованию микроагрегатов ACh с ROOH, но нарушают ориентацию, оптимальную для радикального распада гидропероксида.

Таблица 2. Влияние 0,5 мМ холестерина (Chol) на скорость инициирования радикалов в смесях катионных ПАВ и ACh с гидропероксидами

Система	$W_i, 10^{-8}$ моль/л *с	W_i^* , с добавлением 0,5 мМ Chol, 10^{-8} моль/л* с	W_i^*/W_i
1,5 мМ СРВ - 20 мМ ГПТБ, хлорбензол, 28°C	2.2	1.20	0.56
1,5 мМ СРВ - 20 мМ ГПК, хлорбензол, 28°C	1.8	0.15	0.08
1,5 мМ СТАВ - 20 мМ ГПТБ, хлорбензол, 28°C	2.2	0.53	0.24
1,5 мМ СТАВ - 20 мМ ГПК, хлорбензол, 28°C	1.5	0.17	0.11
1,0 мМ ACh - 10 мМ ГПТБ, н-декан, 37°C	0.13	0.51	3.90

Холестерин (Chol), природный полициклический липофильный спирт, содержится в клеточных мембранах практически всех живых организмов и обеспечивает их стабильность. В большинстве работ при формировании ниосом и везикул вводят ~30% Chol, что соответствует содержанию Chol в природных мембранах [15,16]. Из таблицы 2 видно, что скорости инициирования при добавках Chol в случае микроагрегатов ACh - ROOH, увеличиваются, что, возможно, связано с упорядочивающим действием Chol, которое проявляется в уменьшении размеров микроагрегатов на 20%. Также стоит отметить разнонаправленное влияние Chol на системы кПАВ-ROOH и ACh-ROOH: в системах кПАВ- ROOH Chol нарушает ориентацию ROOH в поле двойного электрического слоя кПАВ, что проявляется в снижении скоростей инициирования.

Системы производное холина - ROOH, адсорбированные на поверхности микрокристаллической целлюлозы, успешно показали себя в качестве гетерогенных катализаторов радикального распада в процессе радикальной полимеризации стирола, что открывает возможности для создания новых композитных материалов медицинского назначения. Стоит отметить, что LCh лучше адсорбируется на целлюлозе, но не влияет на скорость радикальной полимеризации стирола, что объясняется его строением, отсутствием противоионов и, вероятно, иным по сравнению с Ch и ACh механизмом адсорбции [9].

Создание биополимеров с включением биологически активных соединений расширяет возможности их применения в регенеративной медицине и доставке лекарств. Были исследованы сочетания ацетилхолина с природными биоразлагаемыми полимерами - полилактидом (ПЛА), полигидроксibuтиратом (ПГБ) и полилактидом (ПКЛ).

Таблица 3. Влияние ACh (1мМ) на средний размер и дзета-потенциал микроагрегатов ПЛА, ПГБ и ПКЛ, образующихся в растворе хлороформа (10 г/л), а также на (W_i) - скорость генерирования радикалов

Система	ПЛА -[72]n,	ПЛА +ACh	ПГБ -[86]n	ПГБ +ACh	ПКЛ -[114]n	ПКЛ +ACh
г, нм	110	90	500	150	120	55
Отношение размеров	1.5		3.3		2.2	
Дзета- потенциал, мВ	+18.2	+2.2	+3.3	+0.4	+3.2	+3.1
Отношение дзета- потенциалов	8.30		8.25		1.03	
$W_i \cdot 10^8$ М/с	1.80	2.55	1.40	6.90	2.30	4.40
$W_{i\Sigma}/(\Sigma W_i)^*$;		1.25		4.2		1.73
Брутто-концентрация карбонильных групп, моль/л	0.14		0.12		0.088	

- ($W_{i\Sigma}$) - скорость иницирования в системе ГПК– ACh – биополимер, (ΣW_i) - сумма скоростей иницирования индивидуальными биополимерами и при участии ACh, $W_{iACh} = 0,24 \cdot 10^{-8}$ М/с.

Полимеры растворяются в хлороформе с образованием наноагрегатов. Размерные характеристики, полученные методом ДСР (Табл.3), показывают, что добавление 1 мМ АСh к растворам полимеров приводит к уменьшению размеров частиц: размеры ПЛА уменьшаются в 1,5 раза, в случае ПГБ в 3,3, а ПКЛ уменьшаются в 2,2 раза. Дзета-потенциал для всех систем в хлороформе имеет положительный заряд и в разы уменьшается при добавке 1мМ АСh (особенно для ПЛА и ПГБ), что свидетельствует о взаимодействии полимеров с АСh. Скорости генерирования радикалов при взаимодействии 20 мМ ГПК с биополимерами и их смесей с АСh оценивали методом ингибиторов по расходованию кверцетина. Установлено, что в растворах индивидуальные полимеры ПЛА, ПГБ и ПКЛ ускоряют радикальный распад ROON. При комнатной температуре скорость генерирования радикалов в 1%-х растворах полимеров с 20мМ ГПК составляет $\sim 2 \cdot 10^{-8}$ м/с. В сочетании с 1мМ АСh наблюдаются более высокие скорости инициирования радикалов, т.е. имеет место синергический эффект. Взаимодействие АСh с ПЛА, ПГБ и ПКЛ открывает перспективы для создания биополимерных волокнистых материалов, включающих АСh, с новыми свойствами, которые могут использоваться в биомедицине.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №20-03-00753 и в рамках государственного задания ФАНО России 122040500074-1.

Список литературы

1. Paulson D.S. // American Chemical Society: Washington, DC, USA, 2007. V. 967. P. 124.
2. Cox M. A., Bassi C., Saunders M. E., Nechanitzky R., Morgado-Palacin I., Zheng C. & Mak T. W. // Journal of Internal Medicine. 2020. V. 287. P. 120–133. doi: 10.1111/joim.13006
3. Трунова Н.А., Карташева З.С., Максимова Т.В., Богданова Ю.П., Касаикина О.Т. // Кол. Жур. 2007. Т.69. С.697.
4. Касаикина О.Т., Карташева З.С., Писаренко Л.М.// Ж. Общ. Хим., 2008. Т. 78. № 8. С. 1298.
5. Круговов Д.А., Писаренко Л.М., Кондратович В.Г., Щеголихин А.Н., Касаикина О.Т. // Нефтехимия. 2009. №2. С. 216.
6. Писаренко Л.М., Касаикина О.Т. // Изв. РАН Сер.хим. 2002. №3. С.419.
7. Касаикина О.Т., Потапова Н. В., Круговов Д. А., Писаренко Л. М. // Кинетика и катализ, 2017, Т. 58, № 5. С. 556

8. Касаикина О.Т., Потапова Н. В., Круговов Д. А., Писаренко Л. М. // Кинетика и катализ, 2017, Т. 58, № 5. С. 556
9. Потапова Н. В., Касаикина О. Т. и др. //Кинетика и катализ, 2023, том 64, № 1, с. 1–8 DOI: 10.31857/S0453881123010057
10. Круговов Д.А., Менгеле Е.А Касаикина О.Т // Изв. АН, Сер. хим. 2014, №8, 1837.
11. Н.В.Потапова, О.Т. Касаикина, М.П.Березин, //Кинетика и катализ 2020. Т.61. №5. С. 700.
12. Van Arnam E. B., Dougherty D. A. //J. Med. Chem. 2014. V.57, P. 6289.
13. Davis M.R., Dougherty D.A. // Phys.Chem. 2015. V.17. P.29262
14. Dougherty D. A.//Acc. Chem. Res., 2013. V.46. P.885.
15. K. Manpreet, K. Sandeep, // Ind.-Am. J. Pharm. Sci., 2018, 5, 3417.
16. G. Giacometti, M. Marini, K. Papadopoulos, C. Ferreri, C. Chatgialiloglu, // Molecules, 2017, 22, 2082.

РОЛЬ ИНТЕРМЕДИАТОВ В РЕАКЦИИ ГЛУТАТИОНА С ПЕРОКСИДОМ ВОДОРОДА

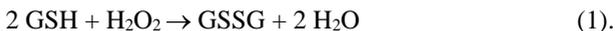
**К.М. Зинатуллина¹, А.В. Орехова¹, О.Т. Касакина¹, Н.П. Храмеева²,
Будник М.И.¹, Борисов Ю.А.³**

*1 ФГБУН Федеральный исследовательский центр химической физики
им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, e-mail: karinazinat11@gmail.com*

2 ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН

*3 ФГБУН Институт элементоорганических соединений им. А. Н.
Несмеянова РАН*

Тиоловый трипептид глутатион (GSH) – наиболее известный биоантиоксидант, присутствующий в миллимольной концентрации в клетках и межклеточной среде всех живых организмов. Как и все биомолекулы, содержащие сульфгидрильную группу (–SH), GSH проявляет активность и многофункциональность: участвует в передаче клеточных сигналов в паре с H₂O₂ [1–3], антиоксидантной защите, комплексообразовании с металлами и регулировании структуры белков. Влияние на функциональное состояние белка и его структуру осуществляется внутримолекулярными дисульфидами, которые образуются в результате окисления цистеиновых фрагментов, а восстановление этих сшивок осуществляется глутатионом в реакциях тиол-дисульфидного обмена [4]. Ввиду низкой рКа тиольной группы глутатиона (8.83[5]; 9,2 [6]) и биодоступности редокс пара GSH/GSSG считается показателем окислительно-восстановительного статуса клетки. В живых организмах GSH активно взаимодействует с радикалами и восстанавливает гидропероксиды при участии ферментов глутатион-пероксидаз. Непосредственное взаимодействие GSH и H₂O₂ протекает, как правило, стехиометрически [7–9]:



При физиологическом pH (7,2-7,4) реакция (1) происходит по механизму кислотно-катализируемой нуклеофильной атаки (S_{N2}) [10-12] тиолат-аниона глутатиона (GS⁻) на пероксидную связь H₂O₂ [13]. Обычно для исследования

биологических реакций используют фосфатные буферы, в частности, изотонический фосфатный-солевой буфер PBS. Однако диссоциация карбоксильных групп GSH (рКа 2,5 и 3,7 [6]) приводит к смещению рН не только в деионизированной воде (с 7 до ~ 3,2), но и в фосфатных буферах в зависимости от концентрации реагентов [14]. В области кислых рН взаимодействие GSH с H_2O_2 протекает через стадии образования димеров глутатиона и комплекса GSH с H_2O_2 [9,15], а также сопровождается образованием тиольных радикалов глутатиона [16,17]. Скорость образования радикалов в этой реакции невелика, ~ 1% от скорости расходования GSH [17], но образующиеся тиольные радикалы могут инициировать тиол-ен реакции с ненасыщенными соединениями, например, с кофейной кислотой и ресвератролом (RVT) [17–19].

В данной работе представлена экспериментальная и теоретическая оценка природы и роли интермедиатов в механизме взаимодействия глутатиона с пероксидом водорода при разных рН.

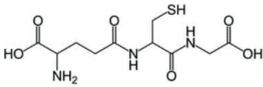
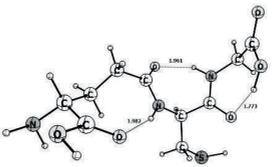
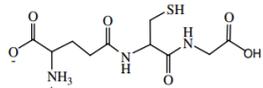
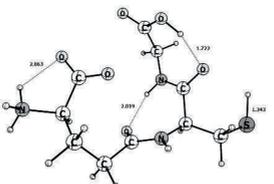
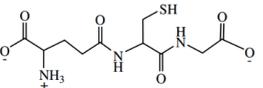
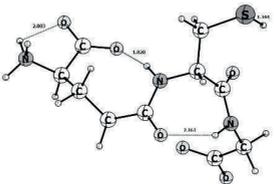
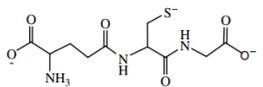
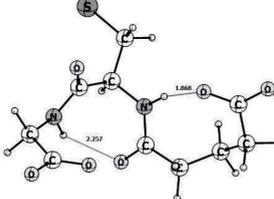
Экспериментальная часть

DFT расчеты изученных соединений выполнены методом DFT wb97xd/6-311+G*. Метод DFT wb97xd [20] учитывает энергии ванн-дер-Ваальсовских взаимодействий. Все расчеты с полной оптимизацией геометрии молекул и вычислением частот нормальных колебаний при 298K и 1 атм проводились с использованием программы GAUSSIAN-09 [21] под операционной системой LINUX. При появлении мнимых частот нормальных колебаний оптимизацию повторяли. Наличие оптимизированных структур соединений подтверждено отсутствием мнимых частот в колебательных спектрах. Для учета влияния растворителя (воды) использована континуальная модель SMD, описанная в работе [22].

Обсуждение результатов

Глутатион - многоосновная кислота, которая диссоциирует в водных средах. Большая часть молекул глутатиона в растворе находится в цвитер-ионной форме, гораздо меньше - диссоциируют по второй ступени с отрывом

Таблица 1. Интермедиаты глутатиона при разных pH. DFT расчеты.

Структурная формула	Расчетная модель	S-H, Å	H-связи, Å
		1,343	-NH...O=C 1,961; -NH...O=C 1,982; C=O...O=C 1,773.
Глутатион (GSH), газовая фаза			
		1,343	-OH...O=C- 1,722; -H2N- H...O=C- 2,063; -C=O...H-N- 2,019.
pKa1 = 2,5, цвитер-ионная форма			
		1,344	-C=O...H-N- 1,820; -H2N- H...O=C- 2,003; -C=O...H-N- 2,161;
pKa2 = 3,7			
		—	-N-H...O=C- 1,868; -N-H...O=C- 2,257; -H2N- H...O=C- 2,017.
pKa3 = 9,2, тиолат-анион (GS ⁻)			

протона от карбоксильной группы остатка глицина. Содержание глутатиона в тиолатной форме (GS^-) при pH 7,4 составляет 3,7% [5]. Расчетные модели этих интермедиатов и длины связей в молекуле представлены в таблице 1. Видно, что несмотря на изменение скелета молекулы GSH длина связи S-H практически не меняется. Это согласуется с данными работы [23], в которой показано, что тепловыделение в стехиометрических (реакция 1) смесях H_2O_2 с GSH и ацетилцистеином, а также скорость тепловыделения практически совпадают.

Водный раствор GSH в зависимости от концентрации имеет pH в диапазоне 3,0-3,5. В кислой среде, согласно расчетам, GSH полностью находится в цвиттер-ионной форме и за счет водородных связей и ван-дер-Ваальсовских взаимодействий между двумя молекулами GSH происходит их димеризация (рис.1). Образование димеров глутатиона $[GSH...GSH]$ проявляется в концентрационной зависимости расходования GSH в реакции с H_2O_2 и экспериментально зафиксировано масс-спектрометрически [9,15]. В (табл.2) показано, что димеризация GSH энергетически более выгодна, чем образование комплекса $[GSH...H_2O_2]$ (рис.1), который описан в литературе [15].

Таблица 2. Энтальпии образования комплексов глутатиона

Реакция	Энтальпия, ккал/моль
$GSH + GSH \leftrightarrow [GSH...GSH]$	- 26.21
$GSH + H_2O_2 \leftrightarrow [GSH...H_2O_2]$	- 6.74
$[GSH...GSH] + [GSH...GSH] \leftrightarrow [GSH]_4$	- 2.17

В работе [19] представлена кинетическая модель реакции глутатиона с пероксидом водорода в водной среде, согласно которой тиольные радикалы (GS^*) глутатиона образуются преимущественно в реакции димеров $[GSH...GSH]$ с H_2O_2 и инициируют тиол-ен реакцию с ресвератролом:





где P^* – алкильный радикал, продукт присоединения GS^* к ненасыщенной связи ресвератрола (RVT), PO_2H – соответствующий гидропероксид. Рассчитанные структуры этих продуктов представлены в таблице 3.

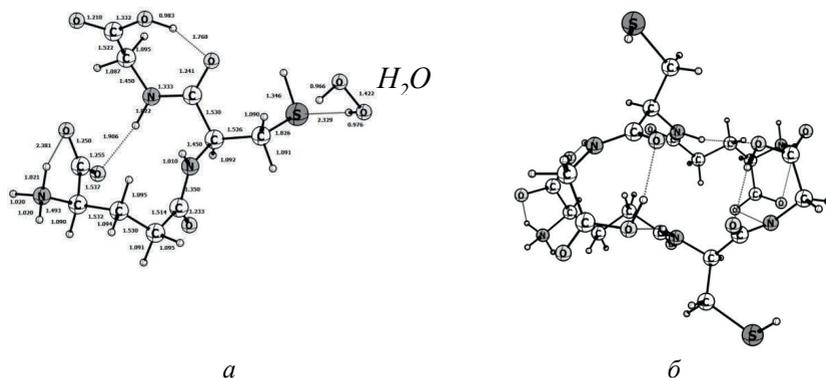


Рис.1. Рассчитанные методом DFT структуры комплексов: а) глутатиона с пероксидом водорода [GSH...H₂O₂]; б) димера глутатиона [GSH...GSH].

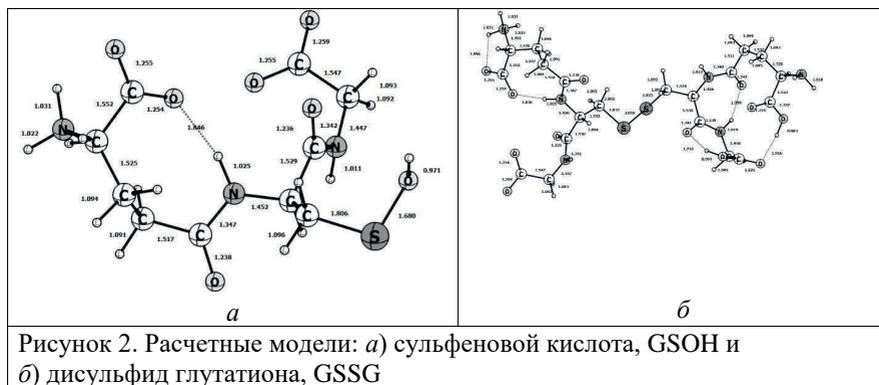


Рисунок 2. Расчетные модели: а) сульфеновой кислоты, GSOH и б) дисульфид глутатиона, GSSG

При pH 7,4 реакция глутатиона с пероксидом водорода представляет собой двухступенчатое нуклеофильное замещение с промежуточным образованием лабильной сульфеновой кислоты (GSOH) [13] (табл.4, рис. 2а). Лимитирующей стадией является реакция тиолат-аниона глутатиона (GS^-) с H_2O_2 , за которой следует реакция GSOH с GSH и образование дисульфида.

Таблица 3. Рассчитанные методом DFT структуры продуктов тиол-ен реакции ресвератрола с глутатионом, инициированной H₂O₂.

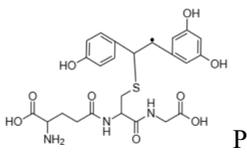
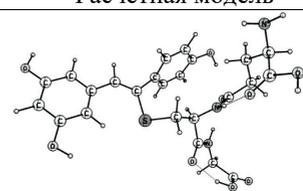
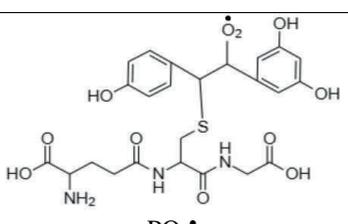
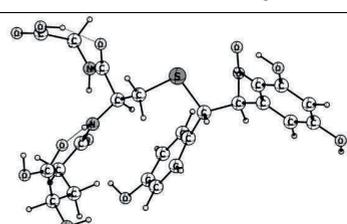
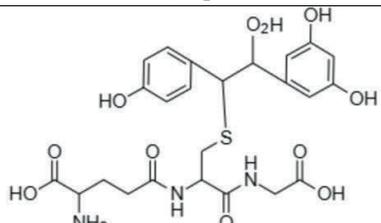
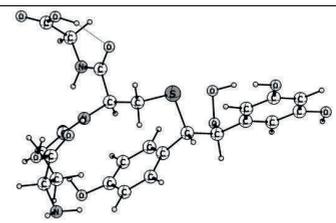
Структурная формула	Расчетная модель
 <p style="text-align: center;">P•</p>	 <p style="text-align: right;">P•</p>
 <p style="text-align: center;">PO₂•</p>	 <p style="text-align: right;">PO₂•</p>
 <p style="text-align: center;">PO₂H</p>	 <p style="text-align: center;">PO₂H</p>

Таблица 4. Энтальпии образования комплексов глутатиона.

Реакция	Энтальпия, ккал/моль
$\text{GSH} + \text{OH}^- \rightarrow \text{GS}^- + \text{H}_2\text{O}$	-35,09
$\text{GS}^- + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{GSOH} + \text{OH}^- (k^*)$	-13,56
$\text{GSOH} + \text{GSH} \rightarrow \text{GSSG} + \text{H}_2\text{O}$	-17,15

Представленные расчетные данные хорошо описывают экспериментальные данные. Для промежуточных стадий в реакции глутатиона с пероксидом водорода в водной среде и при pH > 7 получены новые термодинамические характеристики, а также построены теоретические модели интермедиатов глутатиона в этой реакции.

Работа выполнена в рамках государственного задания №122040500074-1 и при частичной поддержке гранта РФФИ №20-03-00753

Литература

1. I. Mironczuk-Chodakowska, A.M. Witkowska // *Advances in Medical Sciences*, 2018, 63, 68.
2. A.J.Sporer, L.J.Kahl, A.Price-Whelan, L.E.P. Dietrich // *Annu. Rev. Biochem.* 2017, 86, 777.
3. J. Hartl, P. Kiefer, A. Kaczmarczyk, et al. // *Nat Metab*, 2020, 2, 153. <https://doi.org/10.1038/s42255-019-0166-0>.
4. M.C. Yi, A.V. Melkonian, J.A. Ousey, C. Khosla // *J. Biol. Chem.* 2018, 293, 2640. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA117.001382>
5. G. Aldini, A. Altomare, G. Baron, G. Vistoli, M. Carini, L. Borsani, F. Sergio // *Free Radical Research*. 2018, 7 (52), 751. DOI:10.1080/10715762.2018.1468564.
6. T.N.Huckerby, A.J. Tudor, J.G. Dawber // *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, 1985, 6, 759.
7. J.M. Estrela, A.Ortega, E.Obrador // *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 2006, 43 (2), 143. DOI: 10.1080/10408360500523878.
8. Y. Chen, M. Han, A. Matsumoto, Y. Wang, D. C. Thompson, V. Vasiliou // *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2018, 1032, 37.
9. К.М. Зинатуллина, О.Т. Касаикина, В.А. Кузьмин, Н.П. Храмеева // *Кинетика и Катализ*, 2019, 60 (3), 281.
10. C. C. Winterbourn, D. Metodiewa // *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, 27(3–4), 322.
11. F. Y.-C. Chin, P. K. Lim // *Chemical Engineering Science.*, 1989, 44 (4), 883.
12. J. P. Barton, J. E. Packer, R. J. Sims // *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1973, 11, 1547.
13. D. Luo, S. W. Smith, V. D. Anderson // *J. Pharm. Sci.*, 2005, 94(2), 304.
14. К.М. Зинатуллина, О.Т. Касаикина, В.А. Кузьмин, Н.П. Храмеева, Л.М. Писаренко // *Известия Академии наук. Серия химическая*, 2019, 7, 1441.
15. Z. Abedinzadeh, M. Gardes-Albert, C. Ferradini. *Can. J. Chem.* 1989, 67, 1247.
16. К.М. Зинатуллина, О.Т. Касаикина, М.В. Мотякин, Е.Н. Дегтярев, Н.П. Храмеева // *Известия Академии наук. Серия химическая*, 2020, № 10, стр.1865.
17. К.М. Зинатуллина, Н.П. Храмеева, О.Т. Касаикина, Б.И. Шапиро, В.А. Кузьмин // *Известия Академии наук. Серия химическая*, 2017, 11, 2145.
18. К.М. Zinatullina, N.P. Khrameeva, O.T. Kasaikina, *Bulg. Chem. Comm.* 2018, 50 Special Issue C., P.25.
19. К.М. Зинатуллина, О.Т. Касаикина, Н.П. Храмеева, М.И. Индейкина, А.С. Кононихин // *Кинетика и Катализ* 2021, 62(2), 198.

20. J.D. Chai, M. Head-Gordon // *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2008, 44, 6615-6620. DOI: 10.1039/B810189B
21. Gaussian 09, Revision A.02, Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B. G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. Marenich, J. Bloino, B.G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H.P. Hratchian, J.V. Ortiz, A.F. Izmaylov, J.L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V.G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J.A. Montgomery, Jr., J.E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J.J. Heyd, E. Brothers, K.N. Kudin, V.N. Staroverov, T. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J.C. Burant, S.S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J.M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J.W. Ochterski, R.L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J.B. Foresman, D.J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016
22. A. V. Marenich, C. J. Cramer, and D. G. Truhlar // *J. Phys. Chem. B.* 2009, 113, 6378
23. К.М. Зинатуллина, А.В. Орехова, О.Т. Касаикина¹, Н.П. Храмеева, М.П.Березин, И.Ф.Русина // *Изв. АН Сер.Хим.* 2021. 70(10): 1934—1938.

ОСОБЕННОСТИ МЕХАНИЗМА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ИОДИДА АЦЕТИЛХОЛИНА С ПЕРОКСИДОМ ВОДОРОДА

Егорова Ю.Н.^{1,2}, Мотякин М.В.¹, Кондратович В.Г.¹, Касаикина О.Т.¹

¹ *ФГБУН Федеральный исследовательский центр химической физики
им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва, e-mail: egorova.mipt@gmail.com*

² *Московский физико-технический институт
(национальный исследовательский университет)*

Четвертичные аммониевые соединения (QAC) относятся к известному классу катионных биоцидов с широким спектром антимикробной активности [1-3]. QAC используются в качестве основных компонентов в поверхностно-активных веществах (ПАВ), средствах личной гигиены, косметике, многих красителях, антисептиках и дезинфицирующих средствах. На примере ряда катионных ПАВ было установлено, что QAC ускоряют окисление углеводов и липидов. Ключевой реакцией, отвечающей за ускорение, является каталитический распад гидропероксидов (ROOH), первичных продуктов окисления, на радикалы, в смешанных обращенных мицеллах ROOH-QAC, что может быть одним из механизмов их бактерицидного действия в условиях окислительного стресса [4].

Производные холина (Ch), включающие четвертичный аммониевый катион R_4N^+ , можно отнести к эндогенным QAC. Ацетилхолин (ACh) является ключевым нейромедиатором в центральной и периферической нервной системах и играет решающую роль в обучении, памяти, вегетативном контроле и мышечных сокращениях [5, 6]. Известно, что ACh синтезируется и функционирует не только в нейрональной системе, но принимает участие и в других физиологических и патологических процессах [7]. Способность продуцировать ацетилхолин обнаружена для иммунных Т-клеток, реагирующих на вирусную инфекцию [8,9]. Примечательно, что ацетилхолин в большинстве работ обозначают, как ACh, не указывая, что это четвертичный аммониевый катион R_4N^+ , который в нейтральной среде вне электрического поля требует наличия противоионов.

Ранее в работах [10-12] было показано, что в органической среде хлорид ацетилхолина подобно катионным ПАВ образует с гидропероксидами, включая H_2O_2 , микроагрегаты, в которых каталитически ускоряется радикальный распад гидропероксидов. В воде гигроскопичный AChCl образует истинные растворы и не влияет на распад гидропероксидов.

В живых организмах ацетилхолин функционирует в водной среде, в связи с чем в данной работе изучено влияние ACh с различными противоионами – хлоридом Cl^- и иодидом I^- на распад H_2O_2 в водной среде. Стоит отметить, что хлор и йод относятся к жизненно необходимым элементам, дефицит которых приводит к серьезным нарушениям жизненных процессов.

Cl^- – основной анион внеклеточной жидкости, его концентрация составляет в клетке 3-4 ммоль/л, в межклеточной жидкости (в т. ч. в плазме крови) около 100 ммоль/л. Анионы хлора играют важную роль в сохранении кислотно-щелочного баланса, поддержании нормального осмотического давления.

Йод участвует в функционировании щитовидной железы, обеспечивая образование гормонов тироксина и трийодтиронина, необходимых для процессов роста и развития организма, включая нервно-психическое развитие, обмен белков, жиров [13]. Концентрация йода (I^-) в плазме крови при нормальном поступлении йода в организм составляет порядка 10–15 мкг/л. Ежедневная физиологическая потребность в йоде зависит от возраста и физиологического состояния человека и составляет в среднем 150–250 мкг в сутки. Дефицит йода является доказанным фактором риска нарушения развития плода. Самое тяжелое последствие дефицита йода в перинатальном периоде - это эндемический кретинизм, крайняя степень задержки умственного и физического развития [14].

В работе решали следующие задачи: 1. Методом ингибиторов изучить влияние противоионов I^- и Cl^- на генерирование радикалов при взаимодействии ACh с H_2O_2 в водной среде. 2. Методом ЭПР с

использованием спиновой ловушки DMPO исследовать природу образующихся радикалов. 3. Изучить кинетические особенности взаимодействия AChI с антиоксидантами разной природы (глутатион, фенолы) в присутствии H₂O₂.

Методическая часть

Глутатион (GSH), реактив Элмана, DTNB, (5,5'-дитиобис-(2-нитробензойная кислота), ацетилхолин хлорид (AChCl) и иодид (AChI), глутатион (GSH) «Sigma-Aldrich», пероксид водорода, H₂O₂, «PanReasAppli Chem», транс-ресвератрол (RVT), «abcгGmbH», 5,5-Диметилпирролин-N-оксид (DMPO, «Abscam», UK) использовали без предварительной очистки.

В качестве реакционной среды использовали бидистиллят. Базовый раствор RVT готовили в диметилсульфоксиде, который добавляли к реакционной смеси по 3–15 мкл. Концентрацию H₂O₂ (в отсутствие тиолов) определяли иодометрически. Концентрацию RVT и GSH по методу Элмана определяли спектрофотометрически [15, 16].

Спектры ЭПР X-диапазона спин-аддуктов DMPO с радикалами были записаны на спектрометре Bruker EMX (Германия) в Центре коллективного пользования «Новые материалы и технологии» ИБХФ РАН.

Реакции глутатиона с ресвератролом (RVT) и ацетилхолином проводили непосредственно в термостатируемой кювете спектрофотометра СФ-2000 или в стеклянной термостатируемой ячейке, с перемешиванием магнитной мешалкой

Обсуждение полученных результатов

На рисунках 1 и 2 сопоставлены изменения УФ спектров ресвератрола (RVT) в смесях H₂O₂ с иодидом и хлоридом ацетилхолина в водном растворе. На рис. 3 показано, что в системе KI–H₂O₂–RVT наблюдаются изменения УФ спектров реакционной смеси, подобные представленным на рис.3.1. Измерения во всех опытах проведены с интервалом 1 мин в течение 20 мин при 37°C.

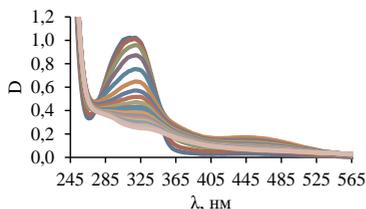


Рис.1. Изменения УФ спектров реакционной смеси, включающей 3 мМ H₂O₂, 2 мМ АСhI и 0.034 мМ RVT. $W_{RVT}=4.80 \cdot 10^{-8}$ М/с

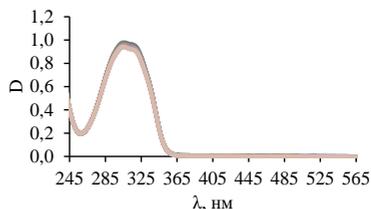


Рис.2. Изменения УФ спектров реакционной смеси, включающей 3 мМ H₂O₂, 2 мМ АСhCl и 0.034 мМ RVT. $W_{RVT}=1.5 \cdot 10^{-9}$ М/с

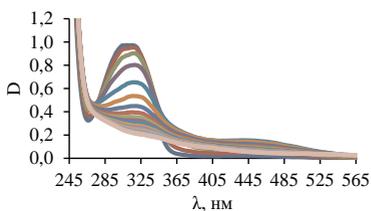


Рис.3. Изменения УФ спектров реакционной смеси, включающей 3 мМ H₂O₂, 2 мМ KI и 0.034 мМ RVT. $W_{RVT}=5.58 \cdot 10^{-8}$ М/с

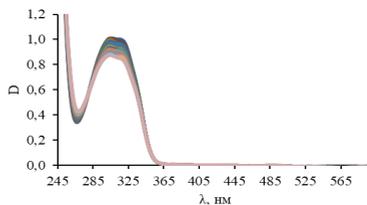


Рис.4. Изменения УФ спектров реакционной смеси, включающей 3 мМ H₂O₂, 2 мМ АСhCl, 0.034 мМ RVT и 5 мМ GSH.

Поскольку RVT является акцептором радикалов разного типа [16], устойчив по отношению к H₂O₂ и KI, взятых по отдельности, наблюдаемые различия в расходе RVT связаны с различной природой радикалов, образующихся при взаимодействии анионов I⁻ и Cl⁻ с H₂O₂.

Для идентификации радикалов в работе использована спиновая ловушка DMPO (5,5-диметилпирролин-N-оксид). В водном растворе, содержащем 20 мМ DMPO, 5 мМ H₂O₂ и 5 мМ АСhI в спектре ЭПР наблюдается образование нитроксильного радикала. Константы СТВ зарегистрированного спинового аддукта, полученные при моделировании спектра, $aN = 14.9$ Гс и $aH = 15.0$ Гс - совпадают с литературными данными для спинового аддукта DMPO с OH-радикалом [15,17]. Реакционная смесь АСhI– H₂O₂ синее при добавлении крахмала, что указывает на образование молекулярного I₂. Появление полос поглощения I₂ (290 и 350 нм) наблюдается и в УФ спектрах этой системы. Кинетическую схему образования радикалов при взаимодействии АСhI с H₂O₂ можно представить следующим образом:

Схема 1

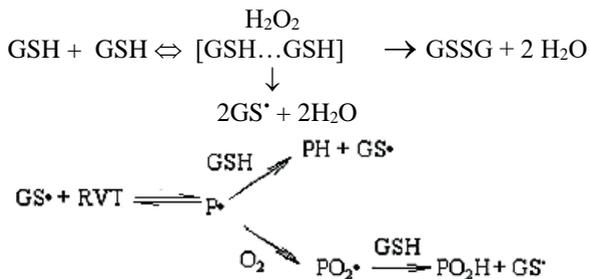
- 1) $\text{H}_2\text{O}_2 + \Gamma \rightarrow \text{HO}^\bullet + \Gamma^\bullet + \text{HO}^-$
- 2) $\text{HO}^\bullet + \text{DMPO} \rightarrow \text{DMPO-OH}^\bullet$
- 3) $\Gamma^\bullet + \Gamma^\bullet \rightarrow \text{I}_2$
- 4) $\text{HO}^\bullet + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{HO}_2^\bullet$
- 5) $\text{HO}_2^\bullet + \text{HO}_2^\bullet \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$

Гидроксильный радикал очень активен в реакциях отрыва атома водорода и реагирует с H_2O_2 по реакции (4) с образованием гидропероксильных радикалов HO_2^\bullet , которые далее диспропорционируют (реакция 5).

На рис.4 показано, что добавка глутатиона в реакционную смесь $\text{AChI-H}_2\text{O}_2\text{-RVT}$ приводит к резкому уменьшению скорости расходования фенола (ср. рис.1 и 4). Анализ кинетических кривых с учетом данных по взаимодействию глутатиона с ресвератролом в присутствии H_2O_2 [16] позволяет дополнить Схему 1 реакциями, протекающими при добавлении GSH, следующим образом:

- 6) $\text{RVT} + \text{HO}^\bullet \rightarrow \text{PhO}^\bullet + \text{H}_2\text{O}$
- 7) $\text{I}_2 + 2\text{GSH} \rightarrow 2\text{HI} + \text{GSSG}$
- 8) $\text{PhO}^\bullet + \text{HO}^\bullet \rightarrow \text{Q} + \text{H}_2\text{O}$
- 9) $\text{PhO}^\bullet + \text{GSH} \rightarrow \text{RVT} + \text{GS}^\bullet$
- 10) $\text{Q} + 2\text{GSH} \rightarrow \text{RVT} + \text{GSSG}$
- 11) $\text{GS}^\bullet + \text{GS}^\bullet \rightarrow \text{GSSG}$
- 12) $\text{GS}^\bullet + \text{RVT} \rightarrow \text{P}^\bullet$

GSH восстанавливает I_2 , и продукты взаимодействия RVT, как фенола, с радикалами HO^\bullet (феноксильные радикалы PhO^\bullet и хиноны Q). Расходование RVT в присутствии GSH и H_2O_2 подробно описано в работе [16]:



В реакциях (9) и (10) регенерируется RVT, и они объясняют наблюдаемый синергизм в ингибировании процессов окисления сильными фенольными ингибиторами в сочетании с GSH.

Основные результаты и выводы

1. Взаимодействие AChI с H_2O_2 в нейтральной водной среде сопровождается образованием гидроксильных радикалов. Известная в иодометрии реакция окисления иодида пероксидами имеет радикальную природу, генерирует гидроксильные радикалы, и может конкурировать с реакцией Фентона в системах, где исключается присутствие ионов металлов.
2. Показано, что добавки GSH замедляют расходование фенольных антиоксидантов в реакциях с радикалами, т.е. GSH является потенциальным синергистом в смеси с фенольными ингибиторами, поскольку регенерирует фенол из продуктов окисления.

Исследование особенностей взаимодействия активных форм кислорода с нейромедиатором ацетилхолином с различными противоионами в условиях окислительного стресса (в присутствии H_2O_2) необходимый этап для выяснения химических механизмов с участием эндогенных соединений, которые можно рассматривать как составную часть иммунной защиты, и возможностей их регулирования.

Работа выполнена в рамках государственного задания №122040500074-1 и при частичной поддержке гранта РФФИ №20-03-00753

Литература

1. Peter C. Zhu «New Biocides Development. The Combined Approach of Chemistry and Microbiology». ACS Symposium Series 967. 2008, 520 p. ISBN: 9780841274051
2. Kwaśniewska D., Chen Y-L., Wieczorek D. Biological Activity of Quaternary Ammonium Salts and Their Derivatives// Pathogens 2020, 9, 459; doi:10.3390/pathogens9060459
3. Vereshchagin A.N., Frolov N.A., Egorova K.S., Seitkalieva M.M., and Ananikov V.P. Quaternary Ammonium Compounds (QACs) and Ionic Liquids (ILs) as Biocides: From Simple Antiseptics to Tunable Antimicrobials// Int. J. Mol. Sci. 2021, 22, 6793. <https://doi.org/10.3390/ijms22136793>
4. Касаикина О.Т., Карташева З.С., Писаренко Л.М. // Влияние поверхностно-активных веществ на жидкофазное окисление углеводов и липидов // Ж. Общ. Хим. 2008, Т. № 8. С. 1298-1309.

5. Pittaras E.C., Faure A., Leray X., Moraitopoulou E., Cressant A., Rabat A.A., Meunier C., Fossier P., Granon S. Neuronal nicotinic receptors are crucial for tuning of E/I balance in prelimbic cortex and for decision-making processes // *Frontiers in Psychiatry*. 2016. V. 7. P. 171.
6. Rajaie S., Esmailzadeh A. Dietary choline and betaine intakes and risk of cardiovascular diseases: review of epidemiological evidence // *ARYA atherosclerosis*. 2011. V. 7. P. 78-86.
7. Beckmann J, Lips K.S. The non-neuronal cholinergic system in health and disease.//*Pharmacology* 2013; 92: 286–302.
8. Al-Shareeda Z.A., Abramovich R. A., Potanina O. G., Alhejoj H. // *Int. J. Pharm. Qual. Ass.* 2020. V. 11. P. 361.
9. Cox M. A., Bassi C., et al// *Journal of Internal Medicine*. 2020. V. 287. P. 120.
10. Трунова Н.А., Круговов Д.А., Богданова Ю.Г., Касаикина О.Т. Мицеллярные инициаторы свободных радикалов // *Вестник Московского университета. Серия 2. Химия*. 2008. Т. 49. № 4. С. 259-263.
11. Круговов Д.А., Менгеле Е.А., Касаикина О.Т. Ацетилхолин как катализатор распада гидропероксидов на свободные радикалы // *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2014. № 8. С. 1837-1837.
12. Potarova N.V., Kasaikina O.T., Berezin M.P., Plashchina I.G. Catalytic Generation of Radicals in Supramolecular Systems with Acetylcholine // *Kinetics and Catalysis*. 2020. T. 61. № 5. С. 786-793.
13. John T. Dunn and Ann D. Dunn Update on Intrathyroidal Iodine Metabolism// *THYROID*, 2001, V.11, N. 5, 407 – 414.
14. Е.А. Трошина, Н.М. Платонова Метаболизм йода и профилактика йододефицитных заболеваний у детей и подростков // *ВОПРОСЫ СОВРЕМЕННОЙ ПЕДИАТРИИ/ 2008/ ТОМ 7/ № 3*. С.66-75
15. Зинатуллина К.М., Касаикина О.Т., Мотякин М.В., Ионова И.С., Дегтярев Е.Н., Храмеева Н.П. Особенности образования радикалов в реакциях тиолов с пероксидом водорода // *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2020. № 10. С. 1865-1868.
16. Зинатуллина К.М., Касаикина О.Т., Храмеева Н.П., Индейкина М.И., Кононихин А. С. // *Кинетика и Катализ*. 2021. Том 62. №2. С. 198 - 207.
17. Likhtenshtein G.I., Yamauchi J., Nakatsuji S., Smirnov A.I., Tamura R. Nitroxides: Applications in Chemistry // *Biomedicine, and Materials Science*. – Weinheim: Wiley-VCH. – 2008. – С. 424.

ПОДВИЖНОСТЬ ПОЛЯРНЫХ ЖИДКОСТЕЙ В МЕЖПЛОСКОСТНОМ ПРОСТРАНСТВЕ ОКСИДА ГРАФИТА ПО ДАНЫМ МЕТОДА СПИНОВОГО ЗОНДА

Аствацатуров Д.А., Чумакова Н.А., Кокорин А.И.

*Федеральный исследовательский центр химической физики им.
Н.Н.Семенова РАН, Москва, Россия
Лаборатория кинетики механохимических и свободно-радикальных
процессов им. В.В. Воеводского*

Оксид графита (ОГ) представляет собой материал переменного состава, состоящий из слоев оксида графена, несущих кислородсодержащие функциональные группы (-ОН, >C=O, -C-O-C, -COOH). Известно, что оксид графита набухает в полярных жидкостях (вода, ацетонитрил, метанол и др.), при этом жидкость интеркалирует в межплоскостное пространство материала, что сопровождается увеличением межплоскостного расстояния. Методом дифференциальной сканирующей калориметрии было показано, что жидкость в межплоскостном пространстве оксида графита не претерпевает фазового перехода (жидкость-твердое) при изменении температуры. Вопрос о свойствах интеркалированной жидкости (интеркалята), и, в частности, ее подвижности, до сих пор остается открытым; имеющиеся в литературе экспериментальные данные немногочисленны и противоречивы. Ранее мы показали, что эффективным методом для определения молекулярной подвижности интеркалята в оксиде графита является метод ЭПР в варианте методики спинового зонда. Данная работа направлена на изучение подвижности ацетонитрила и низших спиртов в межплоскостном пространстве оксида графита с помощью спектроскопии ЭПР.

На примере ацетонитрила показано, что ОГ одновременно содержит, по крайней мере, два типа интеркалированной жидкости, характеризующихся высокой и низкой подвижностью – жидкоподобный и твердый ацетонитрил. Соотношение между количеством интеркалята с высокой и низкой подвижностью зависит от температуры; вещества с промежуточной

подвижностью не наблюдается. Методом импульсной ЭПР спектроскопии установлено, что твердый ацетонитрил представляет собой стеклообразную фазу. Первые результаты, полученные для этанола, также свидетельствуют о наличии жидкоподобного интеркалята в межплоскостном пространстве ОГ. Установлено, что в межплоскостном пространстве ОГ этанол обладает большей подвижностью по сравнению с ацетонитрилом.

Настоящая работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 23-23-00016.

ОРИЕНТАЦИОННАЯ УПОРЯДОЧЕННОСТЬ МЕМБРАН ИЗ ОКСИДА ГРАФИТА ПО ДАННЫМ МЕТОДА СПИНОВОГО ЗОНДА И СКАНИРУЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ

Матвеев М.В.¹, Чумакова Н.А.^{1,2}

*1- Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
химический факультет, Москва, Россия*

*2 – Федеральный исследовательский центр химической физики им.
Н.Н.Семенова РАН, Москва, Россия*

Оксид графита – слоистый материал, состоящий из окисленных графеновых слоев, несущих карбонильные, эпоксидные, гидроксильные группы. Мембраны из оксида графита (GOM) проявляют избирательную проницаемость для жидкостей и газов. Механизм этого явления в настоящее время не изучен. Одним из факторов, определяющих проницаемость мембран, по-видимому, является ориентационная упорядоченность графеновых слоев. На настоящий момент единственной экспериментальной методикой, позволяющей количественно характеризовать упорядоченность слоев в мембранах из оксида графита, является метод спинового зонда. Наиболее перспективными зондами являются стабильные нитроксильные радикалы.

Для моделирования угловых зависимостей спектров ЭПР нитроксильных радикалов в GOM был разработан подход, в значительной степени нивелирующий влияние собственного сигнала оксида графита. Подход основан на варьировании вкладов различных компонент спектра в суммарную невязку – разницу между экспериментальным и теоретически рассчитанным спектром. Результат моделирования угловой зависимости спектров ЭПР радикала N5, сорбированного на внутренней поверхности GOM, представлен на рисунке 1а.

Окисленные графеновые слои в мембранах из оксида графита образуют ламели. Первые попытки определения упорядоченности ламелей путем анализа микрофотографий СЭМ показали, что упорядоченность ламелей

значительно превышает упорядоченность спиновых зондов. Микрофотография СЭМ мембраны представлена на рисунке 1б.

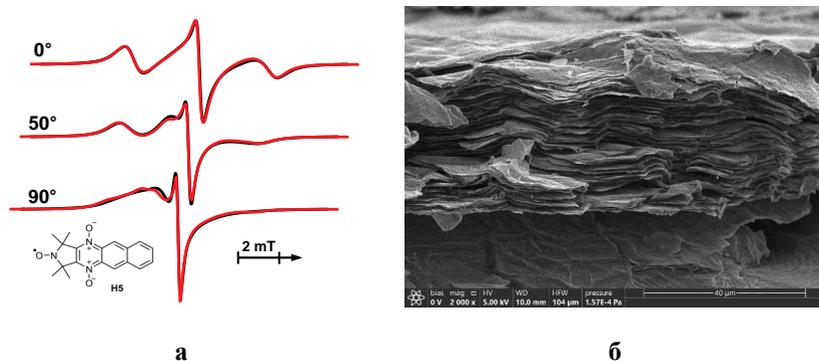


Рис. 1. а) Угловая зависимость спектра ЭПР стабильного нитроксильного радикала в мембране из оксида графита; черные линии – экспериментальные спектры, красные линии – результат совместного моделирования спектров; б) Микрофотография СЭМ мембраны.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 21-73-001246

Авторы благодарны Градову О.В. и Ткачеву Н.А. (ФИЦ ХФ РАН) за разработку программы машинного обучения для анализа микрофотографий СЭМ.

СИНТЕЗ И СОРБЦИОННЫЕ СВОЙСТВА ПОРОШКОВ И МЕМБРАН НА ОСНОВЕ ОКСИДА ГРАФИТА

**Каплин А.В.^{1,2}, Еремина Е.А.², Коробов М.В.², Ребрикова А.Т.²,
Чумакова Н.А.^{1,2}, Кокорин А.И.¹**

¹ Федеральный исследовательский центр химической физики им.

Н.Н.Семенова РАН, Москва, Россия

*Лаборатория кинетики механохимических и свободно-радикальных
процессов им. В.В. Воеводского*

119991, Москва, Россия

²Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова

119991, Москва, Россия

E-mail: alex1997kaplin@mail.ru

Оксид графита (GO) – слоистый материал, получающийся окислением графита в кислой среде. Благодаря присутствию в структуре оксида графита полярных кислородосодержащих групп (карбокисильных, эпоксидных, гидрокисильных, карбонильных) данный материал легко сорбирует полярные жидкости в межплоскостное пространство. На основе оксида графита можно получать мембраны, способные селективно сорбировать, разделять и очищать многие полярные жидкости. Цель данной работы – синтез и сравнительное исследование сорбционных свойств порошков и мембран на основе оксида графита с различными химическими предысториями, а именно, синтезированных по методам Хаммерса (HGO) и Броди (BGO).

Показано, что образцы с различными синтетическими предысториями имеют различные физико-химические свойства (соотношение C:O, насыпная плотность, удельная площадь поверхности, межплоскостные расстояния). Характеристики мембран не отличаются от характеристик порошков, из которых они были изготовлены.

Определены значения сорбции для ацетонитрила, воды, октанола-1 и пиридина порошками и мембранами (HGO, BGO) при прямом контакте с жидкой фазой (метод ДСК, измерение сорбции при температуре плавления) и при сорбции через газовую фазу (изопиестический метод, измерение сорбции

при комнатной температуре). Значения сорбции приведены в таблице 1. Показано, что при комнатной температуре сорбция полярных жидкостей в мембраны меньше, чем в порошки. При низких температурах порошки и мембраны сорбируют пиридин и ацетонитрил одинаково. Обнаружено, что вода обладает аномальными сорбционными свойствами и одинаково сорбируется порошками и мембранами оксида графита во всем температурном интервале. Сорбционные свойства мембран ВГО для ацетонитрила в значительной степени определяются значением pH суспензий, из которых они приготовлены. Результаты работы показывают возможность создания мембран с заранее заданными сорбционными характеристиками.

Таблица 1. Сорбция (г/г) воды и полярных жидкостей порошками и мембранами GO.

Образец	T=298 К	T=232 К	T=298 К	T=229 К	T=298 К
	C5H5N	C5H5N	CH3CN	CH3CN	H2O
Порошок H-GO	0,25± 0,03	0,56 ± 0,07	0,36 ± 0,03	0,47 ± 0,08	0,39 ± 0,02
Мембрана H-GO	0,11± 0,03	0,61 ± 0,06	0,16 ± 0,03	0,48 ± 0,07	0,39 ± 0,03

Благодарности: грант РФФ №21-73-001246

ВЛИЯНИЕ ФЕМТОСЕКУНДНОЙ ЛАЗЕРНОЙ ЭНУКЛЕАЦИИ НА СТРУКТУРУ ЦИТОСКЕЛЕТА ООЦИТОВ МЫШИ

**М.С. Егорова^{1,2}, А.А. Осыченко², А.Д. Залесский², Д.Ю. Мартиросян²,
У.А. Точило², В.Н. Надточенко²**

*¹Московский физико-технический
институт (национальный
исследовательский университет)*

*²Федеральное государственное бюджетное учреждение
науки Институт химической физики им. Н.Н. Семенова
Российской академии наук*

В биомедицине существует запрос на создание реципиентного цитопласта – яйцеклетки, из которой удалили собственную ДНК. Реципиентный цитопласт применяется в вспомогательных репродуктивных технологиях человека для реализации метода цитоплазматической замены, задача которого – получение здоровых эмбрионов от матери, страдающей митохондриальными заболеваниями [1]. Традиционный способ получения реципиентного цитопласта выполняется путем аспирации генетического материала (метафазной пластинки) яйцеклетки при помощи микроиглы, и называется энуклеацией [2]. Этот метод существенно инвазивен и может приводить к потере репрограммирующих факторов, которые обычно сконцентрированы в области метафазной пластинки [3].

Энуклеация при помощи остросфокусированного лазерного излучения является перспективным методом, поскольку с ее помощью можно разрушать ДНК в яйцеклетке с минимальной инвазивностью: без механического прокалывания и без потери репрограммирующих факторов [4,5]. Показано, что подобное воздействие не приводит к существенному повышению активных форм кислорода и не оказывает существенного влияния на жизнеспособность ооцитов [6]. Для дальнейшего развития данной методики требуется понять, что происходит с веретеном деления ооцита после фемтосекундной лазерной энуклеации.

В данной работе мы исследовали, как фемтосекундная лазерная энуклеация влияет на динамику веретена деления ооцитов на стадии метафазы II.

Получение ооцитов.

Исследование проводилось на самках мышей C57BL6/CBA, в возрасте 8-10 недель. Мышей индуцировали к суперовуляции стандартным методом внутрибрюшной инъекции 10 МЕ сывроточного гонадотропина беременной кобылы (A036A02, Intervet) с последующей внутривенной инъекцией 7 МЕ человеческого хорионического гонадотропина (ХГЧ) (A038A01, Intervet) 48 часов спустя.

Мышей умерщвляли путем цервикальной дислокации через 18 часов после инъекции ХГЧ. Яйцеводы были помещены в чашку Петри в капле культуральной среды M2 (M7167, Sigma-Aldrich) с добавлением 0,1% раствора гиалуронидазы (H4272, Sigma-Aldrich). Ампула яйцевода была разорвана парой тонких пинцетов. Ооциты, очищенные от кумулюса, помещали в среду M2 в четырехлуночные чашки (179830, Nunc).

Параметры лазерного воздействия.

Энуклеацию проводили при помощи фемтосекундного лазера (Chameleon Discovery, Coherent) и микроскопа Olympus IX71. Параметры излучения фемтосекундного лазера: длина волны 790 нм, частота следования импульсов 15 кГц, энергия в импульсе 18 нДж. Излучение фокусировали на образцы при помощи объектива Olympus 60x, NA = 0,7.

Протокол флуоресцентного окрашивания.

Для осуществления энуклеации действие лазера направляли на область метафазной пластинки, которую визуализировали путем флуоресцентного окрашивания красителем Hoechst 33342 (B2261, Sigma-Aldrich) концентрацией 5 мкг/мл в течение 40 минут.

Веретено деления окрашивали витальным флуоресцентным красителем BioTracker 488 Green Microtubule Cytoskeleton Dye (SCT142, Sigma-Aldrich) концентрацией 10 мкг/мл в течение 30 минут.

Для верификации разрушения ДНК использовали краситель BioTracker NIR694 Nuclear Dye (SCT117, Sigma-Aldrich) концентрацией 2,5 мкг/мл. Окрашивание проводили в течение 30 минут.

Схема эксперимента.

Ооциты, окрашенные Hoechst 33342, подвергали фемтосекундной лазерной энуклеации, а затем окрашивали контрастным по спектру флуоресценции красителем Nuclear Dye, чтобы верифицировать разрушение ДНК, и красителем Green Microtubule Cytoskeleton Dye, связывающимся с микротрубочками, для визуализации веретена деления. Ооциты контрольной группы окрашивали так же, но лазерному воздействию не подвергали. Дополнительно оценивали поведение микротрубочек в ооцитах, обработанных колхицином, который связывается с тубулином и вызывает деполимеризацию микротрубочек.

Флуоресцентную визуализацию производили на конфокальном микроскопе Zeiss LSM 980 (Carl Zeiss Microscopy, Йена, Германия) через 60 минут после окончания энуклеации.

Результаты.

Мы увидели, что воздействие фемтосекундного лазера в область метафазной пластинки вызывает изменения в структуре веретена деления. При отсутствии воздействия веретено деления имеет два полюса (рис. 1, А) и сосредоточено вокруг метафазной пластинки. В начальный момент времени веретено деления сохраняет свою морфологию, а затем, спустя 1 час после лазерного воздействия, теряет привычную биполярную структуру, и микротрубочки полимеризуются в нескольких случайных точках (рис. 1, Б). Действие фемтосекундного лазера отличается от воздействия колхицином, который вызывает полную деполимеризацию микротрубочек (рис. 1, В). Подробнее результаты эксперимента изложены в табл.1.

Группа	Кол-во образцов	Два полюса	Много полюсов	Деполимеризация	Другое
Контроль	20	10	5	0	5
Энуклеация	20	0	11	0	9
Колхицин	18	1	1	11	6

Таблица 1. Результаты указаны соответственно для групп: контроль, лазерное воздействие (энукеация) и воздействие колхицином

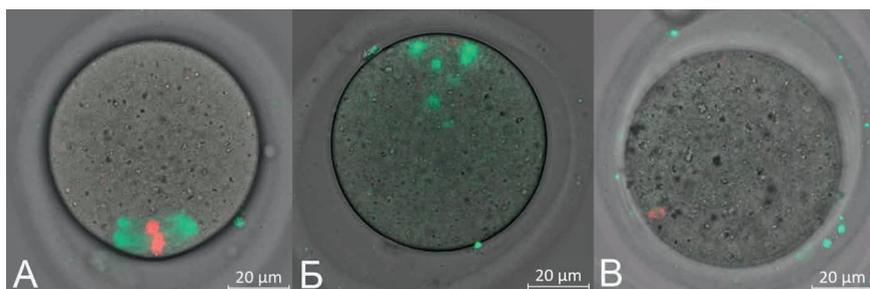


Рисунок 1. Ооциты на стадии метафазы II, окрашенные Nuclear Dye и Green Microtubule Cytoskeleton Dye: А – контроль, Б – после энуклеации, В – после воздействия колхицином

Обсуждение.

Известно, что у ооцитов млекопитающих веретено деления лишено центриолей, а микротрубочки формируются вокруг центров организации микротрубочек (ЦОМТ), в качестве которых способны выступать кинетохоры, расположенные на хромосомах [7,8]. Разрушая лазером хромосомы метафазной пластинки, мы, по-видимому, разрушаем и ЦОМТ, что вызывает дезинтеграцию веретена деления. Однако эта дезинтеграция не несет характера полной деполимеризации, которую мы видим в случае применения колхицина. Интересным оказался факт, что при отсутствии метафазной пластинки микротрубочки полимеризуются в нескольких случайных областях ооцита, число которых варьируется от 3 до 7. Причина такой полимеризации в настоящий момент неизвестна, но можно предположить, что-либо после

лазерного воздействия остались фрагменты кинетохоров, либо в ооците присутствуют иные структуры, способные выполнять функцию ЦОМТ. Данное наблюдение является предварительным и требует дополнительного всестороннего исследования.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 21-75-10155. Работа выполнена на оборудовании ЦКП ФИЦ ХФ 506694 и УНУ ФИЦ ХФ РАН 1440743.

Литература

1. D.P. Wolf, N. Mitalipov, S. Mitalipov // Mitochondrial replacement therapy in reproductive medicine, *Trends Mol. Med.* 21(2), 68–76 (2015).
2. L. M. Chailakhyan, B. N. Vepintsev, T. A. Sviridova, V. A. Nikitin VA// Electrostimulated cell fusion in cell engineering, *Biofizika* 32(5), 874–887 (1987).
3. K. H. Campbell// “Nuclear transfer in farm animal species,” *Semin. Cell Dev. Biol.* 10(3), 245–252 (1999).
4. A.K. Shakhbazyan, T.A. Sviridova-Chailakhyan, A.V. Karmenyan, A.S. Krivokharchenko, A. Chiou, L.M. Chailakhyan// The Use of Laser for Obtaining Recipient Cytoplasts for Mammalian Nuclear Transfer. *Doklady Biological Sciences*, 2009. 428: p. 1-4.
5. K. Kuetemeyer, A. Lucas-Hahn, B. Petersen, P. Hassel, E. Lemme, H. Niemann, A. Heisterkamp// Femtosecond laser based enucleation of porcine oocytes for somatic cell nuclear transfer. *Human Gene Therapy*, 2009. 20(11): p. 1515-1515.
6. A.A. Osychenko, A.D. Zalessky, U.A. Tochilo, D.Yu. Martirosyan, Yu.Yu. Silaeva, V.A. Nadochenko// Femtosecond laser oocyte enucleation as a low-invasive and effective method of recipient cytoplasm preparation. *Biomedical Optics Express*, 2022. 13(3): p. 1447-1456.
7. S. Meunier, I. Vernos// Microtubule assembly during mitosis - from distinct origins to distinct functions? *Journal of Cell Science*, 2012. 125 (Pt 12): 2805–14.
8. N. Pavin, I.M. Tolić// Self-Organization and Forces in the Mitotic Spindle. *Annual Review of Biophysics*, 2016. 45(1), 279–298. doi:10.1146/annurev-biophys-062215-010934

ВЛИЯНИЕ ФЛЮОРЕСЦЕНТНОГО КРАСИТЕЛЯ BIOTRACKER BLUE НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ СЛИЯНИЯ КЛЕТОК С ПОМОЩЬЮ ФЕМТОСЕКУНДНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ БЛИЖНЕГО ИНФРАКРАСНОГО ДИАПАЗОНА

О.Т. Калинина^{1,2}, Ю.А. Федотов^{1,3}, А.А. Осыченко¹, А.Д. Залесский¹,
Д.Ю. Мартиросян¹, У.А. Точило¹, В.Н. Надточенко¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук,

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)»,

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение "Государственный научный центр Федеральный медицинский биофизический центр им. Бурназяна ФМБА России"

Введение.

Фемтосекундное лазерное излучение в настоящее время активно используется в биофотонике, особенно в нанохирургии клетки. Развитие этого направления крайне важно для совершенствования современных технологий в биомедицине, таких как ЭКО, митохондриальная терапия, а также для клонирования млекопитающих. Использование фемтосекундного лазерного излучения для задачи слияния клеток может стать широко применяемым во многих областях, так как оно имеет ряд преимуществ: возможность воздействовать непосредственно на контакт клеток, при этом минимально повреждая сами клетки, возможность регулировать интенсивность воздействия и сливать выбранные клетки в составе многоклеточной структуры. Применение флуоресцентных красителей, которые могут снижать порог абляции [1], может позволить дополнительно локализовать лазерное воздействие в окрашенных структурах, как, например, флуоресцентное окрашивание на ДНК красителем Hoechst 33342 используется для энуклеации ооцитов [2]. Основываясь на этом, мы предположили, что флуоресцентный краситель BioTracker Blue 400 Blue Cytoplasmic Membrane Dye (SCT109, Sigma Aldrich), окрашивающий липиды, может способствовать усилению

поглощения лазерного излучения цитоплазматической мембраной и облегчению слияния клеток. Максимум возбуждения красителя BioTracker Blue - 336 нм, поэтому двухфотонное поглощение фемтосекундного лазера может происходить при использовании лазера с длиной волны в диапазоне 600-800 нм. В данной работе мы изучали влияние витального флуоресцентного красителя BioTracker Blue на эффективность поглощения излучения с длиной волны 730, 760 и 790 нм плазматической мембраной клетках аденокарциномы человека A549. Также изучалось влияние красителя BioTracker Blue на вероятность слияния в разных модельных объектах: клетках аденокарциномы человека A549, ооцитах с полярными тельцами и двухклеточных эмбрионах мыши.

Экспериментальная установка, материалы и методы.

В работе использовали фемтосекундный лазер Chameleon (Coherent), Частота импульсов 80 МГц, энергия достигала 30 нДж. Наблюдение и запись осуществляли с помощью камеры, установленной на микроскопе Olympus IX71.

Культуру раковой клетки человека A549 (аденокарцинома легкого) получали из ATCC (Manassas, VA, USA). Клетки обрабатывали 0,25% раствором трипсина (P034, Рапесо), центрифугировали 5 минут при частоте 2200 оборотов в минуту, затем клетки отделяли и помещали в DMEM (11320033, Thermo Fisher Scientific).

Ооциты и двухклеточные эмбрионы получали из самок мышей линии C57Bl/6 возраста от 6 до 8 недель. Мышей подвергали суперовуляции методом внутрибрюшной инъекции 10 МЕ гонадотропина и инъекцией через 48 часов 10 МЕ хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) (A038A01, Intervet). Самок спаривали в течение ночи с самцами CBA/C57Bl6. Через 48 часов двухклеточные эмбрионы извлекались из яйцевода и промывались в M2 (M7167, Sigma). Эмбрионы культивировали в CO₂-инкубаторе (37 °C, 5% CO₂) в KSOM (MR-121-D, EmbryoMax). Для получения ооцитов с полярным телом мы применили гаплоидную партеногенетическую активацию путем инкубации ооцитов в KSOM с 5 мМ хлоридом стронция (439665, Sigma-Aldrich) и 2 мМ EGTA (E3889, Sigma-Aldrich) в CO₂-инкубаторе.

Для всех лазерных экспериментов использовали покровное стекло 0,17 мм (Heinz Herenz). Манипуляции с ооцитами и эмбрионами проводили в M2 (M7167, Sigma), после культивировали в CO₂-инкубаторе в KSOM. Эксперименты с клетками A549 были проведены в DMEM.

Флуоресцентный краситель BioTracker 400 (SCT109, Sigma Aldrich) 5 мкл смешивали с 5 мкл специального буфера. Полученный раствор использовали в соотношении 10 мкл на 1 мл среды. Далее эмбрионы и ооциты окрашивали в течение 20 минут в CO₂-инкубаторе. Флуоресцентная визуализация проводили с использованием лазерного сканирующего конфокального микроскопа Zeiss LSM 980 (Carl Zeiss Microscopy, Jena, Germany), 20x Plan-Apochromat объектив (NA = 0.8). Однофотонное возбуждение достигалось на 405 нм. Флуоресценцию регистрировали в диапазоне 413-500 нм.

Результаты.

Мы провели эксперимент по определению влияния флуоресцентного красителя BioTracker Blue на поглощение лазерного излучения клетками аденокарциномы A549. Индикатором лазерного поглощения считали образование парогазового пузыря (Рис. 1), который свидетельствует о локальном повышении температуры и давления. Воздействовали на плоскость соприкосновения мембран, при длинах волн 730, 760 и 790 нм в окрашенных и неокрашенных группах. Количество образовавшихся парогазовых пузырей при равном количестве рассматриваемых пар клеток при воздействии лазером на клетки A549 уменьшалось от 730 до 790 нм соответственно и также было больше во всех окрашенных группах, чем в неокрашенных (рис. 2). Также среднее значение диаметра в окрашенной группе было больше, чем в неокрашенной (рис. 3), при длине волны 730 нм количество образовавшихся пузырей было достаточным, чтобы смотреть статистику, но различие незначительное (One-way ANOVA test, $p = 0.11$). Таким образом, краситель BioTracker Blue повысил эффективность лазерного поглощения.

Далее мы провели 3 эксперимента, в котором сливали с помощью лазерного излучения на длинах волн 730, 760 и 790 нм окрашенные BioTracker

Blue группы: пары клеток A549, пары двухклеточных эмбрионов и ооциты с их полярными тельцами. Также были неокрашенные контрольные группы в каждом эксперименте. Учитывая полученные данные по исследованию эффективности поглощения излучения клетками A549, для слияния пар A549 подбирались параметры лазера, чтобы количество образовавшихся пузырей не различалось так сильно. В остальных экспериментальных группах на одной настройке лазера воздействие проводилось до образования пароголового пузыря. В результате нами не было обнаружено влияние окрашивания BioTracker Blue и длины волны на эффективность слияния, хотя количество образованных пузырей в окрашенных группах было больше. Исследования Kuetemeyer K. et al. предполагает необходимость образование пузыря для слияния [3], и для слияния двухклеточных эмбрионов с помощью фемтосекундного лазерного воздействия на длине волны 800 нм также необходим пароголовый пузырь [2]. Но в этом эксперименте некоторые из пар клеток A549 были слиты без образования пузыря, а слияние всех двухклеточных эмбрионов происходило только после образования пузыря. Gong J. et al описывали слияние без образования пузыря [4]. Итак, BioTracker Blue не увеличил вероятность слияния клеток, вероятно потому что краситель мог создать дополнительные свободные радикалы из-за двухфотонного поглощения, инициировать реакцию с липидами мембраны, что может препятствовать слиянию.



Рис. 1. Стрелкой указан пароголовый пузырь в месте контакта двух клеток A549

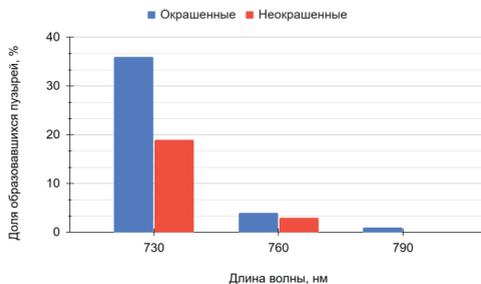


Рис. 2. Доля образовавшихся парогазовых пузырей при воздействии лазером на клетки A549

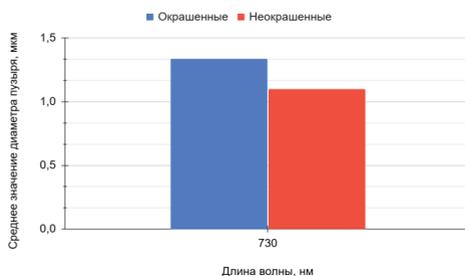


Рис. 3. Среднее значение диаметра парогазового пузыря при воздействии лазером на клетки A549

Выводы.

Краситель BioTracker Blue увеличил эффективность поглощения лазерного излучения мембранами клеток, но не было выявлено влияния на эффективность слияния клеток с помощью воздействия фемтосекундного лазерного излучения.

Финансирование.

Работа выполнена при поддержке РФФ грант № 21-75-10155. Работа выполнена на оборудовании ЦКП ФИЦ ХФ 506694 и УНУ ФИЦ ХФ РАН 1440743

Литература

1. A. Vogel, J. Noack, G. Huttman et al. //Appl. Phys. B: Lasers Opt. 2005. 81(8), 1015
2. A.A. Osychenko, A.D. Zalessky, U.A. Tochilo et al. //St. Petersburg State Polytechnical University Journal. Physics and Mathematics. 2022. 15(3.2.), 317
3. K. Kuetermeyer, A. Lucas-Hahn, B. Petersen et al. //J. Biomed. Opt. 2011. 16(8) 088001
4. 26. J. Gong, X. Zhao, Q. Xing et al. //Appl. Phys. Lett. 2008. 92, 093901

СВЯЗЬ АКТИВНОСТИ СУБТАЛАМИЧЕСКОГО ЯДРА С КЛИНИЧЕСКИМИ СИМПТОМАМИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Сайфулина К.Э.¹, Филюшкина В.И.¹, Белова Е.М.¹, Гамалея А.А.²,
Томский А.А.², Седов А.С.¹

¹ *Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН*

² *Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н. Н. Бурденко*

Введение

Болезнь Паркинсона (БП) – второе в мире по распространенности в мире нейродегенеративное заболевание, связанное с деградацией дофаминэргических нейронов в черной субстанции. В результате недостатка дофамина баланс возбуждения-торможения в системе базальных ганглиев нарушается, и по проекциям в моторную кору от базальных ганглиев распространяется тормозное влияние. Это проявляется набором паркинсонических симптомов, основные из которых – гипокинезия (замедленность и затрудненность произвольных движений), тремор (дрожание конечностей), ригидность (напряженность мышц).

Два основных вида терапии, направленной на подавление симптомов – это медикаментозная терапия (основной препарат - леводопа, предшественник дофамина) и глубинная стимуляция мозга (deep brain stimulation, DBS). При долгом применении медикаментозной терапии в ряде случаев начинают развиваться побочные эффекты: леводопа может вызывать дискинезии – неконтролируемые движения. Если побочные эффекты значительно снижают качество жизни пациента, то врачи могут принять решение об установке системы DBS.

Пациентам с БП электроды устанавливают в ядра системы базальных ганглиев: либо в субталамическое ядро (СТЯ) – часть «непрямого» пути, либо во внутренний сегмент бледного шара. Высокочастотная электрическая стимуляция (100-130 Гц), предположительно, вызывает

перестройку работы системы базальных ганглиев, что приводит к подавлению паркинсонических симптомов. Состояние пациента, при котором двигательные симптомы выражены в большой степени – до приема леводопы или в отсутствие стимуляции – называют “выключенное” (OFF) состояние, а состояние, когда симптомы подавляются в результате приема препарата или стимуляции, называют “включенное” (ON) состояние.

До сих пор существует проблема подбора программы для стимуляции. Стимуляцию можно осуществлять, задействуя любые комбинации из восьми контактов электрода, и в настоящее время подбор локации происходит на основании клинических наблюдений. Эффективность стимуляции на разных контактах, таким образом, проверяют экспериментально. Существует запрос на оптимизацию этой процедуры. Возможный путь оптимизации – анализ нейрофизиологической активности ядра и выявление паттернов, характерных для контактов, наиболее перспективных с точки зрения клинического улучшения.

Недавно группа исследователей (Strelow et al., 2022) презентовала метод выбора контактов для стимуляции на основе локальных потенциалов субталамического ядра. Как описано в работе, разработанный группой метод давал эффективность не хуже, чем подбор на основании клинических наблюдений. При этом они опирались на единственный параметр активности – мощность осцилляций в широком бета-диапазоне. Возникает вопрос, можно ли сделать предсказание наиболее удачных для стимуляции контактов еще более точным за счет включения в анализ большего числа параметров.

Таким образом, цель нашей работы – поиск параметров активности субталамического ядра, связанных с клиническим улучшением после глубокой стимуляции (DBS).

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Выделение разнородных параметров спонтанной активности СТЯ в OFF-состоянии пациента

2. Выбор параметров активности, коррелирующих с эффективностью DBS
3. Построение многофакторной модели для предсказания улучшения
4. Разработка рекомендаций по выбору контактов для стимуляции

Методика

В выборку вошли 6 пациентов с болезнью Паркинсона от 44 до 62 лет (среднее 52,8 лет, ст. откл. 8,2 года), из них 5 женщин. Все пациенты прошли операцию по установке электродов для глубинной стимуляции (направленные восьмиконтактные электроды St.Jude, США) биполярно в СТЯ с наружным выводением: провода от DBS-электродов временно выводились наружу, что давало возможность записывать сигналы от СТЯ.

С имплантированных электродов мы регистрировали локальные потенциалы (популяционную активность нейронов). Записи проводили в первый и пятый дни после операции. Мы анализировали периоды записи, когда пациенты находились в состоянии спокойного бодрствования до приема леводопы (OFF-состояние).

Клинические симптомы пациентов оценивал квалифицированный невролог по шкале UPDRSIII. Оценивалась гипокинезия и ригидность для левой и правой сторон тела. Оценку производили за день до операции и через шесть месяцев после имплантации DBS-системы (в течение этого времени стимуляция происходила по одной программе). Параметр “улучшение” – т.е. эффект стимуляции – рассчитывали по следующей формуле: $(x_0 - x_1) / x_0$, где x_1 – оценка симптома после стимуляции, а x_0 – оценка симптома до операции.

Предварительную обработку записей мы осуществляли с помощью скриптов на основе пакета MNE Python. На основе сигналов от 8 контактов каждого электрода мы рассчитали 15 биполярных сигналов.

На биполярных сигналах был проведен спектральный анализ: мы рассчитали мощность сигнала для частот в диапазоне 1-50 Гц для каждого биполярного контакта. Далее мы с помощью метода fooof (Donoghue et al.,

2020) разложили сигнал на периодическую и аperiodическую компоненты, получив для них отдельные спектры мощности.

Помимо спектрального анализа мы сделали “пачечный”: выделили из исходного сигнала пачки (всплески повышенной активности) и рассчитали для них ряд параметров: средняя длина пачки, стандартное отклонение длины, частота пачек.

Для периодической и аperiodической компонент мы также выделили ряд параметров. Для периодической компоненты параметры были следующими: ширина пика, пиковая частота, пиковая амплитуда.

Статистический анализ осуществляли в среде R. Мы делали корреляционный анализ (корреляция Спирмена), чтобы предварительно выделить параметры, связанные с клиническим улучшением. Далее параметры из выделенного пула мы проверяли на кросс-корреляции и отсеивали высокоррелированные ($r > 0.6$). Затем мы построили многофакторную модель с клиническим улучшением (суммарное улучшение по гипокинезии и ригидности) в роли зависимой переменной и выделенными параметрами сигнала в роли предикторов, и в качестве случайного эффекта ввели фактор пациента, то есть фактор индивидуальной изменчивости. Эту многофакторную модель мы сравнили с простой, где единственным предиктором являлась мощность в бета-диапазоне.

Результаты и обсуждение

Корреляционный анализ

Корреляционный анализ выявил ряд параметров локальных потенциалов, связанных с клиническим улучшением (рис.1). Все параметры, которые значимо коррелировали с улучшением, относились к трем частотным диапазонам: альфа (8-12 Гц), низкочастотный бета-поддиапазон (13-19 Гц), высокочастотный бета-поддиапазон (20-29 Гц).

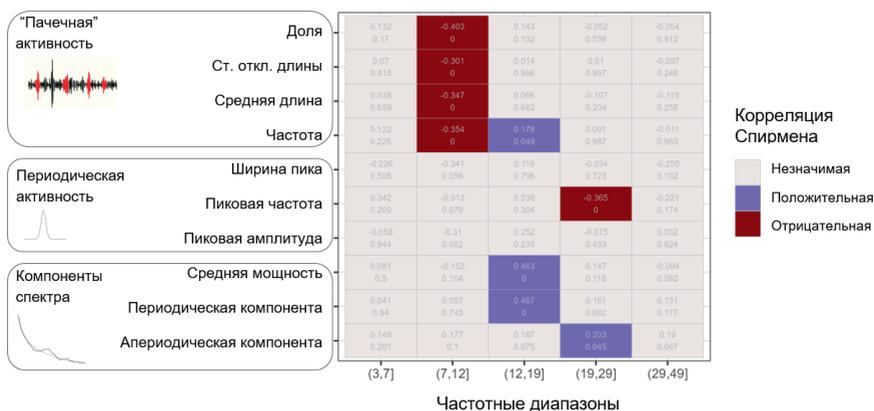


Рис.1. Карта корреляций между клиническим улучшением и параметрами локальных потенциалов. Цветом обозначены значимые корреляции ($p < 0.05$ с поправкой fd_r)

Мы обнаружили, что все параметры печечной активности в альфа-диапазоне отрицательно коррелируют с улучшением: доля пачек ($r = -0.4$, $p < 0.001$), стандартное отклонение длины пачек ($r = -0.3$, $p < 0.001$), средняя длина пачек ($r = -0.35$, $p < 0.001$), частота пачек ($r = -0.35$, $p < 0.001$).

В низкочастотном бета-поддиапазоне с улучшением положительно коррелировали три параметра: частота пачек ($r = 0.18$, $p = 0.049$), средняя мощность после удаления аperiодической компоненты ($r = 0.46$, $p < 0.001$), периодическая компонента ($r = 0.47$, $p < 0.001$).

В высокочастотном бета-поддиапазоне мы обнаружили два связанных с улучшением параметра: пиковая частота ($r = -0.37$, $p < 0.001$) и аperiодическая компонента ($r = 0.2$, $p = 0.045$).

Построение модели для предсказания клинического улучшения

Все вышеперечисленные параметры, а также взаимодействия между ними были включены в многофакторную линейную смешанную модель, затем модель была упрощена методом пошагового исключения факторов с

проверкой качества модели. Значимыми в финальной модели являлись следующие факторы:

средняя мощность в низкочастотном бета-поддиапазоне ($p=0.007$)

апериодическая компонента в высокочастотном бета-поддиапазоне ($p<0.001$)

наклон апериодической компоненты ($p=0.02$)

взаимодействие частоты пачек в низкочастотном бета-поддиапазоне с частотой пачек в альфа-диапазоне ($p = 0.034$)

взаимодействие частоты пачек в низкочастотном бета-поддиапазоне с апериодической компонентой в высокочастотном бета-поддиапазоне ($p<0.001$)

взаимодействие частоты пачек в низкочастотном бета-поддиапазоне с наклоном апериодической компоненты ($p=0.01$)

Мы сравнили полученную многофакторную модель с простой моделью с единственным предиктором (мощность в бета-диапазоне). Многофакторная модель значимо лучше описывала данные, чем простая ($p<0.001$, REML test).

Таким образом, мы выявили ряд параметров локальных потенциалов помимо мощности в бета-диапазоне, которые помогают предсказывать клиническое улучшение.

Связь мощности в низкочастотном бета-диапазоне с улучшением соответствует данным литературы (Feldmann et al., 2022), параметры пачечной активности также, по некоторым данным, связаны с улучшением (Tinkhauser et al., 2017), но в бета-диапазоне. Мы же показали связь с улучшением для альфа-диапазона, что является, с одной стороны, интересным новым результатом, а с другой стороны, поддерживает полученные ранее данные о связи альфа-диапазона с клиническими симптомами (Belova et al., 2021). Кроме того, представляет интерес связь с улучшением параметров апериодической компоненты – апериодическая компонента, как считается, отражает баланс возбуждения и торможения (Donoghue et al., 2020), и можно предположить, что перспективны для стимуляции локации внутри ядра характеризуются особым соотношением возбуждения и торможения.

Наши результаты позволяют предварительно предложить рекомендации по подбору контактов для стимуляции. Для стимуляции следует выбирать те контакты, где максимальны значения параметров с прямой с улучшением (например, средняя мощность в низкочастотном бета-поддиапазоне), и минимальны – параметров с обратной связью с улучшением (например, все параметры пачек в альфа-диапазоне).

Список литературы

1. Strelow, J. N. et al. // Local Field Potential-Guided Contact Selection Using Chronically Implanted Sensing Devices for Deep Brain Stimulation in Parkinson's Disease. *Brain Sci.* 2022, 12, 1726.
2. Donoghue, T. et al. // Parameterizing neural power spectra into periodic and aperiodic components. *Nat. Neurosci.* 2020, 23, 1655–1665.
3. Feldmann, L. K. et al. // Toward therapeutic electrophysiology: beta-band suppression as a biomarker in chronic local field potential recordings. *Npj Park. Dis.* 2022, 8, 44.
4. Tinkhauser, G. et al. // The modulatory effect of adaptive deep brain stimulation on beta bursts in Parkinson's disease. *Brain* 2017, 140, 1053–1067.
5. Belova, E. M., Semenova, U., Gamaleya, A. A., Tomskiy, A. A. & Sedov, A. // Alpha Oscillations in the Subthalamic Nucleus Interfere with Motor Functions in Patients with Parkinson's Disease. in *Advances in Cognitive Research, Artificial Intelligence and Neuroinformatics* (eds. Velichkovsky, B. M., Balaban, P. M. & Ushakov, V. L.) Springer International Publishing, 2021, V.1358. 560–570.

АЛЬФА ОСЦИЛЛЯЦИИ СУБТАЛАМИЧЕСКОГО ЯДРА ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА В ПОКОЕ И ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ДВИЖЕНИЙ

Незвинский А.А.¹, Белова Е.М.¹, Сайфулина К.Э.¹, Гамалея А.А.²,
Седов А.С.¹

¹ФГБУН ФИЦ химической физики им. Н.Н. Семенова РАН.

²Исследовательский центр нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко.

Введение

Общепринятым электрофизиологическим маркером болезни Паркинсона является стабильная осцилляторная нейронная активность в базальных ганглиях, в частности, в субталамическом ядре (СТЯ), на частотах 8-30 Гц [1]. Кроме того, известно, что выполнение произвольных движений сопровождается краткосрочным снижением степени бета синхронизации в базальных ганглиях [2,3]. Выраженность ритмической синхронизации и динамику осцилляторной активности возможно изучать как на уровне потенциалов локального поля (LFP), так и на уровне отдельных нейронов при помощи микроэлектродной регистрации [4,5]. Особенности изменения альфа осцилляций при выполнении движений пациентами, особенно на микроэлектродном уровне, до сих пор не изучены. Задачей настоящего исследования было исследование осцилляций субталамического ядра пациентов с болезнью Паркинсона в покое и при выполнении движений.

Методы

В исследование были включены 9 пациентов (3 женщины и 6 мужчин, средний возраст 53,3 года \pm 7,4 года, от 44 до 65 лет) с акинетико-ригидной формой болезни Паркинсона, прошедших операцию глубинной стимуляции мозга (DBS).

Выраженность двигательных нарушений пациентов в OFF-состоянии (спустя не менее 12 часов после последнего приема препаратов леводопы) оценивалась неврологами по шкале UPDRS-III (Unified Parkinson's Disease Rating Scale) за день до проведения операции. Для уточнения границ субталамического ядра проводилось микроэлектродное исследование с

помощью вольфрамовых микроэлектродов ($R = 500-1000$ кОм). Регистрация нейронной активности начиналась с 10 мм до расчетной точки цели и осуществлялась с шагом 0,1-0,2 мм. Для определения моторной зоны субталамического ядра мы проводили двигательные тесты рукой, контралатеральной к исследуемому полушарию, запускаемые с помощью речевых команд.

Анализ нейрограмм осуществлялся при помощи метода полной спайковой активности (entire spiking activity, ESA) [6], который состоял в применении функции расчета абсолютного значения ко всем нейрограммам. Далее, вычислялись интегральные значения процента спектральной плотности мощности (% СПМ) спонтанной и вызванной активности в трёх частотных диапазонах: альфа- (7-12 Гц), низком бета- (12-20 Гц) и высоком бета- (20-30 Гц) для каждой записи. Затем, вычислялись разности для вызванной и спонтанной активности для каждой глубины в трех частотных диапазонах.

Для выявления фактора, влияющего на вариативность мощностей осцилляций в разных частотных диапазонах в покое и при выполнении двигательных тестов, мы использовали линейную модель со смешанными эффектами. Фиксированными эффектами в модели были выбраны частотные диапазоны, тип активности (спонтанная или вызванная) и взаимодействие между ними. Значения мощности осцилляций были логарифмированы для обеспечения нормального распределения остатков модели. Нормальность распределений проверяли тестом Шапиро-Уилка.

Результаты

Всего было отобрано и проанализировано 50 нейрограмм, содержащих ритмическую активность. Статистический анализ с использованием смешанной модели показал, что помимо значимости фактора частотного диапазона ($F(2,286) = 26.7523$, $p < 0.001$), на уровне тенденции значим фактор взаимодействия частотного диапазона и типа активности ($F(1,286) = 2.4436$, $p = 0.09$). Тест Шапиро-Уилка показал незначимое отличие распределения остатков линейной модели от нормального ($p > 0.1$).

Пост-хок тест показал, что мощность осцилляций в покое и при выполнении движения значимо различается только для альфа-диапазона ($p=0.007$), в низком и высоком бета диапазонах различий не наблюдается ($p=0.95$ и $p=0.93$ соответственно).

Таким образом, медианное значение (с перцентилем 25-75%) %СПМ альфа осцилляций снижается с 4,79 (3,17- 9,89) в покое до 3,68 (2,60 - 6,92) на интервале выполнения двигательных тестов. Значения осцилляций в низком бета диапазоне составили 5,00 (2,99 - 7,41) и 4,63 (2,98 - 8,18), в высоком бета диапазоне: 3,03 (2,35 - 4,06) и 2,98 (2,20 - 3,99), соответственно (рис. 1 (а)).

При этом важно отметить, что наибольшая выраженность подавления альфа-активности при выполнении движения наблюдалась на глубинах записи с высокими значениями спонтанной ритмической активности (рис. 1 (б)).

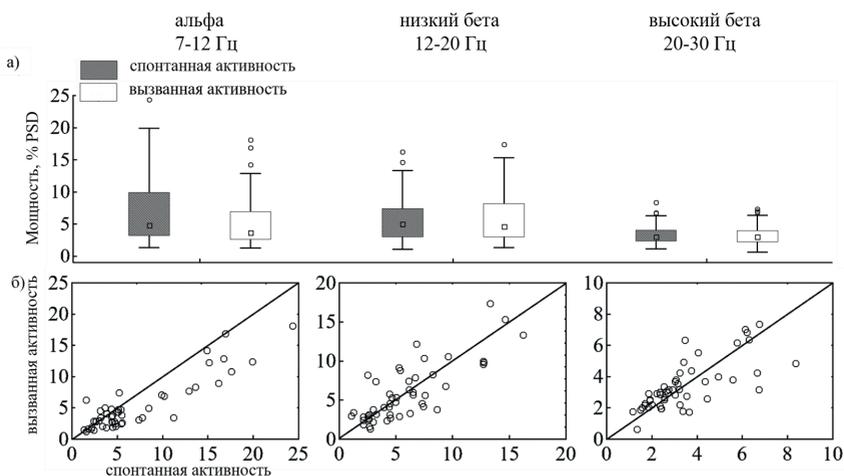


Рис. 1. Для трех частотных диапазонов показаны

- Сравнение мощности спонтанной и вызванной активности всей выборки
- Сопоставление мощности спонтанной и вызванной активностей на каждой глубине

Выводы

Снижение альфа активности при выполнении движений, в то время как в бета-диапазоне подобных изменений не наблюдается, может указывать на

вероятное различное функциональное значение альфа и бета осцилляций в двигательном контроле.

Литература

1. Hammond, C., Bergman, H., Brown, P. // Pathological Synchronization in Parkinson's Disease: Networks, Models and Treatments. Trends in Neurosciences , 2007, 30 (7), 357–364.
2. Steiner, L. A., Neumann, W.-J., Staub-Bartelt, F., Herz, D. M., Tan, H., Pogosyan, A., Kuhn, A. A., Brown, P. // Subthalamic Beta Dynamics Mirror Parkinsonian Bradykinesia Months after Neurostimulator Implantation: STN Beta Dynamics Mirror Parkinsonian Bradykinesia. Movement Disorders. 2017, 32
3. Bichsel, O., Gassert, R., Stieglitz, L., Uhl, M., Baumann-Vogel, H., Waldvogel, D., Baumann, C. R., Imbach, L. L. // Functionally Separated Networks for Self-Paced and Externally-Cued Motor Execution in Parkinson's Disease: Evidence from Deep Brain Recordings in Humans. NeuroImage. 2018, 177, 20–29.
4. Kühn, A. A., Trottenberg, T., Kivi, A., Kupsch, A., Schneider, G.-H., Brown, P. // The Relationship between Local Field Potential and Neuronal Discharge in the Subthalamic Nucleus of Patients with Parkinson's Disease. Experimental Neurology, 2005, 194 (1), 212–220.
5. Marmor, O., Valsky, D., Joshua, M., Bick, A. S., Arkadir, D., Tamir, I., Bergman, H., Israel, Z., Eitan, R. // Local vs. Volume Conductance Activity of Field Potentials in the Human Subthalamic Nucleus. Journal of Neurophysiology, 2017, 117 (6), 2140–2151.
6. Drebitz, E., Schledde, B., Kreiter, A. K., Wegener, D. Optimizing the Yield of Multi-Unit Activity by Including the Entire Spiking Activity. 2019

АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ DBS ПО НЕЙРОННОЙ АКТИВНОСТИ БЛЕДНОГО ШАРА

Джалагония И.З.¹, Усова С.В.¹, Гамалея А.А.², Томский А.А.², Седов А.С.¹

¹Федеральный исследовательский центр химической физики имени Н.Н.Семенова Российской академии наук, Москва, Россия.

²Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко, Москва, Россия.

Глубинная стимуляция мозга (DBS) является перспективным методом лечения пациентов с болезнью Паркинсона, эссенциальным тремором, дистонией и другими двигательными нарушениями. Важными преимуществами DBS являются обратимость его эффектов и возможность подбора индивидуальных параметров для каждого пациента. Правильная локализация электрода и настройка DBS значительно улучшают его клиническую эффективность. Большое количество комбинаций параметров DBS стимуляции, а также отсутствие быстрого клинического эффекта у пациентов с дистонией может сильно увеличивать время оптимальной настройки. На сегодняшний день подбор оптимальных параметров основывается на клинических проявлениях в ответ на глубинную стимуляцию. Для повышения качества и скорости настройки параметров DBS необходимо исследовать нейронные корреляты, связанные с клинической эффективностью стимуляции бледного шара у пациентов с дистонией.

В настоящей работе мы проанализировали одиночную активность 1883 нейронов внешнего (GPe) и внутреннего (GPi) сегментов бледного шара у 31 пациента. Данные были получены с помощью микроэлектродной регистрации (МЭР) во время стереотаксических операций по имплантации DBS электродов, проводимых в Центре нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. После сортировки спайков одиночных нейронов мы исследовали 29 параметров, описывающих паттерн и ритмические характеристики нейронов. Далее была проанализирована активность нейронов, попадающих в зону стимуляции с учетом клинического эффекта. Тяжесть дистонии и клинический эффект

оценивались с применением шкалы Burke-Fahn-Marsden Dystonia Rating Scale (BFMDRS).

С применением методов машинного обучения мы определили значимые параметры нейронной активности бледного шара для прогнозирования эффективности DBS стимуляции. Полученная модель выявила, что наиболее важными показателями являются частота пачек импульсов, медианное значение расстояния между импульсами, индекс осцилляции в альфа диапазоне (8-12 Гц), средний межимпульсный и межпачечный интервал. Мультипараметрический анализ показал корреляцию активности GPi нейронов и отсутствие корреляции GPe нейронов с эффективностью DBS лечения. Мультипараметрический анализ нейронной активности GPi показал корреляцию частоты и вариативности импульсаций, а также тета и гамма ритмов с тяжестью дистонии и клиническим эффектом.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности и важности использования данных электрофизиологической активности внутреннего сегмента бледного шара для прогнозирования и повышения клинической эффективности глубокой DBS стимуляции этого ядра и лечения дистонии.

ЭНТРОПИЙНЫЙ ПОДХОД К ПРЕДСКАЗАНИЮ ЭФФЕКТИВНОСТИ СТИМУЛЯЦИИ ГЛУБИННЫХ СТРУКТУР МОЗГА У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА

**Захаров Н.И.^{1,2}, Белова Е.М.¹, Гамалея А.А.³, Томский А.А.³,
Седов А.С.^{1,2}**

¹ Федеральный исследовательский центр химической физики имени Н.Н. Семенова Российской академии наук, г.Москва, Россия

² ФГАОУ ВО "Московский физико-технический институт" (национальный исследовательский университет), Москва, Россия

³ Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н.Бурденко, г.Москва, Россия

Болезнь Паркинсона – хроническое прогрессирующее заболевание головного мозга, поражающее дофаминергические нейроны черной субстанции базальных ганглиев. Проявлениями болезни Паркинсона могут в разной степени являться следующие двигательные нарушения: тремор, гипокинезия, мышечная ригидность, постуральная неустойчивость. Поражение дофаминергических нейронов парализует передачу нейрональной информации о движении из коры головного мозга через базальные ганглии в таламус по прямому пути и активизирует вовлечение в данный процесс непрямого пути, в который включено субталамическое ядро.

На сегодняшний день одним из наиболее перспективных и успешных методов лечения болезни Паркинсона является глубокая стимуляция мозга (Deep Brain Stimulation, DBS). Результат хирургической имплантации DBS-электрода зависит от правильной его локализации. Для этого необходимо определить типы нейронов, находящиеся в области, где достигается наиболее эффективная стимуляция.

Целью данной работы является применение энтропии Шеннона к описанию нейронной активности с целью выявления различий между зонами субталамического ядра, выбранными для установки DBS-электрода, и областями, показывающими незначительное улучшение при тестовых стимуляциях.

Исследуемые данные получены в процессе проведения операций по установке DBS-электрода пациентам с болезнью Паркинсона в субталамическом ядре. Для определения точной локализации данной структуры используют микроэлектродную регистрацию (МЭР), позволяющую исследовать активность одиночных нейронов. В процессе анализа использовались данные об активности нейронов, локализованных вдоль нескольких потенциальных траекторий проведения стимуляции, одна из которых в последствии была выбрана для установки DBS-электрода. Далее для каждого нейрона были рассчитаны параметры спайковой активности, ранее определенные коллегами из лаборатории клеточной нейрофизиологии человека ФИЦ ХФ РАН.

Был реализован метод расчета энтропии Шеннона [1] энтропийного анализа записей импульсной активности нейронов субталамического ядра головного мозга пациентов с болезнью Паркинсона. Расчет информационной энтропии Шеннона производился по формуле:

$$S = -\sum_i P(x_i) \ln(P(x_i)) \quad (1)$$

где:

x_i – случайное событие, представляющее собой набор символов из «--», «-», «о», «+», «++» заданной длины. Каждый из символов показывает степень отличия соседних межспайковых расстояний (межспайковое расстояние (Interspike Interval; ISI) – расстояние между двумя соседними импульсациями; рассматривается ISI_{i+1} в сравнении с ISI_i) рассчитанную по следующему принципу:

«--»: $ISI_{i+1} < 30\% ISI_i$

«-»: $30\% ISI_i \leq ISI_{i+1} < 90\% ISI_i$

«о»: $90\% ISI_i \leq ISI_{i+1} \leq 110\% ISI_i$

«+»: $110\% ISI_i < ISI_{i+1} \leq 170\% ISI_i$

«++»: $170\% ISI_i < ISI_{i+1}$

$P(x_i)$ – вероятность наблюдения в строке относительных изменений межспайковых расстояний (строится на основе записи импульсной активности

нейронов) события x_i , определяемая как отношение числа вхождений набора x_i в строку относительных изменений межспайковых расстояний.

Данный метод был использован для определения отличий в активности одиночных нейронов между выбранными и проигнорированными траекториями для установки DBS-электрода в субталамическом ядре у пациентов с болезнью Паркинсона во время операций.

Результаты расчета информационной энтропии и сравнение ее с распространенными параметрами нейронной активности, такими как частота импульсаций, коэффициент вариации, осцилляторная активности в диапазоне 20-30Гц [2-5] позволили выявить статистически значимое различие ($p < 0,05$) между исследуемыми траекториями. При этом энтропия была выше для траекторий, которые не были выбраны для установки DBS-электрода по результатам тестовых стимуляций. Также была показана достоверная положительная корреляция получаемой энтропии с изменением оценки тяжести заболевания у пациентов с болезнью Паркинсона при приеме леводопы.

Таким образом показана возможность использования информационной энтропии Шеннона как дополнительного параметра исследования одиночной активности нейронов.

Литература

1. Sherry, C. J., Klemm, W. R. // Entropy as an Index of the Informational State of Neurons, *Int. J. Neurosci.* 1981. V. 15. P. 171.
2. Koirala, N., Serrano, L., Paschen, S. et al. // Mapping of subthalamic nucleus using microelectrode recordings during deep brain stimulation, *Sci Rep.* 2020. V. 10. P. 19241.
3. Myrov V., Sedov A., Salova E., Tomskiy A., Belova E. // Single unit activity of subthalamic nucleus of patients with Parkinson's disease under local and generalized anaesthesia: Multifactor analysis, *Neurosci Res.* 2019. V. 145. P. 54.
4. Myrov V., Sedov A., Tomskiy A., Myrova L., Belova E. // Chapter 25 - A new approach for estimation of spiketrain patterns in basal ganglia, *Prog Brain Res.* 2019. V. 249. P. 321.
5. Belova E., Filyushkina V., Dzhalagoniia I., Gamaley A., Tomskiy., Neumann. W.-J., Sedov A. // Oscillations of pause-burst neurons in the STN correlate with the severity of motor signs in Parkinson's disease, *Exp. Neurol.* 2022. V. 356. P. 114155.

БИОТЕСТИРОВАНИЕ КАК ИНТЕГРАЛЬНЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ КАЧЕСТВА ПРИРОДНЫХ И СТОЧНЫХ ВОД

Швыдкий В.О.^{1,2}, Травин С.О.¹, Штамм Е.В.¹, Шишкина Л.Н.²

1. *Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, ул. Косыгина, д.4, Москва, 119991 (Россия)*
2. *Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, ул. Косыгина, д.4, Москва, 119334 (Россия)*

В процессе развития химических технологий создаются новые органические вещества, роль которых в окружающей среде не ясна, а порой и опасна. Аналитический контроль потенциально опасных соединений в реальном времени практически не возможен, так как их количество исчисляется миллионами. Загрязнению последовательно подвергаются все формы окружающей среды: вода, воздух, почва.

В частности, если рассматривать природную водную среду как среду жизнедеятельности водных организмов, а не технологический раствор в промышленности, то в первую очередь встают вопросы её биологической полноценности. А ответом может служить только отклик гидробионтов, для которых вода является жизненно важной средой обитания. Этот подход распространяется также на воздушную и почвенную среду, где существуют другие живые биологические объекты, адаптированные к своим биологически чистым условиям.

Исторически сложились три основных подхода к оценке качества воды с использованием биообъектов. Это методы биодиагностики: биоиндикация, биомаркирование и биотестирование. Это отдельные направления в оценке качества природных вод. Для определения качества воды целесообразно применять методы биотестирования, использующие биотесты из разных звеньев трофической цепи. Использование в комплексе двух-трех разных биотеста позволяет достоверно определить токсичность водной среды.

В частности, благодаря токсикологическим исследованиям качества воды в р. Волга с использованием в качестве тест-объекта инфузории *Tetrahymena*

pyriformis, нам удалось предсказать за сутки наступление токсичного редокс-состояния волжской воды, приводящего к массовой гибели личинок севрюги [1]. А совместное применение биотестов инфузории *Tetrahymena pyriformis* и светящихся бактерий «Биотест-Эколом» позволило определить реальную эффективность детоксикации водных растворов гербицида «Раундап» под действием УФ-излучения в сочетании с озонированием [2].

Также ранее было изучено влияние черного щелока (отходы переработки целлюлозы) на разные биологические объекты. При сравнительном анализе методов биотестирования определены его минимальные токсичные концентрации для отдельных биотестов [3].

Для совершенствования метода биотестирования с биотестом *Tetrahymena pyriformis* в рамках Договора о научно-техническом сотрудничестве ИБХФ РАН и ФИЦ ХФ РАН от 2019 г сотрудниками наших институтов разработан метод фото и видео фиксации живых инфузорий *Tetrahymena pyriformis* с последующим компьютерным подсчетом программой Paracount_7.

Литература

1. E.V. Shtamm. //Redox state of water fish reproduction Proceedings of the first all-union workshop on ecological chemistry of natural waters, October 24-26, 1985, Kishinev. Centre for International Projects, GKNT, Moscow, 1988. P. 279-295.]
2. Y.V. Vakhterova, L.V. Avdeeva, M.E. Zimens, V.O. Shvydkii, E.A. Machigov, A.T. Lebedev, E.V. Shtamm, E.G. Cheremnykh, S.K. Abilev, E.A. Saratovskikh // Roundup (glyphosate): Products of photochemical decomposition and their toxicity and genotoxicity, Sustainable Chemistry and Pharmacy, 32(2023),100957
3. Shtamm E.V., Frog B.N., Skurlatov Yu.I. et all. //Acta hydrochim. Hydrobiol. 2002. V. 30 (5-6). P. 256-265.

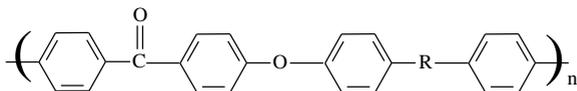
АНАЛИЗ ТЕРМОДЕСТРУКЦИИ ПОЛИАРИЛЕНКЕТОНОВ В НЕИЗОТЕРМИЧЕСКОМ РЕЖИМЕ В ШИРОКОМ ИНТЕРВАЛЕ ТЕМПЕРАТУР МЕТОДОМ ТЕРМОГРАВИМЕТРИИ

М. С. Шебанов, В. Б. Иванов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН

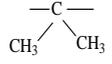
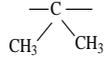
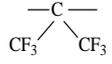
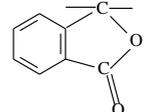
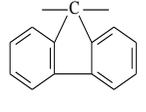
Поиск и получение новых материалов с заданными свойствами – актуальная задача в течение всего времени существования человечества. Конъюнктура рынка новых материалов в большой степени определяется социальными процессами, происходящими в обществе. Улучшение качества и создание новых материалов невозможно без всестороннего изучения их свойств. Разработка термостойких полимеров началась еще в 60-х годах прошлого века [1]. Расширение областей применения этих материалов и возрастание требований к их характеристикам стимулирует и в настоящее время интерес исследователей к созданию дальнейшему их изучению и созданию новых [2]. Одной из наиболее важных задач в этой области является разработка растворимых термостойких полимеров, позволяющих получать покрытия с высокими эксплуатационными характеристиками.

В работе проводились исследования ПАЭК, синтезированные в ИНЭОС имени А.Н. Несмеянова РАН [3] и имеющее следующее строение:



Структура фрагментов -R- приведена в таблице 1.

Таблица 1. Структура фрагмента -R- изученных полимеров

Условное обозначение полимеров	ПАЭК-1*	ПАЭК-2	ПАЭК-3	ПАЭК-4	ПАЭК-5
-R-					

*Концевые группы полимера не блокированы. У остальных полимеров концевые группы блокированы 4,4'-дифторбензофеноном.

Выбор ПАЭК в качестве объекта исследования был сделан на основании предварительной оценки [3], указывающей на высокую термостойкость этих полимеров. Цель этих исследований – выявление влияния структуры полимера на кинетические особенности деструкции и определение значений энергии активации, позволяющих прогнозировать скорости процессов в широком температурном интервале.

В качестве основной методики изучения деструкции для решения этой главной задачи был выбран термогравиметрический анализ (ТГА) в его динамическом варианте, так как он является одним из немногих способов исследования процессов в широком температурном интервале вплоть до глубоких степеней деструкции за относительно небольшое время [4].

Изучение термодеструкции ПАЭК проводили с использованием установки синхронного термического анализа модели STA 449 F5 Jupiter фирмы NETZESCH при скорости подъема температуры 2, 5, 10 или 20 К/мин в токе синтетического воздуха (20% O₂, 80% N₂).

При моделировании процесса потери массы и оценке кинетических параметров процесса применяли программное обеспечение FITTER [2].

Полученные нами кинетические кривые потери массы при нагревании изученных образцов ПАЭК имеют сложный вид, что может свидетельствовать о том, что процесс состоит не из одной, а из нескольких стадий. Особенно хорошо это видно при дифференцировании кинетических кривых, полученных при небольших (2 или 5 К/мин) скоростях нагрева. Так, например, для ПАЭК-1 четко выделяются две стадии (рис. 1, кривые 1 и 1'). Исключение составляет образец ПАЭК-3, для которого формально определяется только одна стадия (рис. 1, кривые 2 и 2'). Однако таким простым способом, как будет показано ниже, идентифицировать отдельные стадии очень трудно, а часто оказывается и невозможно.

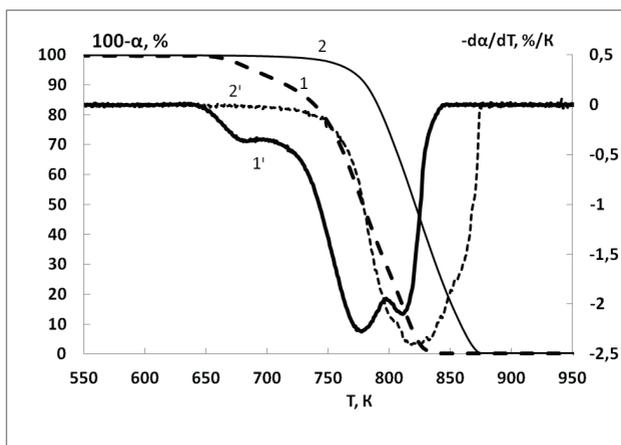


Рис. 1. Кинетические кривые потери массы ПАЭК-1 (1) и ПАЭК-3 (2) при скорости нагрева 2 К/мин и их первые производные (1' и 2').

Детальный анализ кинетики термодеструкции изученных полимеров показал, что потеря массы только одного полимера, ПАЭК-2, протекает как процесс с хорошо разделяющимися стадиями, точнее с четко выделяющейся 1-ой стадией, при всех скоростях нагрева (рис.2), но и в этом случае определить максимальную скорость можно только для первой, низкотемпературной стадии.

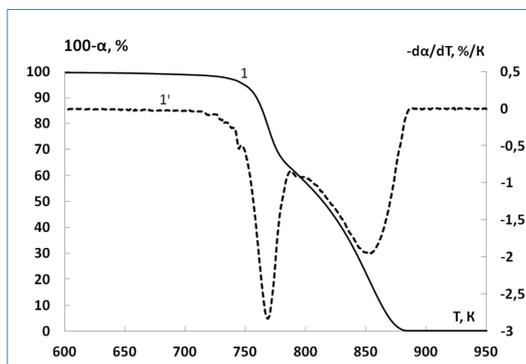


Рис. 2. Кинетическая кривая потери массы ПАЭК-2 (1) и ее первая производная (1')

Нами показано, что методом Киссинджера [5] с использованием уравнения (1):

$$\ln(\beta_i/T_{i,max}^2) = \ln(AR/E_a) - E_a/(R T_{i,max}) \quad (1)$$

где E_a – энергия активации процесса, $T_{i,max}$ – температура максимальной скорости потери массы, β_i – скорость нагрева при i -той температурной программе; R – газовая постоянная, $A = \text{const}$.

С приемлемой точностью можно оценить энергию активации только 1-ой стадии деструкции ПАЭК-2, которая составила 302 кДж/моль (рис. 3, $R^2 = 0.99$), что является подтверждением высокой термостойкости этого полимера. Для остальных полимеров оценка энергии активации методом Киссинджера даже 1-ой стадии имеет слишком приближенный характер или невозможна совсем.

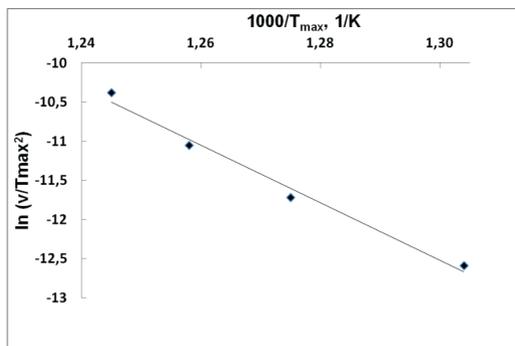


Рис. 3. Зависимость максимальной скорости потери массы первой стадии деструкции ПАЭК-2 от температуры в координатах уравнения 1.

Для расчета энергии активации остальных полимеров был применен модифицированный метод Киссинджера, сокращенно обозначаемый аббревиатурой KAS (Kissinger-Akahira-Sunose) [5].

В этом интегральном изоконверсионном методе предполагается наличие однозначной связи между температурой, при которой достигается заданная степень конверсии, и скоростью нагрева.

Эта зависимость выражается следующим уравнением (2)

$$\ln(\beta_i/T_{a,i}^2) = \text{const} - E_{a,a}/(RT_{a,i}) \quad (2)$$

где β_i – скорость нагрева при i -той температурной программе, $T_{a,i}$ – температура, при которой достигается степень конверсии a при заданном значении β_i , $E_{a,a}$ – энергия активации процесса при степени конверсии a , R – универсальная газовая постоянная. Таким образом, энергия активации может быть определена для любой степени конверсии, а, следовательно, и для любой стадии процесса деструкции.

На рис. 4 приведены полученные нами зависимости энергии активации от степени конверсии двух полимеров ПАЭК -1 (1) и ПАЭК-2 (2) при небольших степенях конверсии ($a \leq 10\%$).

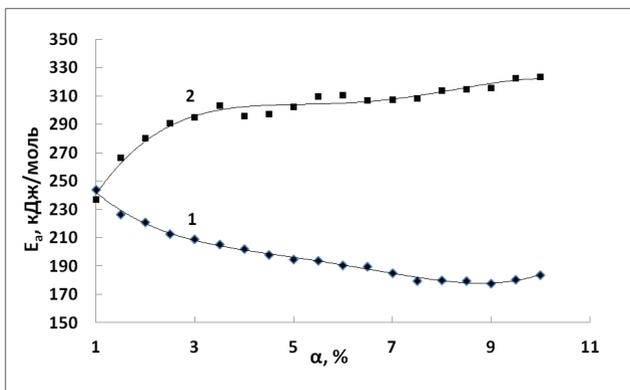


Рис. 4. Зависимости оцениваемых по уравнению (2) значений энергии активации деструкции ПАЭК -1 (1) и ПАЭК-2 (2) от степени конверсии при $0 \leq a \leq 10\%$.

Как видно из графика, при малых степенях конверсии ($\sim 1\%$) значения $E_{a,a}$ для этих полимеров практически совпадают, а при увеличении степени конверсии разница в их значениях увеличивается (рис. 4). Учитывая, что ПАЭК-1 отличается от ПАЭК-2 главным образом отсутствием блокировки концевых групп, можно полагать, что для ПАЭК-1 на начальной стадии преобладает деполимеризация по концам макромолекул. Для ПАЭК-2 на начальном этапе, по-видимому, преобладают процессы с участием метильных групп, как это

можно ожидать по аналогии с термодеструкцией поликарбоната на основе Бисфенола А, а также структурирование с образованием поперечных связей, препятствующее образованию и выделению низкомолекулярных фрагментов.

При более высоких степенях конверсии ($10 < a < 20\%$) величины $E_{a,a}$ деструкции ПАЭК-1 почти не изменяются, а при еще более высоких ($40 < a < 80\%$) существенно снижаются (рис. 5). Для остальных изученных полимеров, ПАЭК-3, ПАЭК-4 и ПАЭК-5, энергия активации, рассчитанная методом KAS, с увеличением степени конверсии также сначала возрастает, а затем снижается.

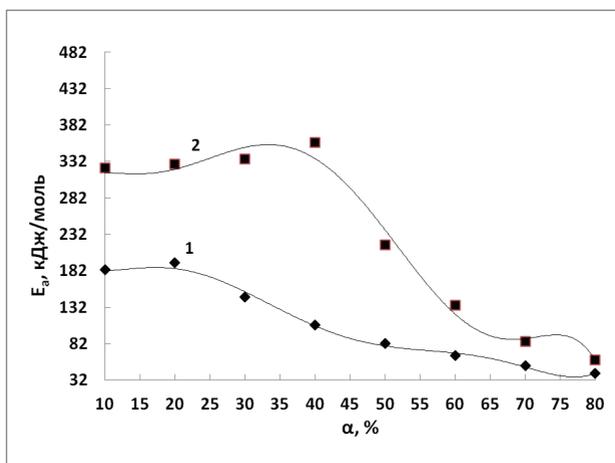


Рис. 5. Зависимости оцениваемых по уравнению (2) значений энергии активации деструкции ПАЭК -1 (1) и ПАЭК-2 (2) от степени конверсии при $10 \leq a \leq 80\%$.

В результате обработки данных показано, что энергии активации для 1-ой стадии деструкции ПАЭК-2, рассчитанные методом Киссинджера (308 кДж/моль) и методом KAS (302 кДж/моль при $a = 5\%$) практически совпадают. Это очередной раз подтверждает возможность использования упрощенного, но физически более простого и понятного метода Киссинджера, для

определения энергий активации процессов деструкции с одной или с четко разделяющимися несколькими стадиями.

Для оценки термической стабильности полимеров, наряду с энергией активации, используют и так называемую температуру начала разложения полимера, а также температуры достижения небольших степеней конверсии (обычно от 1 до 5%). Эти температуры фактически характеризуют индукционные периоды деструкции, в то время как энергия активации должна определять скорость развивающегося (или развившегося) процесса. Поэтому важно понимать, имеет ли зависимость этих параметров от структуры полимера общий характер, или для каждого из них характерны свои зависимости. В таблице 2 приведены соответствующие значения температур для изученных полимеров. Видно, что устойчивость полимеров, оцениваемая по этим показателям, уменьшается в ряду: ПАЭК-5 \geq ПАЭК-3 > ПАЭК-2 > ПАЭК-4 > ПАЭК-1. Важно, что этот ряд сохраняется для каждой из степеней деструкции на начальных стадиях (для изученных полимеров при $2 \leq a \leq 5\%$).

Таблица 2. Энергии активации деструкции ПАЭК, рассчитанные методом KAS (E_a) при степени конверсии a и температуры (T) (значения в скобках), при которых достигается заданная степень конверсии a .

Полимер	E_a , кДж/моль, и T , К при степени конверсии a , %			
	2%	3%	5%	80%
ПАЭК-1	220,6 \pm 19,2 (671)	208,9 \pm 20,3 (677)	194,5 \pm 26,4 (688)	41,3 \pm 5,2 (807)
ПАЭК-2	285,1 \pm 28,8 (730)	295,0 \pm 22,0 (740)	308,1 \pm 28,2 (749)	59,4 \pm 12,7 (852)
ПАЭК-3	429,0 \pm 45,7 (747)	440,3 \pm 32,0 (756)	478,2 \pm 68,7 (767)	42,6 \pm 11,0 (847)
ПАЭК-4	241,6 \pm 62,6 (701)	279,3 \pm 58,3 (714)	311,1 \pm 66,4 (726)	35,1 \pm 5,7 (853)
ПАЭК-5	206,8 \pm 57,4 (750)	232,8 \pm 54,5 (766)	247,8 \pm 62,2 (779)	32,9 \pm 6,3 (906)

Из результатов, представленных в таблице 2 видно, что только в ряду ПАЭК аналогичной структуры (ПАЭК-1, ПАЭК-2 и ПАЭК-3) наблюдается симбатное увеличение температур достижения одинаковых степеней конверсии и возрастание энергии активации деструкции на начальных стадиях процесса (табл. 2). Таким образом, температуры достижения небольших степеней конверсии, как и следовало ожидать, в общем случае характеризуют только самую начальную стадию процесса, но не деструкцию на более глубоких стадиях.

В результате проведенных исследований было установлено следующее.

- Термодеструкция изученных полимеров представляет собой многостадийный процесс, стадии которого, даже при небольших скоростях нагрева, могут в заметной степени накладываться одна на другую. Поэтому значения энергии активации изменяются в широких пределах не только при изменении структуры полимера, но и в процессе деструкции.

- На начальных стадиях деструкции полимера с неблокированными концевыми группами (ПАЭК-1) преобладает деполимеризация и энергия активации уменьшается с увеличением степени конверсии. Деструкция ПАЭК-2 с блокированными концевыми группами на начальных стадиях протекает, по-видимому, как и поликарбоната, с участием метиленовых групп, поэтому их фторирование приводит к существенному повышению термостойкости.

- На глубоких стадиях, для всех изученных ПАЭК наблюдается значительное снижение энергии активации, свидетельствующее о преобладании деструкции и деполимеризации, облегчающих выделение летучих продуктов превращения макромолекул.

Настоящая работа была выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований РФ.

Список литературы

1. Коршак В.В. // Термостойкие полимеры. 1969. М. Наука. 411
2. Mehdipour-Ataei S., Tabatabaei-Yazdi S. // Heat resistance polymers. Encyclopedia of Polymer science and technology. 2015. Wiley.
3. Samoryadov A.V., Lukoshenko E.D., Kalugina E.V., Shaposhnikova V.V. // Investigation of Thermal Characteristics of Polyarylene Ketones. Russ. J. Gen. Chem. 2021. V. 91. P. S47-S42.
4. Saadatkhani N., Garcia A.C., Ackermann S. et al. // Experimental methods in chemical engineering: Thermogravimetric analysis – TGA, Can. J. Chem. Eng. 2020. V.98. No 1. P.34-43.
5. Vyazovkin S., Burnham A.K., Criado J.M. et al. Kinetics recommendations for performing kinetic computations on thermal analysis data // Thermochimica Acta. 2011. V.520. P.1-19.
6. Pomerantsev A.L., Kutsenova A.V., Rodionova O.Y. // Kinetic analysis of non-isothermal solid-state reaction: multi-stage modeling without assumption in reaction mechanism. Phys. Chem. Chem. Phys. 2017. V.19. No 5. P.3606-3615.
7. Kutsenova A.V., Ivanov V.B., Rodionova O.Y. et al. // A new approach to analyze the thermal degradation of polycarbonate. Russ. J. Phys. Chem. B. 2020. V.14. No 6. P.1042-1048.
8. Ivanov V.B., Bitt V.V., Solina E.V. et al. // Reversible and irreversible color change during photo and thermal degradation of polyphenylene sulfide composite. Polymers. 2019. No 1579.
9. Ivanov V.B., Zavodchikova A.A., Popova E.I., Lazareva O.L., Belova O.A., Kryuchkov I.A., Bykov E.V. // Accelerated testing of thermo-oxidative degradation of polyvinyl butyral. Thermochimica Acta. 2014. V.589. P.70-75.
10. Ivanov V.B., Solina E. V., Staroverova O.V., Popova E.I., Lazareva O.L., Belova O.A. // Influence of external condition on the relation between the physical and chemical processes in the thermodegradation of plasticized poly(vinyl chloride). Russian Journal of Physical Chemistry. B. 2017. V. 11. No 6. P. 978-984.

О ПОГЛОЩЕНИИ И ОПТИЧЕСКОМ УСИЛЕНИИ В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ

Федотов В. Г.

*Федеральный исследовательский центр химической физики им.
Н.Н.Семенова РАН, Москва, Россия*

Современные представления о поглощении видимого света в атмосфере опираются на существование «окна прозрачности атмосферы в диапазоне 0.3-1.5 мкм» (интернет). В согласии с этим находятся данные работы [1], авторы которой утверждают, что «малость поглощения атмосферного воздуха такова, что для его обнаружения необходимо применять либо оптический путь длиной в несколько км, либо повышать давление воздуха до десятков атмосфер».

В вопиющем противоречии с такими представлениями находятся результаты работы [2], посвященной изучению фотоиницируемой цепной реакции в воздухе. В работе [2] сообщали о наблюдении поглощения видимого света в воздухе, характеризуемого величиной 50% на 10 см оптического пути. В работе [2] была обнаружена лазерная генерация в воздухе, возбуждаемая в результате оптического поглощения столкновительными димольными комплексами кислорода, образующимися в воздухе. Присутствие стимулирующего излучения в атмосфере способно компенсировать поглощение света, возвращая в исследуемый световой луч поглощенные фотоны, что и способствует упомянутой выше трудной обнаружимости поглощения в воздухе.

Цель данной работы состоит в том, чтобы продемонстрировать, что наблюдать поглощение видимого света в атмосфере можно и не прибегая к оптическим путям в несколько км длиной или высоким давлениям. Достаточно уменьшить вклад стимулирующего излучения в изучаемый процесс.

Представим себе световой луч, поперечное сечение которого – круг диаметром D . Вне объема луча – неосвещаемая зона. Существуют следующие

возможности для возбужденных молекул, образующихся в зоне луча: 1) стимулированное излучение в направлении продольной оси луча; 2) спонтанное излучение в произвольном направлении. Во втором случае фотон покинет световой поток, представленный данным лучом, и окажется потерянным для измерения на выходе луча. При достаточно большом значении диаметра D этот фотон может оказаться поглощен прежде, чем он покинет объем луча. В этом случае его дальнейшая судьба будет вновь определяться конкуренцией спонтанного и стимулированного испусканий.

Вклад спонтанного излучения (и потеря фотонов) оказывается максимален вблизи цилиндрической границы светового луча. Наоборот, на оси луча максимальна вероятность стимулированного излучения. В итоге формируется колоколообразное распределение плотности фотонов в луче (см. Рис.1).



Рис. 1. Фото светового пятна на белом экране, полученные с применением фиолетового фильтра ФС-6 (правая часть рисунка) и без него (левая часть рисунка). Расстояние между экраном и фотокамерой составляло около 6 м.

Описанный выше механизм поглощения, учитывающий конкуренцию стимулированного и спонтанного испусканий в световом луче, проявляется и при наблюдении света уличного фонаря (Рис. 2).



Рис. 2. Фото уличного фонаря, сделанные с использованием светофильтра ФС-6 и без него с расстояния 5 м (нижняя пара изображений) и около 15 м (верхняя пара изображений).

Формирование инверсной населенности в концентрации возбужденных молекул в воздухе создает условия для оптического усиления и генерации световой энергии при фотоиницировании. Механизм этого явления связан с образованием молекул синглетного кислорода в зоне фотоиницирования. К синглетному кислороду ведут три процесса: 1) излучение эксиплексов $O(^1S)-N_2$ с последующим распадом на $O(^1D) + N_2$; 2) поглощение озона в полосе Чаппуса с распадом на $O_2(^1\Sigma) + O$; 3) рекомбинация $O + O_2 + O_2 \Rightarrow O_3 + O_2(^1\Delta)$. Молекулы синглетного кислорода образуют димер, который способен поглощать в видимой области, образуя в результате метастабильную молекулу

$O_2(A^3\Sigma)$ [3]. Эта возбужденная молекула присоединяется к молекуле азота, образуя эксиплекс с энергией 5.3 эВ, стимулированно излучающий два синих фотона с энергией 2.65 эВ [2]. Таким образом, поглощение одного фотона димером синглетного кислорода приводит к появлению двух фотонов. Заметим, что процессы 2) и 3) обеспечивают превращение химической энергии в световое излучение. Действительно, в результате процесса 3) выделяется энергия связи молекулы озон, но она не превращается в тепло, а идет на электронное возбуждение молекулы синглетного кислорода. В последующих процессах эта энергия превращается в энергию синих фотонов. Таким образом, поглощение одного фотона в полосе Чаппуса (440 нм – 850 нм) приводит к появлению синего фотона с энергией 2.65 эВ. Данная теория позволяет объяснить существование холодного слоя (с температурой около -70 град. Цельсия) в земной атмосфере на высоте 10-20 км. Причем выше и ниже этого слоя расположены более нагретые слои воздуха.

Проследим накопление синглетного кислорода в условиях, когда световой луч распространяется вдоль оси цилиндрического реактора с отражающими стенками. Причем диаметр луча меньше диаметра реактора. В результате спонтанного излучения из активной зоны луча фотон движется к отражающей стенке реактора. После отражения (или до него) фотон поглощается в воздухе с образованием возбужденной молекулы. После испускания этой молекулы образуется молекула синглетного кислорода, а испущенный фотон вновь отражается и поглощается. Процессы испускания, отражения и поглощения многократно повторяются, что ведет к накоплению синглетного кислорода. При достижении критической концентрации его развивается лавина синих фотонов вдоль реактора. На выходе из реактора световая энергия фотонов лавины добавляется к энергии фотоиницирующего светового луча. (Рис. 3 и подпись к нему).



Рис. 3. Увеличение излучаемой энергии без изменения энергии инициирования. В правой части рисунка помещено световое пятно на выходе из «иницирующего» реактора. Выходной торец этого реактора закрыт отражающей полупрозрачной пленкой, в которой прорезано квадратное отверстие. Излучение из этого отверстия попадает в «иницируемый» реактор, на выходе из которого наблюдали световое пятно, помещенное в левой части рисунка. Видно, что при одинаковой освещенности в обоих световых пятнах площадь пятна на выходе из «иницируемого» реактора оказалась больше. То есть увеличилась и излучаемая световая энергия.

Описанный выше механизм размножения фотонов позволяет записать уравнение баланса: $h\nu(\text{white}) \Rightarrow h\nu(\text{blue})$. То есть фотон (попадающий в полосу Чаппуса, охватывающую весь видимый диапазон и ближнюю ИК область) заменяется на синий фотон с энергией 2.65 эВ. Средняя энергия фотонов в полосе Чаппуса меньше энергии синих фотонов. Откуда берется добавок энергии? Как и всегда при осуществлении эндотермических процессов – из тепловой энергии среды. Температура воздуха в атмосфере на высотах 10-20 км составляет около -70 град Цельсия. Выше и ниже этого холодного слоя расположены более нагретые слои атмосферы. Описанный выше механизм позволяет объяснить существование данного холодного слоя в атмосфере.

Список литературы

1. Thalman R., Volkamer R.//Phys. Chem. Chem. Phys. 2013, v. 15, p. 15371-15381.
2. Fedotov. N.G., Fedotov V.G., Fedotova E.Y.// High Energy Chem. 2022, vol.56, No.5, pp.320-325.
3. И. В. Багров. // Дисс. на соискание ученой степени к.ф.-м.н. ГОИ им. С. И. Вавилова, Санкт-Петербург. 2016.

ИЗУЧЕНИЕ РАДИАЦИОННО-ХИМИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ СИСТЕМЫ КРОВИ ПРИ КОНТАКТЕ ОБЛУЧЕННЫХ И НЕОБЛУЧЕННЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ

**И.Н. Когарко¹, В.В. Петушкова^{1*}, Б.С. Когарко¹, Е.А. Нейфах¹,
О.В. Ктигорова¹, И.И. Ганеев¹, Н.С. Кузьмина¹, Е.И. Селиванова¹**

1 *Федеральный исследовательский центр химической физики*
им. Н.Н. Семёнова Российской академии наук
**E-mail: vladapetushkova@yandex.ru*

В настоящее время проблема влияния ионизирующей радиации (ИР) на организм и возможность передачи радиационно-индуцированных изменений от облученных интактным индивидам рассматривается с пристальным вниманием многими исследователями. Ряд данных подтверждает возможность передачи изменений, вызванных радиацией в облученном организме, к необлученному [1-3].

Ранее было показано, что клетки, подвергнутые действию ИР, обладают способностью генерировать сигналы взаимодействия и впоследствии вызывать биологические изменения в прилежащих и отдаленных необлученных клетках [1]. Это явление, при котором в результате межклеточного взаимодействия или выработки специфических факторов облученными клетками соседние необлученные клетки и ткани отвечают на радиационное воздействие, получило название «эффектов свидетеля» (ЭС). Было установлено, что «эффекты свидетеля» вызывают широкий спектр разнообразных изменений в клетках – «свидетелях», сходных с регистрируемыми непосредственно в облученных клетках. Среди них: сестринские хроматидные обмены, образование микроядер, апоптоз, геномная нестабильность, митохондриальная дисфункция и другие. Считалось, что ЭС реализуются в пределах тканей одного органа. Реакции клеток тканей, находящихся на удалении от места облучения, получили название абскопальных эффектов (АЭ). Механизмы АЭ еще менее изучены и

предполагается участие в их реализации иммунной системы и гуморальных факторов.

Целью данной работы является нахождение изменений в результате взаимодействия необлучённых и облучённых животных в костном мозге, селезёнке и тимусе мышей на 90-сутки после облучения в различных условиях (тактильный и обонятельный контакт). Мы предполагали получить новые данные о наличии «эффекта свидетеля» и «эффекта спасения» при вышеуказанных условиях эксперимента для понимания и выработки рабочей гипотезы по вопросу передачи изменений между организмами.

Материалы и методы.

Исследование выполнено на 60 беспородных мышах-самках. В опыте использовали здоровых животных, не подвергавшихся ранее другим экспериментальным воздействиям. Группы формировали методом сплошной выборки. При проведении экспериментальных процедур соблюдались соответствующие международные правила работы с животными. Животные ($n = 20$) были облучены в дозе 3 Гр на исследовательской гамма-установке радиобиологической ИГУР-1М с 4 источниками ^{137}Cs , мощность дозы 0.79 Гр/мин, неравномерность $\dot{\gamma}$ -поля в рабочем пространстве не более 5%. Поглощенная доза для мышей составила 3.0 Гр. Мыши были рассажены в четыре клетки, в каждой из которых находилось по пять облученных мышей и по пять необлученных (мыши – «свидетели», $n = 20$). В двух из четырех клеток, облученные и необлученные мыши могли свободно контактировать друг с другом. В двух других клетках мыши облученной и необлученной групп были разделены металлической сеткой, что исключало их тактильный контакт. Для контроля были использованы группа интактных особей ($n = 10$) и группа облученных животных ($n = 10$), каждая из которых содержалась в отдельной клетке. Было получено 6 экспериментальных групп. Эксперимент продолжался 3 месяца.

Для решения поставленных задач был проведён анализ состояния костного мозга, селезенки и тимуса у облученных мышей, и необлучённых

животных – «свидетелей» при совместном содержании через 90 сут. после начала эксперимента. На 90 сутки после облучения проводили забой животных, выделяли и взвешивали селезенку, тимус, из бедренной кости вымывали костный мозг. Определяли количество ядродержащих клеток в костном мозге, селезенке, тимусе при помощи гемоцитометра Пикоскель PS-4. Статистический анализ проводили с помощью t-критерия Стьюдента. Различия принимали статистически значимыми при вероятности 0-гипотезы $p < 0.05$. Для сравнительного анализа полученных данных выделили следующие воздействующие факторы: гамма-облучение; срок после начала эксперимента; «фактор контакта» – вид контакта между облученным и необлученным животным.

Результаты.

Анализ состояния костного мозга, селезенки и тимуса у экспериментальных животных включал оценку массы селезенки и тимуса, а также количества ядерных клеток в костном мозге, селезенке и тимусе у мышей.

Масса селезенки в группе биологического контроля составила 111 ± 8 мг. Была выявлена тенденция к увеличению массы селезенки в группе необлученных животных, которые содержались совместно с облученными животными, как без перегородки, так и с перегородкой. В группе облученных животных, содержащихся с необлученными без перегородки и с перегородкой, наблюдалось уменьшение массы селезенки по сравнению с гамма - контролем.

Масса тимуса у мышей в группе биологического контроля составила 27.2 ± 1.9 мг. Статистически значимое снижение этого показателя было зарегистрировано в группах облученных мышей и в группе необлученных мышей, которых содержали в одной клетке с облученными без перегородки.

При анализе количества ядерных клеток в костном мозге было выявлено, что в группе биологического контроля этот показатель составил 21.0 ± 1.0 млн. ЯСК/бедро (Рис. 1). Облучение мышей в дозе 3 Гр (группа гамма-контроль)

привело к статистически значимому ($t = 2.78$; $p = 0.01$) снижению показателя на 17% по сравнению со значением показателя в группе биологического контроля на 90-е сутки после облучения. Снижение этого показателя было зарегистрировано также в группе необлученных животных - «свидетелей», которых содержали с облученными мышами в одной клетке без перегородки ($t = 2.58$; $p = 0.02$). Более низкое значение количества ядерных клеток в костном мозге было зарегистрировано также в группе облученных мышей, которых содержали в одной клетке с необлученными животными-свидетелями без перегородки по сравнению с группой биологического контроля, однако это значение не отличалось от показателя в группе гамма-контроля. Наоборот, количество ядерных клеток в костном мозге в группе облученных мышей, которых содержали с необлученными животными-свидетелями в клетке с перегородкой, было статистически значимо на 15% больше, чем в группе гамма-контроля ($t = 2.36$; $p = 0.03$) – «эффект спасения» (Рис. 1).

При анализе количества ядерных клеток в селезенке (Рис. 2) было показано, что в группе биологического контроля значение этого показателя составило 217 ± 18 млн. клеток на орган. В группе необлученных животных – «свидетелей», которые содержались в одной клетке с облученными животными, как без перегородки, так и с перегородкой, наблюдали тенденцию к повышению числа ядросодержащих клеток (231 ± 16 и 241 ± 10 соответственно). Более низкие значения количества ядерных клеток в селезенке было зарегистрировано в группе облученных мышей, что составило в группе гамма-контроля 201 ± 12 . Тенденция к снижению этого значения наблюдалась в других экспериментальных группах 194 ± 14 и 189 ± 19 соответственно.

Среднее количество ядерных клеток в тимусе животных группы биологического контроля было равно 5.0 ± 0.6 млн. клеток на орган (Рис. 3). У мышей из группы гамма-контроля значение этого показателя практически не отличалось от уровня в группе биологического контроля. Снижение среднего

количества ядерных клеток в тимусе было зарегистрировано только у облученных мышей, которых содержали в одной клетке с необлученными животными-свидетелями без перегородки. В этой группе среднее значение показателя составило 3.5 ± 0.4 млн. клеток на орган, что было статистически значимо меньше, чем в группе гамма контроля ($t = 3.01$; $p = 0.01$) и отличалось от значения показателя в группе биологического контроля с уровнем значимости $p = 0.056$.

Обсуждение.

В зарубежной и отечественной литературе широко обсуждаются различные подходы к оценке последствий воздействия радиации на человека, животных и окружающую среду.

В настоящей работе была проведена попытка выявить изменения в костном мозге, селезенке и тимусе у мышей, которых содержали в течение 90 сут. в одной клетке с облученными в дозе 3 Гр мышами. В этих экспериментах было выявлено статистически значимое снижение количества ядросодержащих клеток в костном мозге у мышей, которых содержали в клетке без перегородки с облученными животными. Такие измерения по выраженности были очень близки эффекту внешнего гамма-облучения мышей в дозе 3 Гр. Важно отметить, что такие изменения были зарегистрированы в группе, где облученных и необлученных животных содержали в одной клетке без перегородки и, соответственно, такое содержание мышей предполагало наличие тактильного и обонятельного взаимодействия. В группе, где облученных и необлученных мышей содержали в одной клетке с перегородкой, и контакт предполагал только обонятельное взаимодействие между мышами двух экспериментальных групп, не было выявлено никаких заметных изменений количества ядросодержащих клеток в костном мозге мышей свидетелей. Это позволяет полагать, что для снижения ядросодержащих клеток у мышей, которых содержали в одной клетке с облученными животными, необходим тактильный контакт между мышами.

Кроме того, было обнаружено, что количество ядросодержащих клеток в костном мозге в группе облучённых животных, которых содержали с необлученными в клетках с перегородкой, было статистически значимо на 15% больше, чем в группе гамма-контроля. Этот результат можно расценивать как «эффект спасения». Радиационно-индуцированный «эффект спасения» на клеточном уровне относится к явлению, при котором неблагоприятные эффекты в облученных клетках уменьшаются при получении сигналов обратной связи от необлученных клеток или от среды, где культивировали необлученные клетки. Отсутствие такого эффекта в группе облученных мышей, которых содержали с необлученными в одной клетке без перегородки, позволяет предположить, что «эффекта спасения» на организменном уровне может быть индуцирован обонятельным контактом между животными. Ранее нами был описан «эффект спасения» при анализе частоты эритроцитов с микроядрами у облучённых животных как при их совместном содержании с необлученными животными в одной клетке с перегородкой, так и без перегородки [3].

Заключение.

Выявленные эффекты в виде снижения количества ядросодержащих клеток в костном мозге у необлученных мышей, которых содержали в течение 90 сут. в одной клетке с облученными в дозе 3 Гр мышами и повышение количества ядросодержащих клеток в костном мозге у облученных мышей, которых содержали в одной клетке с перегородкой с необлученными мышами могут быть интерпретированы как проявление «эффекта свидетеля» и «эффекта спасения» на организменном уровне. Такие эффекты позволяют высказать предположение о возможности индукции неблагоприятных и положительных эффектов, соответственно у необлученных и облученных животных при их совместном содержании. Данная работа является одной из первых по изучению воздействия радиационного излучения на межорганизменном уровне. Полученные данные являются важным этапом в изучении

«немишенных эффектов», в частности, «эффекта свидетеля» и «эффекта спасения» на организменном уровне.

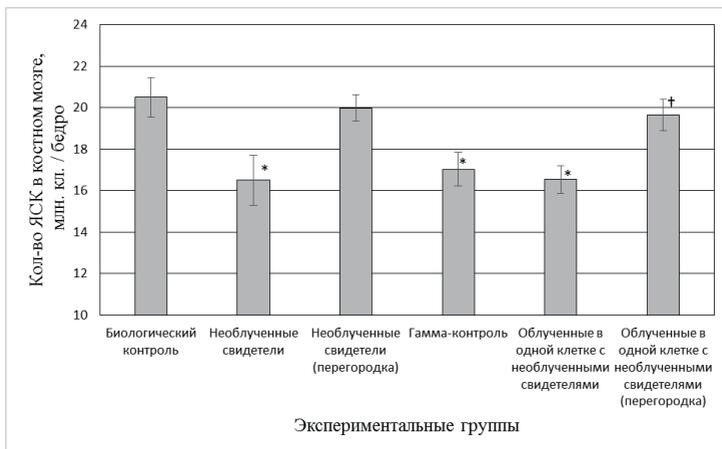


Рис. 1 Число ядерных клеток в костном мозге на 90-е сутки после начала эксперимента, млн. кл. / бедро. Примечание: * – статистически значимые отличия от группы биологического контроля, $p < 0.05$; † – статистически значимые отличия от группы гамма-контроля, $p < 0.05$



Рис. 2 Число ядерных клеток в селезенке на 90-е сутки после начала эксперимента, млн. кл./орган. Примечание: * – статистически значимые отличия от группы биологического контроля, $p < 0.05$; † – статистически значимые отличия от группы гамма-контроля, $p < 0.05$.

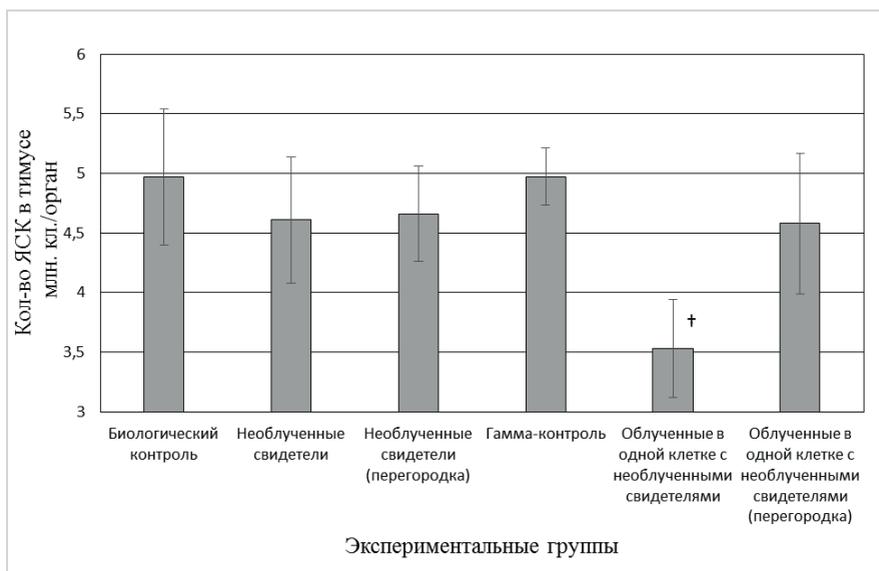


Рис. 3 - Число ядерных клеток в тимусе на 90-е сутки после начала эксперимента, млн. кл./орган. Примечание: † – статистически значимые отличия от группы гамма-контроля, $p < 0.05$.

Литература

1. Smith R., Wang J., Seymour C. et al. // Homogenous and Microbeam X-Ray Radiation Induces Proteomic Changes in the Brains of Irradiated Rats and in the Brains of Nonirradiated Cage Mate Rats Dose - Response. 2018 Jan 22;16(1):1559325817750068. eCollection Jan-Mar 2018.
2. Petushkova, V.V. I.I. Pelevina, I.N. Kogarko, E.A. et al. // Radiation-induced Inter-Organism Bystander Effects. Some Aspects of the Transmission. Biology Bulletin. 2020. V. 47. No. 12. P. 1610-1617 DOI: 10.1134/S1062359020120079
3. Пелевина И.И., Аклеев А. В., Когарко И. Н. и др. // Радиационно-химическое воздействие ионизирующего излучения на организм и генотоксические нарушения системы крови. Химическая физика 2021. Т. 40. № 12. С. 48-55.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ФОКУСОВ БЕЛКОВ РЕПАРАЦИИ ДР ДНК γ Н2АХ и рАТМ В НЕЙРАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ, ПОДВЕРГАВШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ ГАММА-НЕЙТРОННОГО ИЗЛУЧЕНИЯ.

А.А. Осипов¹, Г.А. Посыпанова²

*¹Федеральный исследовательский центр химической физики им.
Н.Н. Семёнова РАН, Москва, РФ;*

*²Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»,
Москва, РФ;*

Нейральные стволовые клетки (НСК) являются источником всех нейронов и глиальных клеток в головном и спинном мозге во время эмбрионального развития организма. У взрослых млекопитающих НСК остаются активными в нескольких четко определенных областях мозга [1, 2]. Активность НСК в головном мозге взрослого человека, остается открытым вопросом [3, 4].

Показано, что НСК обладают более высокой радиочувствительностью по сравнению с дифференцированными клетками [5]. Предполагается, что повреждение и гибель НСК играет важную роль в патогенезе радиационно-индуцированного снижения когнитивных функций [6]. Однако, механизмы формирования реакции НСК на воздействие ионизирующего излучения изучены недостаточно.

Среди различных типов ионизирующего излучения нейтроны в несколько раз более эффективны для специфического повреждения тканей, чем рентгеновское и гамма-излучение с низкой ЛПЭ [7]. У человека облучение нейтронами может происходить во время ядерных реакций деления, обычно связанных с производством ядерной энергии или при воздействии космического излучения в окружающей среде [8, 9]. Следовательно, очень важно изучить прямое воздействие нейтронов на органы и ткани человека, чтобы точно установить риск нейтронного облучения. Показано, что облучение нейтронами даже малые дозы приводит к значимым биологическим последствиям [10].

Основной причиной гибели клеток, вызванной ионизирующим излучением, являются двунитевые разрывы (ДР) ДНК которые составляют относительно небольшую часть повреждений ДНК, но именно они являются основным триггером, определяющим дальнейшую судьбу облученной клетки [11]. Репарация примерно 8 из 10 радиационно-индуцированных ДР ДНК происходит с помощью относительно быстрого, но некорректного механизма негомологичного воссоединения концов с частым образованием микроделеций и хромосомных перестроек [12, 13]. ДР ДНК, отрепарированные некорректно, приводят к гибели или старению клеток, инактивации генов супрессоров опухолей или активации онкогенов [14]. Накопление микроструктурных хромосомных нарушений, возникших вследствие некорректной репарации ДР ДНК, играет ведущую роль в процессах онкотрансформации и клеточного старения [15]. Поэтому особенности образования и репарации радиационно-индуцированных ДР ДНК в НСК особенно важны для понимания механизмов формирования радиационных эффектов в этих клетках.

Целью данной работы было изучение закономерностей изменений количества фокусов белков репарации ДР ДНК γ H2AX и pATM в нейральных стволовых клетках мышей в течение 1, 3, 6, 9 и 24 ч после воздействия гамма-нейтронного излучения в низких (50, 100 мГр) и умеренных (250 и 500 мГр) дозах.

В результате исследования было показано, что после облучения НСК в дозах от 50 до 500 мГр отмечается дозозависимое увеличение количества фокусов γ H2AX. При этом наибольший количественный фокусов γ H2AX в пересчёте на дозу облучение/клетка наблюдался через 1 час после облучения.

Как и в случае с γ H2AX, количество фокусов pATM увеличивается при повышении дозы. При этом было показано, что количественный выход фокусов pATM был примерно в 1.7 раза ниже количественного выхода фокусов γ H2AX.

Также была проведена оценка колокализации фокусов уН2АХ и рАТМ, что позволило понять относительный вклад рАТМ в фосфолирование Н2АХ в НСК, облучённых гамма-нейтронным излучением. Только ~37% радиационно-индуцированных фокусов уН2АХ оказались колокализованными с фокусами рАТМ. Можно предположить, что фосфолирование оставшейся части Н2АХ осуществляется киназами DNA-РКс или АТМ [16].

Литература

1. Altman, J. and G.D. Das// Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol*, 1965. 124(3): p. 319-35.
2. Boldrini, M., et al.// Human Hippocampal Neurogenesis Persists throughout Aging. *Cell Stem Cell*, 2018. 22(4): p. 589-599 e5.
3. Moreno-Jimenez, E.P., et al.// Adult hippocampal neurogenesis is abundant in neurologically healthy subjects and drops sharply in patients with Alzheimer's disease. *Nat Med*, 2019. 25(4): p. 554-560.
4. Sorrells, S.F., et al.// Human hippocampal neurogenesis drops sharply in children to undetectable levels in adults. *Nature*, 2018. 555(7696): p. 377-381.
5. Vitale, I., et al.// DNA Damage in Stem Cells. *Mol Cell*, 2017. 66(3): p. 306-319.
6. Michaelidesova, A., et al.// Effects of Radiation Therapy on Neural Stem Cells. *Genes (Basel)*, 2019. 10(9).
7. Eguchi-Kasai, K., et al.// The role of DNA repair on cell killing by charged particles. *Adv Space Res*, 1996. 18(1-2): p. 109-18.
8. Dudkin, V.E., et al.// Differential neutron energy spectra measured on spacecraft in low Earth orbit. *Int J Rad Appl Instrum D*, 1990. 17(2): p. 87-91.
9. Dyer, C.S., et al.// Secondary radiation environments in heavy space vehicles and instruments. *Adv Space Res*, 1996. 17(2): p. 53-8.
10. Grahn, D.// Genetic risks associated with radiation exposures during space flight. *Adv Space Res*, 1983. 3(8): p. 161-70.
11. Noda, A., K. Muramoto, and S. Mishima// ATM-dependent phosphorylation of CHD7 regulates morphogenesis-coupled DSB stress response in fetal radiation exposure. *Mol Biol Cell*, 2023: p. mbcE22100450.
12. Barazzuol, L., L. Ju, and P.A. Jeggo// A coordinated DNA damage response promotes adult quiescent neural stem cell activation. *PLoS Biol*, 2017. 15(5): p. e2001264.
13. Babayan, N., et al.// Low Repair Capacity of DNA Double-Strand Breaks Induced by Laser-Driven Ultrashort Electron Beams in Cancer Cells. *Int J Mol Sci*, 2020. 21(24).
14. Murashko, M.M., et al.// The Role of RNA in DNA Breaks, Repair and Chromosomal Rearrangements. *Biomolecules*, 2021. 11(4).
15. Oda, T., et al.// DNA damage-induced cellular senescence is regulated by 53BP1 accumulation in the nuclear foci and phase separation. *Cell Prolif*, 2023: p. e13398.
16. Davis, A.J., B.P. Chen, and D.J. Chen// DNA-PK: a dynamic enzyme in a versatile DSB repair pathway. *DNA Repair (Amst)*, 2014. 17: p. 21-9.

ВЛИЯНИЕ ХЛОРОХИНА НА РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННУЮ ГИБЕЛЬ КЛЕТОК ГЛИОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА

Игнатов М.А.^{1,2}, Трубченкова Т.М.^{1,2}, Яшкина Е.И.^{1,2}, Осипов А.Н.^{1,2}

¹*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный Исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской Академии Наук, Москва*

²*ФГБУ ГНЦ Федеральный Медицинский Биофизический Центр имени А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва*

Глиобластома, или астроцитомы IV степени по классификации ВОЗ, является наиболее смертельным первичным раком мозга, обнаруженным у людей. Большинство глиобластом быстро проявляются *de novo*, без обнаружения предшествующих поражений. Глиобластома состоит из слабо дифференцированных астроцитов, в ней есть очаги некроза и участки сосудистой пролиферации. Характерной особенностью этого образования является беспорядочное расположение клеток, полиморфизм ядер клеток и обширный перифокальный отек.

Поскольку для лечения глиобластомы человека в основном применяется лучевая терапия, повышенная радиорезистентность клеток данной опухоли и способы ее снижения, представляют значительный интерес. Понимание молекулярно-клеточных событий, лежащих в основе радиорезистентности и рецидивов при мультиформной глиобластоме (ГБМ), затруднено из-за отсутствия доступа к резистентным клеткам от пациентов, которые были подвержены лучевой терапии. Неспособность выявить изменения в резистентных клетках в ходе лечения затрудняет наше понимание механизма радиорезистентности при ГБМ. Таким образом, мультиформная глиобластома остается неизлечимым заболеванием, а ее лечение пока не решенной проблемой.

Аутофагия – механизм выживания клетки, при котором ненужные или дисфункциональные компоненты и органеллы разрушаются, и преобразуются в материал для жизнеспособных органелл. Клетки глиобластомы быстро

пролиферируют, и аутофагия позволяет им преодолевать дефицит внутриклеточных компонентов для биосинтеза при неблагоприятных условиях. Главное отличие от апоптоза – это сохранение жизнеспособности клетки, вместо полного ее уничтожения. Раковые клетки, идущие путем аутофагии, очень трудно уничтожить химио- и радиотерапией, поэтому современные методы онкотерапии требуют наличия ингибиторов аутофагии. Таким образом, клетки не восстановятся после окончания негативного воздействия, а окончательно погибнут путем апоптоза или некроза.

Хлорохин, противомаларийное химическое вещество, является ингибитором аутофагии, который блокирует слияние аутофагосом с лизосомой и замедляет подкисление лизосом.

Цель работы - сравнительное исследование воздействия ингибитора аутофагии – хлорохина дифосфата на культивируемых клетках глиобластомы человека, различающихся по статусу p53 и PTEN:

U-251 - (GOF mut-p53 / mut-PTEN), в которой усилены функции мутантного гена p53.

LN-229 - (TFP mut-p53 / wt-PTEN) содержащая мутантный, но функционально-потентный в плане трансактивации p53.

Культуры клеток глиобластомы человека высаживали по 50000 клеток на чашку Петри диаметром 35 мм. И по 20 тыс. клеток на ячейку 24-луночного планшета. После этого, клетки культивировали в среде DMEM (Thermo Fisher Scientific), содержащей 10% фетальной телячьей сыворотки (Thermo Fisher Scientific) в стандартных условиях в CO₂-инкубаторе (37°C, 5% CO₂) 24 часа. Далее, во флаконы и чашки добавляли хлорохин дифосфат в концентрации 1000, 100, 10, 1, 0.1, 0.01, 0.001 мкМ, в контрольные образцы хлорохин дифосфат не вносили.

Облучение проводилось на установке РУСТ в дозе 5Гр с мощностью дозы 1,2 Гр/мин. До облучения клетки инкубировались с хлорохином дифосфатом в течение 24 часов, затем через 24 часа после облучения в дозе 5Гр проводили анализ клеточной гибели по механизмам апоптоза и некроза.

Для оценки раннего апоптоза и позднего апоптоза/некроза использовали флуоресцентные красители YO-PRO-1 и PI, соответственно (Vybrant®; Apoptosis Assay Kits for apoptotic and necrotic cell staining, Invitrogen™, V13243). Клетки, выращенные на 24-луночных планшетах, обработанные хлорохином дифосфатом, были проанализированы на проточном цитометре BD FACSCalibur (со скоростью 200 событий/мин, было проанализировано не менее 50000 событий с каждого образца в 3-х повторах).

В результате проведенных исследований было показано дозозависимое увеличение количества погибших клеток с увеличением концентрации хлорохина в клетках. Концентрации хлорохина более 10 мкмоль/мл вызывают гибель клеток глиобластомы линий LN229 и U251 по механизмам апоптоза. Кроме того, выявлены радиосенсибилизирующие свойства хлорохина.

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ЦИНКА НА РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОЕ СТАРЕНИЕ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА

Яшкина Е.И.^{1,2}, **Трубченкова Т.М.**^{1,2}, **Игнатов М.А.**^{1,2}, **Воробьева Н.Ю.**^{1,2},
Осипов А.Н.^{1,2}

*1 - Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н.
Семенова РАН, Москва, Россия*

*2 - Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный
медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России,
Москва, Россия
E-mail: Yashkinaliz@gmail.com*

Ключевые слова: клеточное старение, ионы цинка, ионизирующее излучение, фибробласты

Введение.

Клеточное старение представляет собой состояние потери способности соматических клеток к пролиферации. Клеточное старение бывает естественное (репликативное), возникающее в результате укорочения теломер, и индуцируемое различными типами стресса - преждевременное.

Ионизирующее излучение (ИИ) вызывает повреждения различных биологических структур, в том числе дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), которое происходит либо в результате прямого воздействия ИИ на органические молекулы, либо в результате косвенного воздействия в результате образования свободных радикалов при радиоллизе воды. Среди различных эффектов ИИ, в последние годы особое внимание исследователей вызывает преждевременное радиационно-индуцированное клеточное старение, играющее существенную роль в развитии отдаленных радиационных патологий [1].

Стареющие клетки характеризуются устойчивостью к апоптозу, изменениями метаболической активности, секреции провоспалительных и профибротических молекул и соседнего микроокружения [2].

Одной из современных научных задач биомедицины является поиск биологически активных веществ, проявляющих способность к замедлению

процессов клеточного старения, в том числе и радиационно-индуцированного старения. Одним из направлений поиска являются микроэлементы, в частности цинк.

Цинк принимает участие во многих биологических процессах, среди которых целостность и экспрессия генетической информации, передача сигналов, окислительно-восстановительный гомеостаз, клеточная пролиферация, старение и гибель [3]. При этом, его содержание во внутриклеточных и внеклеточных компартаментах широко варьируется от низких (пМ, нМ) до высоких концентраций (мкМ) [4]. В клетках человека цинк связывается с различными субстратами, включая белки и пептиды, из-за чего его доступность для других внутриклеточных мишеней ограничена. Тем не менее, незначительная часть внутриклеточного цинка присутствует в свободной форме. В этом случае, свободные ионы цинка действуют как вторичные мессенджеры или регуляторы транскрипции. Для поддержания стабильности внутриклеточного уровня цинка существуют различные механизмы, транспорта цинка, секвестрирования и буферизации [5]. Важность цинка подтверждается многочисленными сообщениями, демонстрирующими причинно-следственную связь между острыми или хроническими изменениями уровня цинка и различными патологиями, включая развитие онкологии [6].

Целью настоящей работы являлась оценка влияния ионов цинка на радиационно-индуцированное старение фибробластов человека.

Для оценки клеточного старения проводили анализ доли клеток с высокой активностью, старение-ассоциированной β -галактозидазы (SA- β -gal). Этот фермент считается классическим маркером клеточного старения, так как его активность резко повышена в "старых" клетках.

Материал и методы.

Клеточная культура и условия экспериментов

В работе использовали фибробласты кожи человека 5-го пассажа. Клетки культивировали в полной среде DMEM (Thermo Fisher Scientific, США),

содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки (FBS, Thermo Fisher Scientific, США) и антибиотики пенициллин-стрептомицин (ООО НПП «ПанЭко», Россия) в стандартных условиях CO₂-инкубатора (37 °С, 5 % CO₂). При достижении 75–80% конfluenceности, клетки снимали с пластика ферментативным путем и высаживали на 8 луночные слайд флаконы по 10 тыс.клеток/лунку, на следующий день за 15 часов до облучения заменяли среду на среду, содержащую повышенные концентрации ZnSO₄ (15, 30 и 45 мкМ). Облучение клеток проводили на рентгеновской биологической установке РУСТ-М1 (Россия), оснащенной двумя рентгеновскими излучателями, при мощности дозы 0,85 Гр/мин, напряжении 200 кВ, в дозе 5 Гр. Далее образцы инкубировали в стандартных условиях CO₂-инкубатора в течении 24 часов.

Определение β-галактозидазы. Для оценки доли клеток с повышенной активностью, ассоциированной со старением β-галактозидазы (SA-βgal) использовали коммерческий набор «Cellular Senescence Assay» (Merck-Millipore, США) в соответствии с инструкцией производителя. Визуализацию, документирование и обработку микроизображений осуществляли на люминесцентном микроскопе Nikon Eclipse Ni-U (Nikon, Япония), оснащенным видеокамерой высокого разрешения ProgRes MFcool (Jenoptik AG, Германия). Анализировали не менее 200 клеток на экспериментальную группу. Подсчёт количества SA-βgal положительных клеток выполняли с использованием пакетаFiji для ImageJ (НИН, США).

Результаты и обсуждение.

Исследования влияния сульфата цинка на изменения доли SA-βgal позитивных клеток в фибробластах человека, облученных в дозе 5 Гр, показали, что в концентрациях 30 и 45 мкМ сульфат цинка вызывает снижение доли стареющих клеток, проявляя таким образом защитные эффект от последствий воздействия ИИ.

Выводы.

Проведённое исследование показало, что добавление в культуральную среду сульфата цинка в концентрации 30 мкМ и 45 мкМ за 15 часов до облучения в дозе 5 Гр снижает долю стареющих фибробластов. Полученные результаты свидетельствуют о радиозащитных свойствах ионов цинка в нормальных клетках человека. Работа требует дальнейшего продолжения.

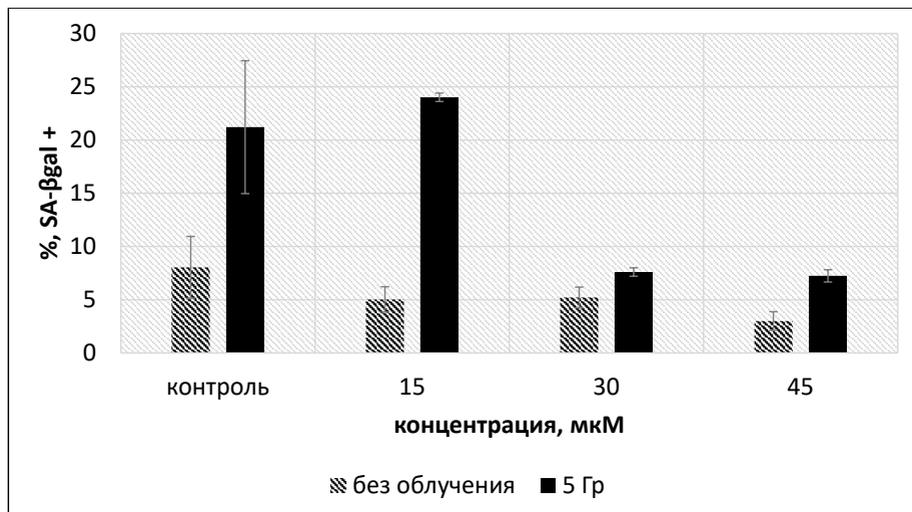


Рис. 1. Влияние сульфата цинка на радиационно-индуцированное клеточное старение (доля SA-βgal позитивных клеток) через 24 ч после облучения фибробластов в дозе 5 Гр.

Список литературы

1. Hoang Quy Nguyen, Nhu Hanh To, Patricia Zadigue, Stéphane Kerbrat, Alexandre De La Taille, Sabine Le Gouvello, Yazid Belkacemi // Ionizing radiation-induced cellular senescence promotes tissue fibrosis after radiotherapy. A review, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 2018, V. 129, P. 13-26, ISSN 1040-8428
2. Chen, Z., Cao, K., Xia, Y., Li, Y., Hou, Y., Wang, L. Li, W. // Cellular senescence in ionizing radiation (Review). *Oncology Reports*, 2019, 42, 883-894.
3. Beyersmann D, Haase H. // Functions of zinc in signaling, proliferation and differentiation of mammalian cells. *Biometals*. 2001; 14(3-4), 331-341.
4. Youichi Ogawa, Tatsuyoshi Kawamura, Shinji Shimada // Zinc and skin biology. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2016, V. 611, P. 113-119
5. Wolfgang Maret // The redox biology of redox-inert zinc ions. *Free Radical Biology and Medicine*, 2019, V.134, P.311-326
6. Prasad AS, Kucuk O. // Zinc in cancer prevention. *Cancer Metastasis Rev.* 2002; 21(3-4), 291-295.

ВЛИЯНИЕ ОСТРОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА МАССУ И ТЕМПЕРАТУРУ ТЕЛА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА МЫШАХ

**Ю.А. Зрилова^{1,2}, О.В. Никитенко^{1,3}, Т.М. Бычкова^{1,3}, И.М. Парфенова¹,
Т.А. Караулова¹, А.А. Иванов^{1,3}**

*¹ФГБУ ГНЦ РФ - Федеральный медицинский биофизический центр им.
А.И.Бурназяна ФМБА России, 123098, Москва, ул. Живописная, 46*

*²ФГБУН Федеральный исследовательский центр химической физики
им. Н.Н.Семенова РАН, 119991, Москва, ул. Косыгина, 4*

*³ФГБУН ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, 123007,
Москва, Хорошевское шоссе, 76А
E-mail: uzrilova@gmail.com*

Ключевые слова: острая лучевая болезнь, мышцы, инфракрасная термометрия, астенизация, энергетический потенциал

Введение.

Важным признаком развития острой лучевой болезни является полиорганное поражение организма, которое проявляется в снижении массы тела. В то же время, снижение массы тела у мышей приводит к истощению их энергетического потенциала [1], что в свою очередь обуславливает невозможность поддержания температуры тела на нормальном уровне. Измерение температуры тела мышей стало возможным после широкого распространения бесконтактных инфракрасных термометров в медицинской практике и появления отдельных сообщений [2] о применении этих приборов в экспериментальной работе.

Целью работы является исследование динамики температуры и массы тела в ходе развития острой лучевой болезни. Достижение поставленной цели позволит определить возможность использования бесконтактной инфракрасной термометрии в сравнении с изменением массы тела для оценки уровня астенизации у мышей.

Материал и методы.

Работа выполнена на 330 аутбредных мышах – самцах и самках ICR CD-1 SPF–категории. Эксперименты выполнены в соответствии с Директивой

2010/63/EU Европейского парламента и Совета ЕС по охране животных, используемых в научных целях. Животных содержали на стандартном кормовом рационе *ad libitum*. Замену воды проводили ежедневно. Животные содержались в конвенциональных условиях по 10 особей клетках при температуре 21-23°C. Группы облученных и ложнооблученных мышей формировали из равнозначных по массе мышей. Учет гибели проводили в течение 30 суток. Измерение массы тела проводили на электронных весах SF-400 с ценой деления 1 г. Измерение температуры тела проводили двумя термометрами: 1) бесконтактный инфракрасный термометр марки GP-300 (Harbin Xiande Technology Development), диапазон измерений 32 - 42,9 °C, производитель: Китай, точность измерений $\pm 0,2^\circ\text{C}$; 2) бесконтактный инфракрасный термометр модели WF-1000 (B.Well Swiss AG), диапазон измерений 10 – 50 °C, производитель: Китай, точность измерений $\pm 0,2^\circ\text{C}$. Температуру тела у мышей измеряли в области живота ежедневно.

Облучение мышей-самок ICR CD-1 SPF-категории проводили однократно рентгеновскими лучами в дозе 7,25 Гр при времени экспозиции 518 с. Тотальное облучение мышей-самцов ICR CD-1 SPF-категории проводили однократно γ - квантами ^{60}Co в дозах: 7,4; 7,8; 8,2; 8,6; 9,0; 9,4 Гр при времени экспозиции 406 с. В каждой группе были ложнооблученные животные, которые помещались в облучательскую установку без включения источника.

Результаты и обсуждение.

Наибольшее понижение температуры тела у мышей, облученных γ - квантами ^{60}Co , отмечается в группах со средней и высокой летальностью дозы (8,6 – 9,4 Гр). В восстановительный период температура практически нормализовалась. У животных, облученных в нелетальной дозе (7,4- 8,2 Гр) также отмечено снижение температуры тела, однако оно было менее выражено.

В разгар острой лучевой болезни у мышей, которые подверглись рентгеновскому облучению, происходит понижение температуры до 34°C. С

13-х суток наблюдается временной подъем, по которому можно сказать, что часть слабых животных пали на 13 сутки, а другая часть – пали позже.

У контрольных животных температура тела колебалась в пределах нормы на протяжении всего эксперимента.

Перед гибелью происходит снижение массы тела у мышей. Однако, в восстановительный период так же происходит колебание средней массы тела, что связано с гибелью слабых животных.

Выводы.

Показатель температуры тела облученных мышей является важным критерием их уровня астенизации, что может быть использовано для оценки динамики развития острой лучевой болезни при различных видах и дозах облучения.

Список литературы

1. Горизонтов П.Д., Разоренова В.А., Сбитнева М.Ф., Андрианова И.Е., Тихомирова М.В. // Радиозащитная и лечебная эффективность препарата РС-10 в опытах на собаках. Радиационная биология. Радиоэкология. 2017. Т. 57, № 5. С. 529-539.

2. Kawakami Y., Sielski R., Kawakami T. // Mouse body temperature measurement using infrared thermometer during passive systemic anaphylaxis and food allergy evaluation. J. Vis. Exp. 2018. N 139. ID 58391.

МЕХАНОАКТИВАЦИЯ СМЕСИ ХРОМ+ НАНОАЛМАЗЫ. ПРИГОТОВЛЕНИЕ МЕТАЛЛОМАТРИЧНОГО КОМПОЗИТА.

А.Б.Борунова¹, Г.А.Воробьева¹, А.В.Леонов³, В.А.Попов²

¹ *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н.Семенова Российской академии наук, Москва, Россия*

² *Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Москва, Россия*

³ *Московский государственный университет, Химический факультет*

Аннотация

С использованием методов рентгеновской дифракции, адсорбции и дифференциального термоанализа продемонстрированы возможности механической активации (МА) для приготовления металломатричных композитов (ММК) на основе смесей хрома с нанодиамазами детонационного синтеза (Cr+C_{N-D}). На первой стадии методом МА были получены композиционные гранулы составов хрома с 7 и 23 вес % C_{N-D}. Оказалось, что кинетику процесса размешивания нанодиамазов в хромовой матрице при МА можно контролировать по величине удельной поверхности смеси. Для синтеза упрочняющих ММК карбидов необходимы последующие прогревы. Методом ДСК и рентгена были выявлены температурные диапазоны синтеза карбидов хрома и последовательность их превращений.

Введение

Металломатричные композиты (ММК) – новый класс гетерофазных конструкционных материалов, в состав которых входят пластичные металлические матрицы и высокомодульные, высокопрочные наполнители [1]. Наиболее привычные литейные способы приготовления ММК имеют некоторые недостатки. Одним из альтернативных способов синтеза ММК является применение методов механической активации и механохимического синтеза. Механохимические методы могут быть использованы в двух вариантах: а) механическая активация смеси матрицы и синтезированного

ранее упрочнителя, б) синтез упрочнителя (например, карбида) непосредственно в результате механической обработки + прогрева.

Настоящая работа посвящена исследованию закономерностей формирования ММК на основе хрома, упрочненного карбидами хрома Cr/CrCх, причем карбиды хрома образуются в результате химической реакции между хромом и наноалмазами в результате МА и последующего прогрева. Работа является развитием данных патента Российской Федерации №2772480 [2] и работы [3]. В них показано, что: 1) В результате МА смеси Cr+C_{N-D} происходит образование композита, содержащего оба компонента, однако формирования фазы карбидов хрома еще не происходит; 2) Для образования карбидов необходимы последующие прогревы; 3) Чем больше продолжительность активации, тем ниже температура начала синтеза карбидов.

Методика

Механоактивация смесей Cr+C_{N-D} с весовым содержанием наноалмазов 7 и 23 вес.%% проводилась в планетарной мономельнице Пульверизет 6 Фрич в среде аргона Ar со скоростью вращения барабана 500 об/мин с разной длительностью обработки. Объем барабана 80 см³, масса шаровой загрузки 110 г, масса навески от 5 до 20 г. Степень воздействия на порошок анализировали в терминах энергетического подхода [4]. Доза подведенной механической энергии D (кДж/г) определяли по соотношению $D=J \cdot t$, где t- продолжительность механической активации, а J(вт/г)- энергонапряженность мельницы, определенная в условиях опытов.

Исходные вещ-ва. В работе использовали наноалмазы C_{N-D} детонационного синтеза с размером первичных частиц 5 нм и химически чистый порошок Cr.

Методы исследования. Удельную поверхность полученных порошков определяли методом БЕТ по низкотемпературной (80К) адсорбции аргона. Фазовый анализ образцов определяли с помощью рентгенофазового анализа (РФА) на дифрактометре Дрон-3М с медным анодом. Компьютерную обработку данных проводили с помощью пакета программ, разработанных

Е.В. Шелеховым [5]. Термогравиметрические исследования (ДСК и ТГ) проводились на приборе синхронного термического анализа STA-449 («NEZSCH», Германия), сопряженного с масс-спектрометром Aelos-32 при различных температурах обычно в пределах 1000 °С в атмосфере инертного газа Не высокой чистоты марки «55» 99,9995% (содержание примеси кислорода ~ 10⁻¹ мм.рт ст).

Результаты и обсуждение.

На рис. 1 приведены дифрактограммы композитов Cr+ 7вес.% C_{N-D} после МА с разной дозой. В механоактивированных образцах все линии принадлежат хрому, а линий наноалмазов не видно. Это связано, вероятно, с тем, что хром содержит существенно больше рассеивающих электронов, чем углерод, поэтому хром «экранирует» небольшое содержание углерода. Присутствие наноалмазов в образовавшихся композитах после МА смесей Cr+C_{N-D} было подтверждено спектрами электронной дифракции [3].

Из рис.1 видно, что с повышением дозы механоактивации полуширина линий хрома растёт, а их интенсивность уменьшается. Значит во время МА смесей Cr+C_{N-D} размер областей когерентного рассеивания L_{ОКР} хрома заметно уменьшается. Следует отметить, что дифракционных линий карбидов хрома не зафиксировано даже для образца с максимальной дозой МА, однако форма гало при малых углах основного пика позволяет предполагать наличие гало от аморфных карбидов хрома.

На рис.2 приведены зависимости удельной поверхности МА смесей Cr + C_{N-D} для составов с 7 и 23 вес.% наноалмазов от дозы активации. Исходные наноалмазы детонационного синтеза со средним диаметром частиц около 5 нм обладают высокой удельной поверхностью (S_{уд} = 275±25 м²/г). Исходные образцы хрома имеют ничтожно малую удельную поверхность около 0.3-0.9 м²/г. Поэтому удельная поверхность исходных смесей Cr+C_{N-D} определяется содержанием наноалмазов и оказалась равна S_{уд}=70 м²/г для 23% и S_{уд}=27 м²/г для 7% C_{N-D}, что близко к расчетным данным. Как видно из рис.2, по мере механической активации величины удельной поверхности для обоих

составов уменьшаются до $S_{уд} \sim 2 \text{ м}^2/\text{г}$, а далее не изменяются. Для образца с 7% C_{N-D} минимальная стационарная поверхность достигается при дозе около 30-40 кДж/г, а для образца с 23% C_{N-D} при дозе более 80 кДж/г.

Эти результаты, естественно, трактовать как уменьшение количества «свободных» наноалмазов в процессе механообработки из-за замешивания их внутрь хромовой матрицы с образованием хром-наноалмазных композитов. Как следует из электронно-микроскопических данных работы [3], размер образующихся при МА композитов составляет 20-30 микрон, что в пересчете на внешнюю удельную поверхность составляет $\sim 2-3 \text{ м}^2/\text{г}$. Таким образом, несмотря на «невидимость» наноалмазов в спектрах рентгеновской дифракции, об их наличии или отсутствии как отдельной фазы в МА смеси можно судить по измерениям удельной поверхности.

На рис. 3 приведены калориметрические (ДСК), термогравиметрические (ТГ) и масс-спектральные данные по прогреву максимально активированной смеси $Cr+7\% C_{N-D}$. Кривая 1 соответствует ДСК данным при первом прогреве образца. На нем заметен небольшой экзотермический эффект при температурах 500-600°C. Кривая 2 отвечает тепловому эффекту при повторном прогреве того же образца. Разница между кривыми 1 и 2 приведена на вставке. Видно, что существует широкое тепловыделение от 350-400 до примерно 750°C, а на нем заметно более интенсивное тепловыделение с формальным максимумом при 580°C. Стандартная процедура определения истинного положения максимума приводит к величине 540°C. Площадь этого «второго» экзотермического пика составляет 129.7 Дж/г.

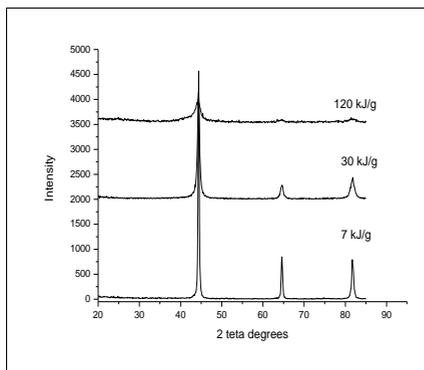


Рис. 1 Дифрактограммы РФА смесей состава (C₇+ 7% C_{N-D}) при разных дозах D МА.

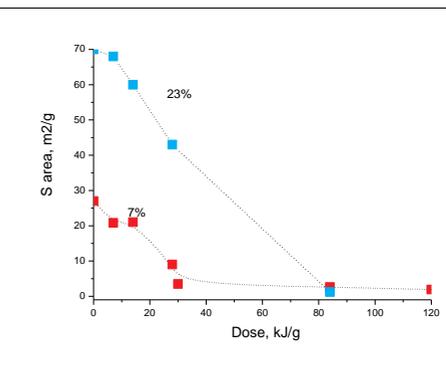


Рис 2. Зависимость Суд смесей C₇+nC_{N-D} от дозы МА. n=7 и 23вес%.

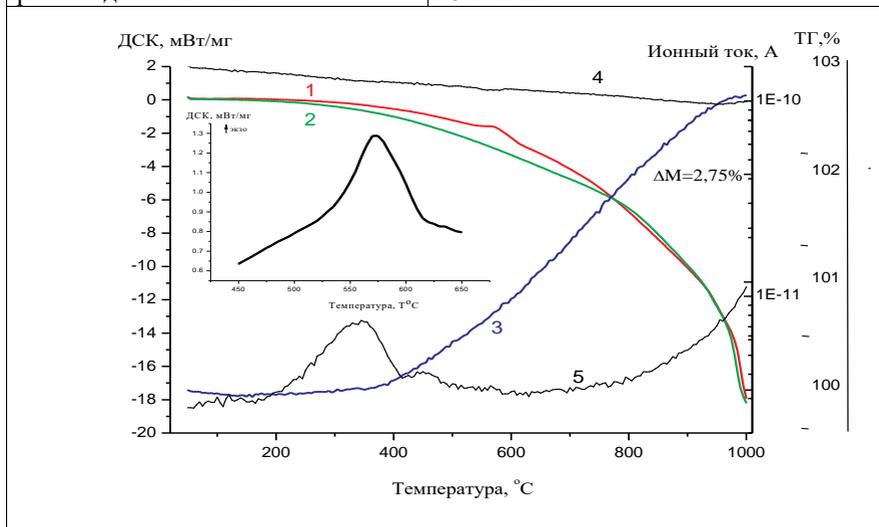


Рис3. Прогрев механоактивированной смеси C₇+ 7% C_{N-D} до 1000 °С, ДСК(1,2), ТГ(3) и масс-спектры O₂(4) и CO₂(5). Кривая (2)- повторный прогрев того же образца. Доза активации D=120кДж/г. На вставке приведена разница между кривыми 1 и 2.

Кривая 3 рис.3 представляет ТГ данные. Видно, что при нагреве МА смеси наблюдается рост массы образца в области температур от 400 до 1000 °С. Одновременно происходит уменьшение интенсивности ионного тока 32 массы, которая соответствует кислороду, т.е. происходит небольшое

поглощение кислорода образцом. Естественно предположить, что увеличение массы связано с окислением хрома и (или) наноалмазов. Следует отметить, что кривая 5 соответствует ионному току от 44 массы, т.е. отражает концентрацию CO_2 . Таким образом, выделение CO_2 наблюдается при температурах 300-400°C и заметно усиливается при температурах выше 800°C.

Для выяснения природы термических процессов и отнесения теплового эффекта были измерены дифрактограммы смеси при промежуточных температурах. Прогревы проводили в ячейке ДСК прибора, максимальные температуры составляли 385, 625, 900 и 1200 °C. На рис.4 приведены дифрактограммы после прогревов до этих температур, а в таблице представлены результаты количественного фазового состава. После прогрева образца до 385°C дифрактограмма практически не отличается от дифрактограммы смеси после механической активации, но до прогрева и соответствует фазе хрома (Ср. рис 4 и рис.1). При прогреве до более высоких температур возникают различные карбиды хрома, а при очень высоких температурах и оксид хрома.

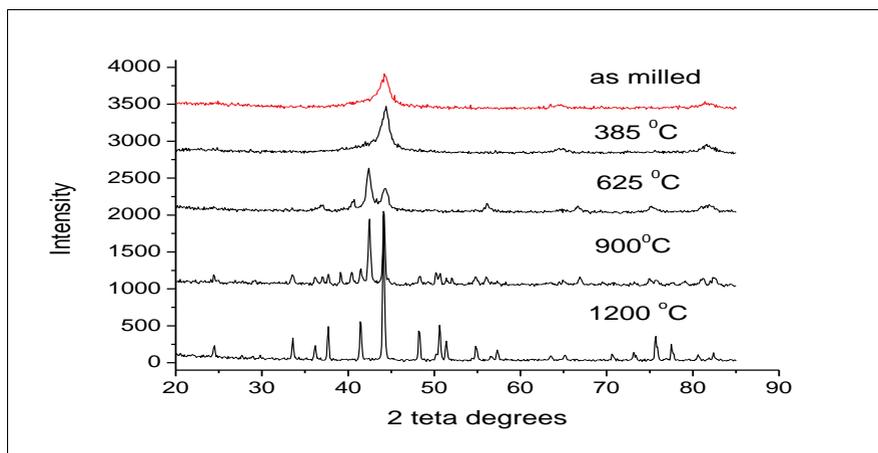


Рис 4. Дифрактограммы смеси (Cr+ 7% C_{N-D}) после МА с дозой 120 кДж/г до и после прогревов этой смеси до разных температур в ДСК.

Таблица. Фазовый состав, размеры блока Коши (L), и среднеквадратичная микродеформация Гаусса (ϵ) для образцов Cr+ 7% C_{N-D} после МА с дозой активации 120 кДж/г и прогретых в ДСК до температур T.

T°С	Фазовый состав, весовая доля%		L, Å	ϵ , %
20	Cr (typeW)	100		
385	Cr (typeW)	100	38	0.027
625	Cr (typeW)	1,7	93	0.426
	Cr ₂ C (type Fe ₂ N)	98,3	161	0.256
900	Cr ₂₃ C ₆ (type C ₆ Cr ₂₃)	19.8	723	0,124
	Cr ₂ C (type Fe ₂ N)	42.6	518	0,146
	Cr ₇ C ₃	36.7	414	0,048
	Cr ₂ O ₃	1.0	392	0,161
1200	Cr ₂₃ C ₆ (type C ₆ Cr ₂₃)	84,2	935	0,101
	Cr ₂ O ₃	15.8	614	0,034

Известно, что существуют три стабильных карбида хрома Cr₂₃C₆, Cr₇C₃ и Cr₃C₂ (приведены по мере роста содержания углерода), и несколько метастабильных карбидов Cr₃C, Cr₂C, CrC и др. В условиях наших опытов при прогреве до 625°С прежде всего возникает метастабильный карбид Cr₂C с максимальным содержанием углерода из всех зафиксированных нами карбидов.

После прогрева до 900°С количество первоначальной фазы Cr₂C уменьшается, а возникают фазы Cr₂₃C₆ и Cr₇C₃ с более низким содержанием углерода. Кроме того, зафиксированы следы оксида Cr₂O₃. Наконец, после прогрева до 1200°С остается только стабильная фаза Cr₂₃C₆ с минимальным содержанием углерода и оксид Cr₂O₃

Таким образом, можно полагать, что при температурах 400-600°С происходит взаимодействие всех наноалмазов с поверхностным слоем атомов хрома. Содержание углерода в поверхностном слое карбида, возможно, определяется стехиометрией смеси. Этот процесс сопровождается заметным экзотермическим эффектом. В дальнейшем происходит диффузия углерода в объем хрома и перераспределение углерода с образованием стабильного карбида. Можно полагать, что тепловые эффекты этого процесса значительно ниже.

Выводы

1. Во время механической обработки смесей Cr+C_{N-D} в барабане планетарной мельницы происходят процессы дробления частиц хрома и наноалмазных агрегатов, взаимное перемешивание и намазывание наноалмазов на частицы хрома, уплотнение этих образований ядро/оболочка (где ядро хром, а оболочка наноалмазы) вплоть до формирования молекулярно-плотных агрегатов. Критерием завершения этого процесса может служить выход зависимости удельной поверхности смеси от продолжительности (дозы) активации на стационарный участок на уровне нескольких м²/г.
2. Для формирования ММК с упрочнителями из карбида хрома необходимы прогревы до многих сотен градусов. Первоначальный синтез карбидов происходит на поверхности частиц хрома при температурах 400-600 °С и сопровождается заметным экзоэффектом. При высоких температурах 800-1200°С происходит диффузия углерода в объем хрома с образованием стабильного карбида во всем объеме материала. Можно надеяться, что варьирование условий прогрева (температура, продолжительность) и концентрации наноалмазов позволит создать необходимую структуру матрицы и упрочнителя для ММК. Следует отметить, что присутствие кислорода даже в следовых количествах осложняет процесс из-за выгорания алмазов и окисления хрома.

Авторы благодарят А.Н.Стрелецкого за помощь при подготовке текста статьи.

Список литературы

1. В.И.КУЛИК, А.С. НИЛОВ. // Конструкционные материалы с металлической матрицей <http://library.voenmeh.ru/cnau/elr03243.pdf>
2. Попов В.А. // Композиционный материал и способ его изготовления. Бюл 14, 2022
3. Popov V, Borunova A, Shelekhov E, Cheverikin V, Khodos I. // Several Aspects of Interaction between Chrome and Nanodiamond Particles in Metal Matrix Composites When Being Heated. *Inventions*. 2022; 7(3), 75.
- 4.А.Б. Борунова, А.Н. Стрелецкий, Д.Г.Перменов, А.В.Леонов. // Влияние дозы механической активации на дефектную структуру искусственного графита. Кол. Жур. 2015; 77(2), 134.
5. Шелехов Е.В. // Сб. докл. Национальной конф. РСНЭ Дубна: ОИЯИ, 1997. Т. 3. С. 316.

ПОЛИАМИННЫЙ СТРЕСС-ОТВЕТ И ВОЗРАСТ-ЗАВИСИМЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Маклецова М.Г.^a, Полещук В.В.^b, Вакуленко М.Ю.^a, Рихирева Г.Т.^c

^a *Донской государственный технический университет, г. Ростов-на-Дону mgm52@bk.ru*

^b *Научный центр неврологии, г. Москва*

^c *Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н.Семенова РАН, г. Москва*

Полиамины играют ключевую роль в обеспечении жизнеспособности клеток и функционировании мозга [1, 2]. Результаты исследований последних лет позволяют заключить, что полиамины обладают антиоксидантными, противовоспалительными, антитромбоцитарными, антидепрессивными и нейропротекторными свойствами. [3-5].

В настоящее время активно обсуждается роль полиаминов (спермидина и спермина) в патогенезе возраст-зависимых заболеваний: болезни Паркинсона, Альцгеймера, сахарного диабета и др. [6, 7]. С возрастом в нервной ткани содержание полиаминов снижается, что играет ведущую роль в возрастных нарушениях памяти [8, 9].

Введение полиаминов позволяет избежать когнитивные нарушения и/или повлиять на патогенетические процессы, связанные с прогрессированием патологий. Нейропротекторное действие экзогенно введенных полиаминов спермина и спермидина показано в опытах на животных при моделировании таких патологий как болезни Хантингтона, Альцгеймера, Паркинсона, черепно-мозговой травме, воспалительных заболеваниях, связанных с потерей памяти и др. [10, 11].

Одним из молекулярных механизмов данного положительного эффекта полиаминов является их антиоксидантное действие, а также

влияние спермидина на активность аутофагии - процесса «очистки» от деформированных белков.

Полиамины активно вовлечены в молекулярные механизмы реализации неспецифической стресс-реакции – так называемый полиаминный стресс-ответ (ПСО) [12, 13]. При стрессорном воздействии на организм в целом (ожог, травма и пр.) в мозге активируется фермент синтеза полиаминов орнитиндекарбоксилаза с последующим значительным увеличением содержания полиаминов в первые сутки, что запускает активацию генов «раннего» ответа – c-fos, c-jus, c-myc [14, 15]. Нами установлено, что в мозге животных, перенесших ожоговый стресс, содержание спермина и спермидина снижалось после ожогового стресса по сравнению с контролем. Введение адаптогена дельта-сон-индуцирующего пептида (ДСИП) оказывало модулирующее воздействие на метаболизм полиаминов в мозге и вызывало значительное увеличение содержания спермина и спермидина. В результате данного стрессорного воздействия наблюдались нарушения памяти и обучаемости. При введении животным адаптогена ДСИП, вызванное им последующее увеличение биосинтеза полиаминов, облегчало формирование новых навыков, а также положительно влияло на сохранность приобретенного навыка до стресса [14].

В нервной ткани обнаружены метаболические особенности ПСО, которые зависят от характера стрессирующего воздействия [13]. При психоэмоциональном стрессе, а также ишемии/гипоксии мозга происходит более интенсивная активация ферментов распада полиаминов. В модельных опытах на животных было обнаружено, что ответная реакция метаболизма полиаминов на стрессорные воздействия различается в зависимости от длительности стрессорного воздействия и определяет характер изменения метаболизма полиаминов в мозге. Данные, полученные Sandusky-Beltran et al. в 2019 году,

свидетельствуют о том, что повышение уровня полиаминов, вызванное кратковременным стрессорным воздействием, «полезно» для нервной системы [16]. При этом спермидин и спермин способны уменьшать содержание тау-белка, ассоциированного с микротрубочками, за счет активации аутофагии. Однако, длительное хроническое стрессорное воздействие приводит к дезадаптивной дисрегуляции обмена полиаминов и оказывает негативное воздействие на тау-белок.

Таким образом, ПСО может вызывать как положительные, так и отрицательные последствия в ЦНС в зависимости от длительности и характера стрессирующего воздействия. Введение адаптогенов оказывало модулирующее воздействие на содержание полиаминов, которое положительно сказывалось на процессах запоминания и обучения. Важно отметить, что в настоящее время ПСО рассматривается как провокационный фактор в механизмах запуска неврологических и психических заболеваний.

Учитывая злободневность проблемы следует остановиться на данных об использовании спермидина в качестве антивозрастного соединения в противостоянии инфекции COVID-19. В доступной литературе отражена растущая озабоченность о влиянии короновирусной инфекции не только на физическое, но и на психическое здоровье человека. Наиболее важными признаками психических расстройств, наблюдаемых при COVID-19, являются симптомы депрессии и тревожности, а также когнитивные нарушения. Обращает на себя внимание пересечение (crosstalk) признаков старения и систем, которые поражаются при короновирусной инфекции, а также более высокий уровень смертности у пожилых пациентов. Один из признаков возрастных изменений это постоянное укорочение теломер, которые являются защитными структурами на концах хромосом. Истощение теломер способствует снижению способности тканей к регенерации, потере тканевого гомеостаза, к заболеваниям. При

определении длины теломер в лимфоцитах периферической крови пациентов с COVID-19 было обнаружено, что более короткие теломеры связаны с большей тяжестью заболевания [17].

Обнаруженное свойство спермидина поддерживать длину теломеров, удлинять их при добавке полиамина в рацион, может, по-видимому, определить как антивозрастные эффекты спермидина, так и его вклад в противовирусное действие. Некоторые авторы считают, что нарушение аутофагии как характерной черты старения может привести к тяжелому течению COVID-19 [17]. Спермидин является индуктором аутофагии. Механизмы взаимодействия аутофагии и COVID-19 пока остаются не выясненными.

В целом изучение противовирусных эффектов антивозрастных соединений, в частности полиаминов, имеет большое значение для решения вопросов терапевтической стратегии. По мнению ряда авторов [18-21], полиамины являются ключевыми игроками в широком спектре заболеваний, связанных с возрастными процессами.

Литература

1. Ivanov A.V., Khomutov A.R. // *Biomolecules*, 2022, vol.12, 14.
2. Березов Т.Т., и др. // *Анн. клин. эксперимент. неврол.*, 2012, Т. 6, 38–43.
3. Kristinsson J. et al. // *Neuropsych. Disease and Treatment.*, 2012, vol.8, 515-521.
4. Linder M. // *Biomedicine*, 2020, vol.9(3), 233.
5. Olivieri S. et al. // *Journal of Neurology*, 2011, vol.31(50), 18568-18577.
6. Guerra G.P. et al. // *Pharmacol. Res.*, 2016, vol. 112, 99–118.
7. Polis B. et al. // *Aging (Albany NY)*, 2021. vol. 13(7), 10770–10795.
8. Liu P. et al. // *Neuroscience*, 2008, vol. 155, 789–796.
9. Маклецова М.Г. и др. // *Нейрохимия*, 2022, Т. 39(3), 265–278.
10. Makletsova M.G et al. // *J. Neurology Research*, 2019, vol. 9 (1-2), 1-7.
11. Ramos-Molina B. et al. // *Front. Nutr.*, 2019, vol. 6 (24), 1–15.
12. Gilad G.M., Gilad V. // *Cell Mol. Neurobiol.*, 2003, vol.23, 637–649.
13. Gilad G.M., Gilad V. // *Brain Res.*, 2002, vol.5, 23–29.
14. Маклецова М.Г., и др. // *Новые лекарственные препараты*, 2007, Т. 3, 33–43.
15. Randi A.S. // *Toxicol. Sci.*, 2003, vol.76, 291–298.
16. Sandusky-Beltran L.A. et al. // *Alzheimers Res. Ther.*, 2019, vol.11, 58.
17. Sharma P., Sharma R. Saudi J. // *Bio Sci.*, 2021, vol.28, 7046–7053.
18. Benedikt J. et al. // *Biomolecules*, 2022, 12, 1812.
19. Rieck J. et al. // *Biomolecules*, 2022, vol.12.
20. Liao C.Y. et al. // *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.*, 2021, 76(10), 1714-1725.
21. Yuan X. et al. // *J.Cell Biosci.*, 2021, vol. 11(1), 107.

КИНЕТИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ МЕТАБОЛИТОВ ПЛЕСНЕВОГО ГРИБА НА ДИЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОМПОЗИЦИОННОГО ПОЛИМЕРНОГО МАТЕРИАЛА

Калинина И.Г., Иванов В.Б., Семенов С.А., Жданова О.А., Казарин В.В.

*ФГБУН Федеральный исследовательский центр химической физики
им. Н.Н. Семенова Российской академии наук*

Введение

Изменение свойств полимеров при контакте с микроскопическими грибами обычно связывают с воздействием специфических жидких сред, состоящих из химических веществ, продуцируемых микроорганизмом в процессе жизнедеятельности (метаболитов: органические кислоты, ферменты, соли и др.) [1- 3]. Воздействие грибов, также как и традиционных агрессивных сред может обуславливаться различными физическими и химическими процессами. В [4] нами показано, что снижение электрического сопротивления изоляции (R) пластифицированного поливинилхлорида (ПВХ пластиката) в условиях роста на нем микроскопического гриба *Aspergillus niger* (*A. niger*) обусловлено возрастанием электропроводности материала, из-за адсорбции на нем токопроводящих веществ, выделяемых микроорганизмом в процессе жизнедеятельности (метаболитов). При таком характере воздействия значимый эффект снижения R наблюдался только при проведении замеров контролируемой характеристики без удаления биомассы, а значит и адсорбционно активных метаболитов с поверхности материала. Для очищенных образцов эффект влияния микроорганизма не обнаруживается. Среднее значение электрического сопротивления изоляции таких образцов близко к исходному (определенному до проведения испытаний). Вместе с тем, отмечено, что воздействие микроскопического гриба способствовало повышению дисперсии величины R т.е. снижало стабильность диэлектрических свойств ПВХ пластиката. Установлено, что изменение этой статистической характеристики носит обратимый характер. Дисперсии величин R исходных образцов и образцов после воздействия микроорганизма,

последующей очистки и кондиционирования отличаются незначительно.

Такие обратимые изменения, наблюдаемые после удаления биомассы, позволяют предположить, что они связаны прежде всего с пластифицирующим действием токопроводящих метаболитов, диффундировавших в объем материала. Целью работы являлось подтверждение этой гипотезы и выявление кинетических закономерностей такого сорбционного воздействия метаболитов *A. niger* на диэлектрические свойства изоляционного материала.

Материалы и методы

Исследовали двухслойную композиционную полимерную изоляцию провода БПВЛ (токопроводящая жила медная, состоящая из более 100 мягких луженых проволок). В экспериментах использовали образцы провода сечением 10 мм², длиной – 400 мм. Наружный слой изоляции – лакотканевая оплетка, внутренний слой – ПВХ пластикат марки И-40-13 (ГОСТ 5960-72). Лакотканевая оплетка представляет собой хлопчатобумажную нитяную основу, пропитанную этилцеллюлозным лаком ЭЦ-959 (ТУ-6-10-691-74). Согласно используемой методике измерения электрического сопротивления изоляции провода БПВЛ [4] эффект воздействия микроорганизма будет определяться, прежде всего, изменением диэлектрических свойств наружного изоляционного слоя - лакотканевой оплетки, на котором происходит рост гриба. При этом, как показали предварительные эксперименты, стандартное водопоглощение лакоткани (2%) на порядок превосходит эту характеристику ПВХ пластиката (0,2%). В связи с этим, предположительно, перенос метаболитов в объем лакоткани должен существенно превышать имеющий место для ПВХ и, следовательно, играть значимую роль в изменении диэлектрических свойств.

В качестве тест-микроорганизма применяли микроскопический гриб *A. niger* ВКМФ–2039, являющийся одним из наиболее распространенных и активных биодеструкторов полимерных материалов.

Испытания проводили в соответствии со стандартизованной методикой определения стойкости материалов и изделий к воздействию микроскопических грибов [5]. Образцы, предварительно очищенные (30% этиловым спиртом) от внешних загрязнений, инокулировали водной суспензией спор грибов и выдерживали в оптимальных для их развития условиях. Периодически определяли сопротивление изоляции R (Ом) образцов, очищенных от образовавшейся на них биомассы микроорганизмов. Измерения проводили сразу после очистки и затем после сушки образцов. Очистку выполняли протиркой поверхности провода мягкой хлопчатобумажной тканью, смоченной раствором этилового спирта, сушку – выдержкой в условиях лаборатории. Продолжительность сушки - 72 часа. Сушка свыше этого времени не приводит к изменению величины R . Параллельно, испытывали контрольные (не зараженные грибом) образцы.

Согласно [5] микроскопический гриб для испытаний выращивали на агаризованной среде Чапека-Докса при температуре $(29\pm 2)^{\circ}\text{C}$. в течение 14 суток. Для заражения образцов использовали водную суспензию, содержащую $\sim 1 \dots 2 \cdot 10^6$ спор в 1 мл. Концентрацию спор определяли микроскопическим методом с помощью оптического микроскопа, снабженного счётной камерой Горяева. На поверхность образцов суспензию наносили капельным методом ($\sim 0,2$ мл суспензии на 1 см^2 поверхности). После заражения образцы выдерживали до высыхания капель (~ 60 минут) и помещали в камеру, где поддерживали температуру $(29\pm 2)^{\circ}\text{C}$ и относительную влажность более 95%. Продолжительность испытаний – 25 суток. По данным [6] в этот период величина биомассы *A. niger* на лакоткани достигает своего максимального значения.

В течение всего срока испытаний периодически измеряли величину R (Ом) образцов. Измерения проводили тераометром Е6-13А. В качестве измерительного электрода использовали латунный хомут с толщиной стенок 0,5 мм и диаметром на 1,2 мм меньшим наружного диаметра изолированного провода, что обеспечивало плотное прилегание электрода к проводу. К

закрепленному хомуту присоединялся щуп (наконечник «земля») измерительного прибора. Второй щуп прибора присоединяли к оголенной жиле тестируемого образца провода. Измерения проводили при постоянном напряжении 1000 В на шестидесятой секунде после приложения напряжения. Выполнялось трехкратное измерение значений сопротивления изоляции при определенном расстоянии между обрезом изоляции у оголенной жилы и закрепленным на изоляции латунным хомутом, подсоединенным к прибору. Замеры осуществляли в 2-3 точках по всей длине образца (передвижением латунного электрода). Определяли математическое ожидание, и полученные значения сопротивления изоляции образца, пересчитывали на 1 погонный метр длины провода. Далее все значения электрического сопротивления изоляции приведены в пересчете на 1 метр провода. Для одного определения величины R испытывали не менее 5 образцов. Разброс экспериментальных результатов не превышал 15%. Его характеризовали отношением среднего квадратичного отклонения к математическому ожиданию. Величина сопротивления изоляции провода до испытаний (исходная) составляет $R_0 = 1,26 \cdot 10^{10}$ Ом. По техническим условиям удельное сопротивление должно быть не менее $1,0 \cdot 10^7$ Ом. Следовательно, используемые в экспериментах провода работоспособны и удовлетворяют предъявляемым к ним требованиям.

При анализе результатов использовали полученную нами в работе [6] экспериментальную кинетическую кривую роста величины биомассы гриба *A. niger* (ВКМ F–2039) на лакотканевой оплетке проводов. Условия культивирования гриба на материале в [6] и в данном исследовании одинаковы.

Результаты и их обсуждение

На рисунке приведены кинетические зависимости изменения электрического сопротивления изоляции (R) образцов, очищенных от биомассы культивируемого на них *A. niger*, контрольных образцов (R_K), а также кинетическая зависимость роста биомассы (m) гриба на лакотканевой оплетке провода, аппроксимированная логистическим уравнением [6].

Зависимости величин R и R_k представлены в виде соединенных средних значений электрического сопротивления изоляции с доверительным интервалом, определенным при уровне значимости $\alpha = 0,05$.

Установлено, что при используемом режиме выполнения замеров снижение R очищенной лакотканевой оплетки происходит в течение всего времени ее контакта с микроорганизмом. При этом эффект влияния гриба на диэлектрическую характеристику электроизоляции обнаруживается только после определенного времени (t_1) инкубирования образцов, равного ~ 80 часов, что близко к продолжительности фазы адаптации микроорганизма к материалу (т.е. фазы, когда рост биомассы гриба еще не обнаруживается). В этот период времени ($t-t_1$) экспериментальные зависимости $R - t$ для зараженных грибными клетками и контрольных образцов совпадают. Установлено также, что сушка очищенных, подвергавшихся воздействию гриба и контрольных образцов приводит к восстановлению величин их электрического сопротивления до исходного, наблюдаемого до испытаний значения.

Полученные результаты могут быть объяснены на основании сорбционной гипотезы. Так, в начальный период испытаний, когда эффект воздействия микроорганизма еще не обнаруживается, снижение R связано, по видимому, с поглощением (сорбцией) материалом атмосферной влаги [7-, 8]. Рост биомассы, как известно, сопровождается появлением и увеличением концентрации метаболитов, в том числе токопроводящих. Следствием, согласно разввиваемым представлениям, является диффузионный процесс, приводящий к постепенному их накоплению в объеме и пластификации лакоткани, что, начиная с момента времени t_1 и приводит к возрастанию ее токопроводности и, соответственно, снижению электрического сопротивления (в сравнении с наблюдаемым в контрольном опыте). Такое снижение R продолжается непрерывно в течение всего времени накопления метаболитов т.е. роста колонии микроорганизма на лакотканевой оплетке. Восстановление диэлектрических свойств лакоткани до исходного уровня

после сушки образцов связано, по - видимому, с десорбцией метаболитов (или воды в случае контрольных образцов) из материала, происходящей при отсутствии между ними химического взаимодействия.

Общеизвестно, что перенос жидких сред в материале подчиняется диффузионным уравнениям Фика. Известные решения системы этих дифференциальных уравнений [9,10] использовались нами для подтверждения гипотезы о сорбционном характере изменений диэлектрических свойств лакоткани под воздействием метаболитов развивающегося на ней микроскопического гриба и получения аналитической модели кинетики этого процесса.

Принимали, что изменение электрического сопротивления изоляции прямо пропорционально средней концентрации метаболитов микроорганизма в материале ($\overline{C_M}$):

$$R_0 - R = \beta_R \cdot \overline{C_M}, \quad (1)$$

где: R_0 и R – электрическое сопротивление изоляции в момент начала ее контакта со средой (с метаболитами микроорганизма) и в момент времени t соответственно, β_R - коэффициент пропорциональности.

Используя упрощенные решения уравнения Фика [9,10], описывающие изменение концентрации вещества в объеме тела в зависимости от времени и, переходя с помощью выражения (1) от концентрации метаболитов к величине R , получим:

- для малых времен воздействия среды (метаболитов микроорганизма), то есть начальных стадий процесса ее диффузии в материал:

$$\frac{R_0 - R}{R_0 - R_\infty} = \frac{2}{r} \sqrt{\frac{D_r \phi t}{\pi}}, \quad (2),$$

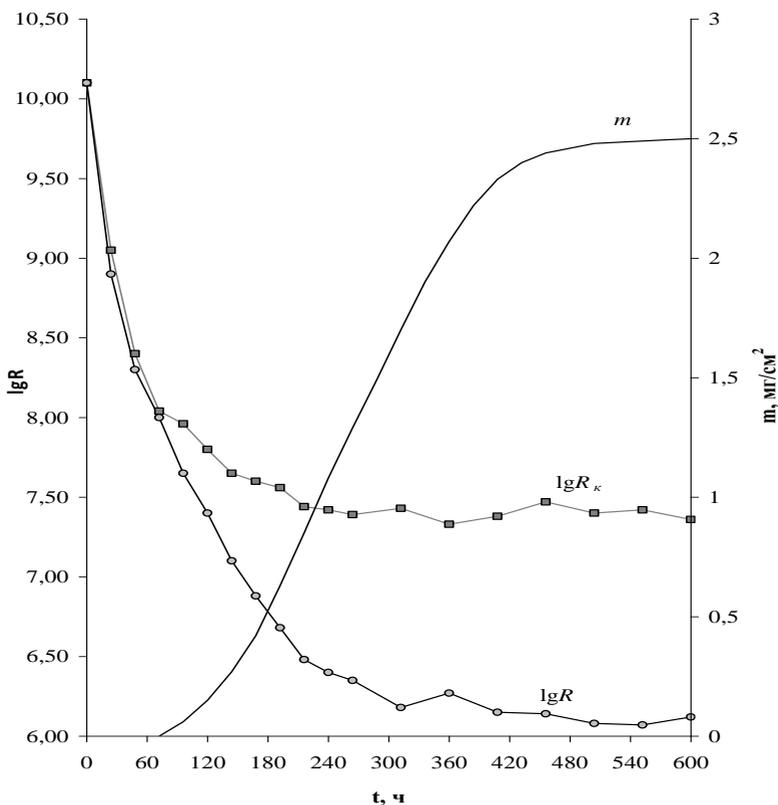


Рис. 1. Кинетические зависимости изменения электрического сопротивления изоляции лакотканевой оплетки провода при культивировании на образцах микроскопического гриба (R), контрольных (R_k) и роста на ней биомассы (m) *A.niger*.

где R_∞ - минимальное (равновесное) значение электрического сопротивления изоляции (R), достигаемое при воздействии среды (микроорганизма), $D_{эф}$ - эффективный коэффициент диффузии среды (метаболитов) в материал, r - половина толщины образца.

- для больших времен воздействия среды (метаболитов) - на завершающей стадии процесса диффузии:

$$\frac{R - R_{\infty}}{R_0 - R_{\infty}} = \frac{8}{\pi^2} \exp\left(-\frac{\pi}{4r^2} D_{\text{эф}} t\right) \quad (3)$$

Проведена кусочно-линейная аппроксимация экспериментальных данных (рис. 1) в координатных плоскостях линеаризованных выражений (2) и (3). Расчеты показали, что экспериментальные данные на начальном и завершающем участках кривой $R = \varphi(t)$ при $t > t_1$ успешно аппроксимируются моделями 2 и 3. Соответствие модели (2) экспериментальным данным на начальном и модели (3) на завершающем участках кинетической кривой изменения R характеризуются высокой степенью достоверности. Величины индексов корреляции составляют 0,94 и 0,96 соответственно. При этом эффективные коэффициенты диффузии $D_{\text{эф}}$, вычисленные (для начального и завершающего участков кинетической кривой) по уравнениям (2) и (3) отличаются незначительно, их значения равны соответственно: $0,38 \cdot 10^{-12}$ м²/с и $0,41 \cdot 10^{-12}$ м²/с. Это является важным признаком применимости диффузионных законов Фика для описания исследуемого процесса [9, 10], что подтверждает сорбционно-диффузионный механизм влияния метаболитов гриба на диэлектрические свойства лакоткани.

Заключение

Установлено, что снижение электрического сопротивления изоляции лакоткани при воздействии микроскопического гриба *A. niger* может носить обратимый характер. Изменение этой диэлектрической характеристики обусловлено пластификацией материала в результате сорбции (а затем и десорбции) в его объем продуцируемых микроорганизмом метаболитов - электропроводящих веществ.

Предложены кинетические модели снижения величины электрического сопротивления изоляции лакоткани при росте на ней микроскопического гриба, в основе которых лежат представления о переносе жидких сред в материалах, учитывающие диффузионные процессы, описываемые уравнениями Фика. Модели могут быть использованы для разработки методики определения стойкости изоляционных материалов к воздействию

микробиологического фактора.

Работа выполнена в рамках финансирования Государственного задания
ФИЦ ХФ РАН им. Н.Н. Семенова.

Литература

1. Сахно О.Н., Селиванов О.Г., Чухланов В.Ю. // Биологическая устойчивость полимерных материалов (Ред. Т.А. Трифонова). ВГУ. Владимир, 2014. 64 С.
2. Webb J.S., van der Mei H.C., Nixon M., Eastwood I.M., Handley P.S. // Plasticizers increase adhesion of the deteriorogenic fungus *Aureobasidium pulluans* to Polyvinyl Chloride. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999. P. 3575.
3. Gumargalieva K.Z., Zaikov G.E., Semenov S.A. // Biodegradation and Durability of Materials under the Effect of Microorganisms. *VSP Utrecht. B.* 2003. 231P.
4. Калинина И.Г., Гумаргалиева К.З., Семенов С.А., Казарин В.В, Жданова О.А. // Хим. физика. 2019. Т. 38. №3. С. 70.
5. ГОСТ 9.048-89. ЕСЗКС. // Изделия технические. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов; <http://www.gostexpert.ru/gost/gost-9.048-89/>
6. Семенов С.А., Гумаргалиева К.З., Заиков Г.Е. // Характеристика процессов и особенности повреждения материалов техники микроорганизмами в условиях эксплуатации. кн. Горение, деструкция и стабилизация полимеров. С.-Петербург. Изд-во НОТ. 425С. 2008. С. 100-128.
7. Рихтера М., Бартакова Б. // Тропикализация электрооборудования.: Госэнергоиздат, 1962. 400 С.
8. Электрические свойства полимеров. Под ред. Б.И.Сажина. Л.: Химия, 1986. 224 С.
9. Баррер Р. // Диффузия в твердых телах. Пер. с англ. Под ред. Б.Д. Тазулахова. М.: ИЛ. 1948. 504 С.
10. Степанов Р.Д., Шленский О.Ф. // Расчет на прочность конструкций из пластмасс, работающих в жидких средах. М.: Машиностроение, 1981. 136 С.

ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КАТИОННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХЛОРИНА e_6 , АДсорбированных на Поверхности Частиц Слоистого Силиката Магния

Градова М.А.¹, Маклакова И.А.¹, Лоухина И.В.², Худяева И.С.²,
Лобанов А.В.¹, Белых Д.В.²

¹ *Федеральный исследовательский центр химической физики
им. Н.Н. Семенова РАН*

² *Институт химии Коми научного центра Уральского Отделения РАН
E-mail: m.a.gradova@gmail.com*

На сегодняшний день фотосенсибилизаторы хлоринового ряда наиболее активно используются в фотомедицине (в классической и в антимикробной фотодинамической терапии), а также в качестве контрастных агентов для флуоресцентной диагностики [1-4]. Помимо медицинских приложений, производные хлорофилла используются при создании фотовольтаических устройств преобразования солнечной энергии [5-9]. В последнее время ведутся активные исследования хлоринов как компонентов гетерогенных фотокатализаторов видимого света для фотосенсибилизированного окисления органических субстратов [10], фоторазложения воды [11-12], фотоочистки и фотообеззараживания сточных вод [13,14]. В связи с этим, необходимо исследовать возможность модификации хлоринами доступных минеральных носителей, обеспечивающих сохранение стабильно высокой фотохимической активности связанных фотосенсибилизаторов в гетерогенных реакциях фотосенсибилизированного окисления. В данной работе рассматривается методика получения, физические свойства и фотохимическая активность гетерогенных фотокатализаторов на основе синтетического слоистого силиката магния, модифицированного моно- ди- и трикатионными производными хлорина e_6 (Рис. 1).

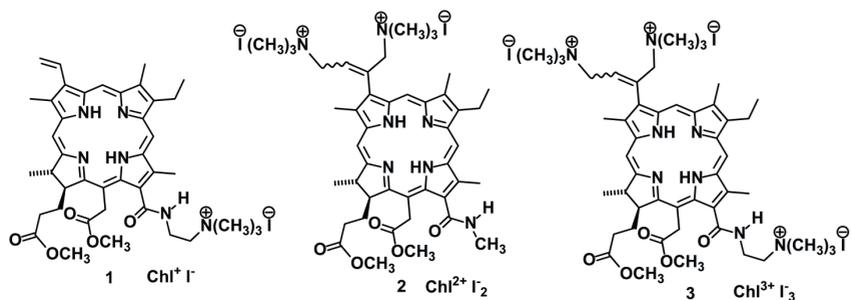


Рис. 1. Структура катионных хлоринов-фотосенсибилизаторов.

Синтез слоистого силиката магния состава гекторита производился по известной методике [15]. Синтез, выделение и очистка катионных хлоринов проводились в соответствии с методиками, описанными ранее [16-18]. При термообработке исходных силикатов разбавленными водными растворами хлоринов при перемешивании были получены образцы модифицированных силикатов, содержащие свободные (неассоциированные) молекулы хлоринов **1-3** как на поверхности частиц смектита, так и в межслоевом пространстве.

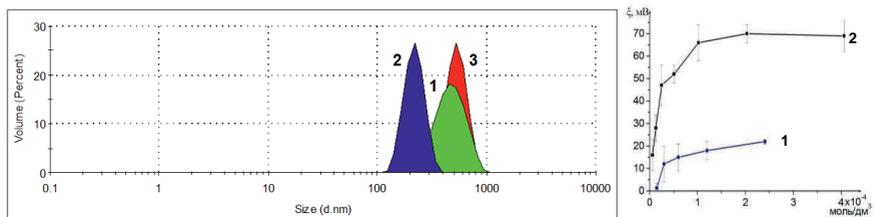


Рис. 2. *a* – Распределение частиц агрегатов хлоринов **1-3** по размерам в воде; *б* – Электрокинетический потенциал частиц агрегатов хлоринов в зависимости от концентрации **1** и **2** в воде.

Несмотря на присутствие катионных групп на периферии макроцикла, все три исследованных хлорина в водной среде склонны к самоассоциации с образованием надмолекулярных агрегатов субмикронного размера (Рис. 2а). По мере разбавления водных растворов хлоринов снижается размер частиц и ζ -потенциал (Рис. 2б), что указывает на частичную дезагрегацию. По этой причине, модификацию силиката хлоринами производили в разбавленных

водных растворах. При модификации силиката соединениями **1-3** происходит адсорбция хлоринов на поверхности отрицательно заряженных частиц, а также их интеркаляция в межслоевое пространство. Катионы соединений **1-3** связываются за счет электростатического взаимодействия с отрицательно заряженным силикатным слоем, снижая отрицательный электрокинетический потенциал на поверхности частиц и увеличивая величину межслоевого расстояния в смектите. По данным динамического светорассеяния, для всех трех хлоринов наблюдается заметное увеличение гидродинамического диаметра частиц в образцах с высоким содержанием хлоринов **1-3**, сопровождающееся скачкообразным снижением ζ -потенциала [13].

В электронных спектрах органоимодифицированных образцов полосы поглощения соединений **1-3** смещены относительно их положения в этаноле в результате взаимодействия производных хлорина e_6 с минеральной матрицей. При этом положение полос поглощения хлоринов **1-3** аналогично таковому в 0.1 М растворе соляной кислоты, где соединения **1-3** находятся в протонированной форме. Внутрициклические атомы азота соединений **1-3** в органоимодифицированных образцах протонируются за счет взаимодействия с протон-донорными ОН-группами на поверхности силиката магния, что приводит к дополнительной электростатической стабилизации молекул адсорбата на поверхности адсорбента. При увеличении количества соединений **1-3** в органоимодифицированных образцах наблюдается bathochromное смещение полосы S_{ore} в спектрах поглощения связанных хлоринов, которое обусловлено процессами агрегации адсорбированных производных хлорина e_6 на поверхности минерального носителя [13].

С целью установления влияния степени модификации носителя на фотохимическую активность суспензий модифицированного слоистого силиката магния были сопоставлены интенсивность флуоресценции и эффективность генерации синглетного кислорода для серии образцов 2.2-2.7 с одинаковым массовым содержанием слоистого силиката 0.06 % и различным содержанием хлорина **2**. При этом установлено, что по мере возрастания

количества адсорбированного хлорина **2** интенсивность флуоресценции его связанной мономерной формы изменяется нелинейно. Так, на рисунке 3а можно видеть, что для первых трех образцов (2.2-2.4) происходит разгорание флуоресценции с $\lambda_{\max} = 646$ нм, тогда как дальнейшее увеличение содержания хлорина **2** приводит к тушению флуоресценции (образцы 2.5-2.7), сопровождающемуся увеличением интенсивности длинноволновой компоненты с $\lambda_{\max} = 702$ нм в спектрах испускания, что может являться следствием межхромофорного взаимодействия в результате агрегации молекул хлорина.

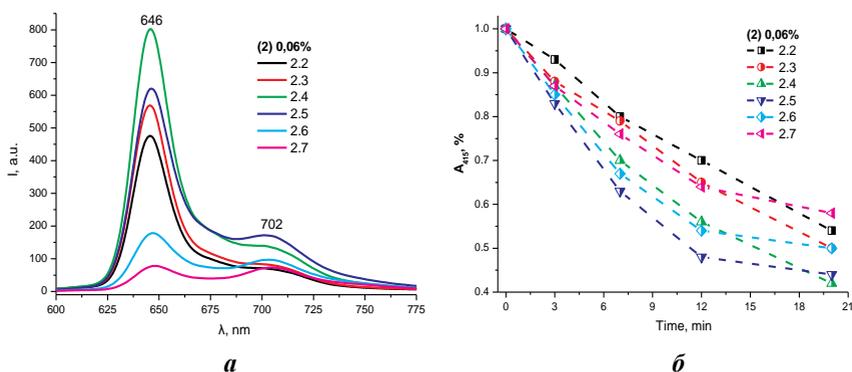
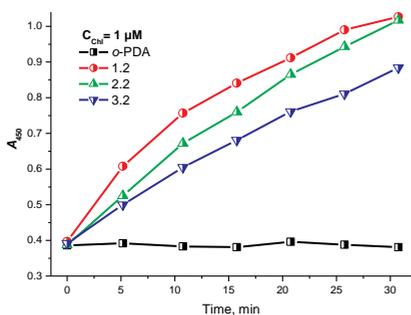


Рис. 3. Спектры флуоресценции (а) и кинетические кривые окисления DPBF (б) для образцов одинаковым массовым содержанием слоистого силиката 0.06 % и различным содержанием хлорина **2**.

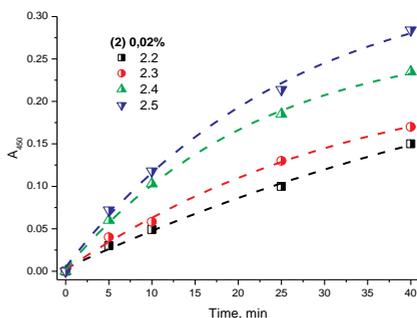
Полученные результаты согласуются с данными по фотодинамической активности суспензий в генерации синглетного кислорода, которая оценивалась по скорости окисления селективного акцептора 1O_2 - 1,3-дифенилизобензофурана (DPBF). На рисунке 3б приведены кинетические кривые, подтверждающие нелинейную зависимость фотохимической активности суспензий от количества связанного хлорина. При этом максимальная скорость генерации синглетного кислорода наблюдается у образцов 2.4 и 2.5, содержащих максимальное количество сенсibilизатора **2** в фотоактивной мономерной (неагрегированной) форме.

Интенсивность флуоресценции для образцов с одинаковым мольным содержанием хлорinov **1-3** оказалась сопоставимой, и их фотодинамическая активность в генерации синглетного кислорода также оказалась очень близкой. Таким образом, наибольшее влияние на фотохимическую активность органомодифицированного слоистого силиката магния оказывает не количество катионных групп в молекуле хлорина, а степень модификации минерального носителя. Максимальная эффективность фотосенсибилизации достигается при содержании хлорина в образце слоистого силиката порядка 0.5 масс. %.

Аналогичные результаты получены при исследовании фотохимической активности суспензий слоистого силиката магния при сенсibilизированном окислении модельного восстановителя - *o*-фенилендиамина (*o*-PDA). Как видно из графиков, представленных на рисунке 4а, все три производных хлорина *e*₆ при одинаковой концентрации демонстрируют сопоставимую фотохимическую активность с максимальным значением, характерным для монокатионного хлорина **1**. Среди суспензий с различным содержанием хлорина **2** наблюдается существенное повышение скорости окисления *o*-PDA в образцах с промежуточным содержанием фотосенсибилизатора (2.4 и 2.5) на уровне 0.3-0.6 масс. % (Рис. 4б).



а



б

Рис. 4. Кинетические кривые фотосенсибилизированного окисления *o*-PDA в присутствии образцов слоистого силиката, модифицированного катионными хлоринами **1-3**.

Оптические микрофотографии в трансмиссионном и флуоресцентном режимах регистрации демонстрируют интенсивную флуоресценцию частиц, модифицированных хлорином **1** (Рис. 5а,д). По данным сканирующей электронной микроскопии исходный минеральный носитель характеризуется крайне высокой степенью полидисперсности с преобладанием частиц размером 1-10 мкм. Присутствие более крупных частиц, по сравнению с данными динамического светорассеяния, объясняется тем, что при исследовании суспензии в растворе частицы размером более микрона быстрее седиментировали, поэтому не учитывались в результатах измерения. Отдельные частицы обладают шероховатой поверхностью и выраженной слоистой структурой на поперечном срезе, типичной для глинистых минералов (Рис. 5 е-з). При сопоставлении микрофотографий исходного слоистого силиката магния с образцами, модифицированными хлоринами, значимых различий в размерах, форме и морфологии отдельных частиц выявлено не было.

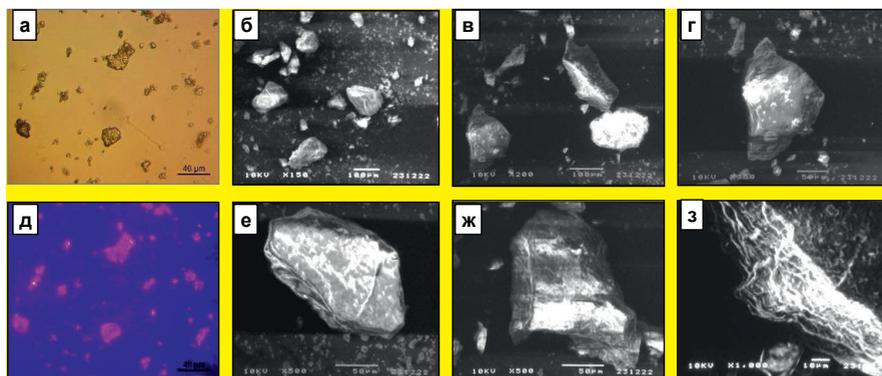


Рисунок 5. Оптические (*a* – трансмиссионный, *д* – флуоресцентный режим) и электронные (*б* – *г*, *е* – *з*) микрофотографии частиц слоистого силиката магния, модифицированного хлорином **1**.

Таким образом, для слоистого силиката магния, модифицированного катионными производными хлорина e_6 , было продемонстрировано наличие фотохимической активности в отношении ряда модельных восстановителей. Фотохимическая активность моно-, ди- и трикатионных хлоринов в составе органомодифицированного силиката оказалась близкой, а ее оптимальное значение достигается при содержании хлоринов на уровне 0.5 масс.% (5-7 мкмоль/г силиката). Снижение фотохимической активности и интенсивности флуоресценции в образцах с высоким содержанием хлоринов объясняется их частичной агрегацией, приводящей к дезактивации возбужденных состояний и снижению эффективности переноса энергии / электрона с возбужденных молекул хлоринов. Склонность частиц микронного размера к седиментации требует проведения гетерогенных фотокаталитических реакций с участием силиката магния, модифицированного катионными производными хлорина e_6 , в условиях постоянного перемешивания.

Благодарности

Авторы выражают признательность Градову О.В. за предоставленную возможность исследования образцов методом СЭМ на оборудовании ЦКП мультипараметрической микроскопии.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (FFZE-2022-0009).

Литература

1. Gradova M.A., et al. // International Journal of Molecular Sciences, 2023, Vol. 24, No 1, P. 345.
2. Kustov A.V., et al. // Pharmaceutics, 2022, Vol. 15, No 1, P. 61.
3. Pylina Y.I., et al. // Macroheterocycles, 2021, Vol. 14, No 4, P. 317.
4. Juzeniene A. // Photodiagnosis & Photodynamic Therapy, 2009, Vol. 2, No 6, P. 94.
5. Ikegami M., et al. // Electrochemistry, 2008, Vol. 76, No 2, P. 140.
6. Wang X.F., Kitao O. // Molecules, 2012, Vol. 17, No 4, P. 4484.
7. Liu X., et al. // Dyes and Pigments, 2013, Vol. 98, No 2, P. 181.
8. Ocakoglu K., et al. // Inorganica Chimica Acta, 2016, Vol. 439, P. 30.
9. Chevrier M., et al. // Molecules, 2020, Vol. 25, No 1, P. 198.
10. Bai X., et al. // Applied Catalysis B: Environmental, 2022, Vol. 303, P. 120895.
11. Liu Y., et al. // Advanced Materials Interfaces, 2021, Vol. 8, No 20, P. 2101303.

12. Zheng T., et al. // *Applied Surface Science*, 2023, Vol. 619, P. 156570.
13. Loukhina I.V., et al. // *Russian Journal of General Chemistry*, 2021, Vol. 91, No 4, P. 697.
14. Marin M.L., et al. // *Chemical Reviews*, 2012, Vol. 112, No 3, P. 1710.
15. Лоухина И.В. и др. // *Бутлеровские сообщения*, 2019, Т. 58, №4, С. 34.
16. Gushchina O.I., Larkina E.A., Mironov A.F. // *Macroheterocycles*, 2014, Vol. 7, No 4, P. 414.
17. Tarabukina I.S., Startseva O.M., Patov S.A., Belykh D.V. // *Macroheterocycles*, 2015, Vol. 8, No 2, P. 168.
18. Venediktov E.A., et al. // *Macroheterocycles*, 2017. Vol. 10, No 3, P.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}$ - ТЕТРАФЕНИЛПОРФИРИНА В КОМПЛЕКСЕ С ПОЛИМЕРОМ

Грузнов Д.В.¹, Грузнова О.А.², Попов Н.И.¹, Щербакова Г.Ш.¹,
Степанова С.П.¹, Лобанов А.В.²

¹ВНИИВСГЭ – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН

²ФГБУН Федеральный исследовательский центр химической физики
им. Н.Н. Семенова Российской академии наук
E-mail: 79164422245@yandex.ru

Увеличение числа штаммов микроорганизмов, обладающих устойчивостью к антибактериальным и дезинфицирующим средствам, представляет серьезную проблему как при лечении инфекционных заболеваний у людей и животных, так и при проведении дезинфекционных мероприятий [1-4].

Решение этой проблемы достигается путем поиска и внедрения новых препаратов, способных преодолеть резистентность бактерий. Перспективными соединениями в данном аспекте представляются металлопорфирины, которые на протяжении многих лет успешно применяются при проведении фотодинамической (ФДТ) и светонезависимой терапии [5, 6]. К несомненным преимуществам металлопорфиринов относится их низкая токсичность в отношении эукариотических клеток. Повышение растворимости металлопорфиринов в водных системах достигается за счет включения их в полимерные носители [7].

В данной работе приводятся результаты оценки антибактериальной активности представителя группы металлопорфиринов – $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}$ -тетрафенилпорфирина (FeClTPP), включенного в полимерную матрицу поли-*N*-винилпирролидона (ПВП) – FeClTPP -ПВП в отношении представителя грамотрицательных микроорганизмов – *Escherichia coli* и грамположительных – *Staphylococcus aureus*. Данный выбор был обусловлен тем, что эти бактерии являются одной из наиболее частых причин антибиотикорезистентных инфекций. Кроме того, *E. coli* и *S. aureus* – широко распространенные

контаминанты множества критических точек при производстве фармацевтической и пищевой продукции.

Fe^{III}Cl-тетрафенилпорфирин (FeClТФП) был любезно предоставлен коллегами из МИРЭА – Российского технологического университета. Исходный раствор FeClТФП с концентрацией 10⁻² моль/л готовили растворением сухой навески FeClТФП в ДМФА при интенсивном перемешивании. После этого разбавлением получали серию растворов FeClТФП в ДМФА с концентрацией 1, 2, 4, 6, 8 и 10 мМ. Затем готовили раствор ПВП в дистиллированной воде (10 мас.%). К серии порций этого раствора по 1 мл добавляли 10 мкл раствора FeClТФП в ДМФА для получения конечных концентраций FeClТФП 10, 20, 40, 60, 80 и 100 мкМ, а также 10 мкл чистого ДМФА для получения контрольного образца. Полученные смеси помещали в цилиндрические стеклянные сосуды объемом 10 мл, которые вращали в горизонтальном положении со скоростью 10 об/мин до полного высыхания смесей и получения пленок. Регистрацию электронных спектров поглощения (200-900 нм) чистых растворов FeClТФП и FeClТФП в присутствии раствора ПВП проводили в кюветах шириной 1 см на спектрофотометре DR/4000, Nash.

Для получения суточных культур *E. coli* (штамм 1257) и *S. aureus* (штамм 209-Р) проводили их пересев и дальнейшее культивирование на скошенном МПА в термостате (24 ч, 37 °С, термостат суховоздушный ТВ-80-1). Из суточных культур в стерильном физиологическом растворе готовили взвеси 10⁹ м.к./мл по стандарту мутности. Полученные концентрации взвесей подтверждались спектрофотометрически ($\lambda = 600$ нм). Далее из взвесей суточных культур *E. coli* и *S. aureus* (10⁹ м.к./мл) готовили последовательные разведения шагом в 10 раз: 10⁸ м.к./мл, 10⁷ м.к./мл, 10⁶ м.к./мл, 10⁵ м.к./мл и 10⁴ м.к./мл путем титрования в стерильном физиологическом растворе. Для имитации бактериальной контаминации поверхности в пенициллиновые флаконы с напыленным комплексом FeClТФП-ПВП было помещено 5 мл стерильного МПБ. После чего вносилось 50 мкл указанных разведений

бактериальной взвеси *E. coli* и *S. aureus*. Пенициллиновые флаконы закрывались стерильными пробками и помещались в термостат (24 ч, 37 °С). Полученные результаты учитывали визуально и спектрофотометрически ($\lambda = 600$ нм).

На рисунке 1 представлены электронные спектры водных растворов ПВП, содержащих FeСІТФП в концентрации: 10, 20, 40, 60, 80 и 100 мкМ. Спектры, представленные на рисунке 1а, показывают, что полосы поглощения FeСІТФП уширены, что связано с проявлением координационных и других нековалентных взаимодействий с макромолекулами полимера и, возможно, с локальной концентрацией молекул порфирина в областях связывания с макромолекулами ПВП. В то же время интенсивность полосы Soret линейно возрастает с увеличением концентрации FeСІТФП (рисунок 1б). Кроме того, в спектрах не появляются новые полосы, характерные для Н- или J-агрегатов порфиринов. Этот факт позволяет сделать вывод, что образования агрегатов FeСІТФП в водных растворах ПВП не происходит.

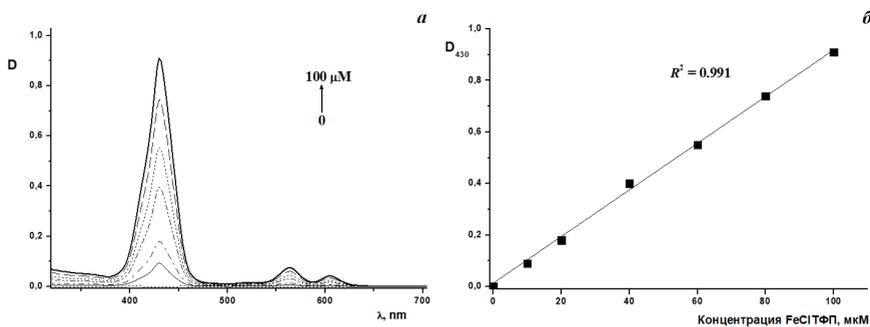


Рис. 1. Электронные спектры поглощения FeСІТФП (0, 10, 20, 40, 60, 80 и 100 мкМ) в водном растворе ПВП (а) и зависимость оптической плотности от концентрации FeСІТФП (б).

Учет результатов антибактериальной активности проводили путем визуальной регистрации мутности МПБ относительно контрольного стеклянного сосуда, содержащего стерильные МПБ без добавления пробы и

бактериальной взвеси. Мутность зависела от повышенной интенсивности роста микроорганизмов. Было проведено спектрофотометрическое исследование ($\lambda = 600$ нм) содержимого стеклянных сосудов для определения степени ингибирования роста микроорганизмов FeCITФП в полимерной пленке. Полученные данные позволяют заключить, что нанесенный на поверхность стекла комплекс FeCITФП-ПВП оказывает сопоставимое ингибирующее действие на рост *E. coli* и *S. aureus*, которое прямо пропорционально концентрации препарата и обратно пропорционально степени разбавления бактериальной взвеси (рисунок 2). При воздействии минимальной концентрации препарата (10 мкМ) степень торможения роста была незначительной и составила 8,9 и 9,0% соответственно. Так, максимальная начальная концентрация FeCITФП (100 мкМ) снижала рост микроорганизмов на обработанных поверхностях на 86,5% и 86,8% для *E. coli* и *S. aureus* соответственно.

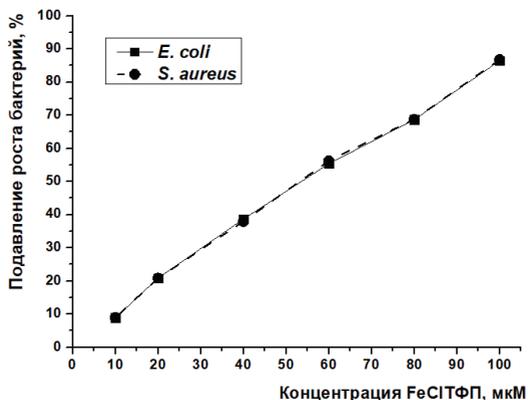


Рис. 2. Взаимосвязь исходных концентраций FeCITФП и ингибирующего действия на *E. coli* и *S. aureus*.

Таким образом, на основании представленных данных можно сделать заключение о возможности солиubilизации FeCITФП в неагрегированной форме в водном растворе ПВП. Пленки, полученные из этих растворов, могут

быть нанесены на твердые поверхности. Молекулы FeСІТФП в пленке ПВП оказывают значительное ингибирующее действие на рост *E. coli* и *S. aureus*. Эффект FeСІТФП зависит от исходного количества бактериальных клеток и содержания металлокомплекса в полимерной матрице. Данное исследование может быть полезным при разработке новых препаратов для дезинфекции объектов ветеринарно-санитарного надзора и борьбы с антибиотикорезистентными грамотрицательными и грамположительными микроорганизмами.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований РФ (тема № FFZE-2022-0009).

Литература

1. Tong Ch, Hu H., Chen G., Li Zh., Li A., Zhang J. // *Environmental Research*, 2021,195, 110897
2. Zachary M., Joelle W., Alexander S. // *Viruses*, 2018, 10, 205.
3. Afifi Z.M., Blatchley E.R. // *Water Res.*, 2016, 105, 167.
4. Аржаков П.В., Попов Н.И. // *Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии»*, 2022, № 4 (44), С. 416.
5. Skwor T.A., Klemm S., Zhang H., Schardt B., Blaszczyk S., Bork M.A. // *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 2016, 165, 51.
6. Alenezi K., Tovmasyan A., Batinic-Haberle I., Benov L.T. // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2017, 17, 154.
7. Lobanov A.V., Nevrova O.V., Ilatovskii V.A., Sin'ko G.V., Komissarov G.G. // *Macroheterocycles*, 2011, 4(2), 132.

СОДЕРЖАНИЕ 5-ГИДРОКСИМЕТИЛ-2-ФУРАЛЬДЕГИДА В МЕДЕ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ВЫСОКИХ ТЕМПЕРАТУР

Грузнова О.А.¹, Лобанов А.В.^{1,2}, Сохликов А.Б.³, Грузнов Д.В.³

¹*ФГБУН Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук*

²*ФГБОУ ВО «Московский педагогический государственный университет»*

³*ВНИИВСГЭ – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН*

E-mail: gruznova_olga@bk.ru

5-Гидроксиметил-2-фуральдегид (5-ГМФ) – циклический альдегид, образующийся в меде при дегидратации моносахаров, в частности, глюкозы. Данный процесс происходит в результате термического воздействия, а также при хранении этого продукта в течение долгого времени [1].

В виду того, что 5-ГМФ является токсическим соединением, его предельно допустимая концентрация (ПДК) строго регламентируется. Для детекции этого соединения в меде применяют как качественный, так и количественный анализы, что позволяет, в итоге, с высокой степенью достоверности выявить термообработанный и долгохранящийся продукт [2].

В литературных источниках, в основном, представлены данные о длительных режимах термообработки меда, при которых содержание 5-ГМФ увеличивается. При этом следует отметить, что аналогичная информация о результатах воздействия кратковременных режимов (не более 2 ч) встречается намного реже, несмотря на то, что длительное нагревание меда приводит к изменению его химического состава, в связи с чем такая термообработка является нежелательной [3, 4].

Таким образом, целью настоящей работы было определение порога температуры, за которым концентрация 5-ГМФ резко увеличивается (при условии температурного воздействия в течение не более 2 ч).

В данной работе были использованы образцы подсолнечникового меда *Helianthus annuus L.* (n = 26), отобранные в Ростовской, Волгоградской и Саратовской областях в период 2021-2022 г.

5-ГМФ анализировали методом ОФ-ВЭЖХ согласно ГОСТ 31768-2012 [5]. Анализ проводился с использованием хроматографа Shimadzu LC-20 Prominence, колонки Eclipse XDB-C18 (150 × 4.6 мм, 5 мкм) с диодно-матричным детектором (диапазон одновременно детектируемых длин волн 210-400 нм, рабочая длина волны – 283 нм), в градиентном режиме при скорости потока 1.0 мл/мин. Время удерживания пика – 3.83 мин. Структурная формула 5-ГМФ представлена на рисунке 1.

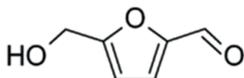


Рис. 1. Структурная формула 5-гидроксиметил-2-фуральдегида (5-ГМФ).

Палинологический состав, содержание влаги, суммарную массовую долю редуцирующих сахаров, диастазную активность и свободную кислотность определяли в соответствии с действующими ГОСТами. Концентрацию пероксида водорода (H_2O_2) детектировали с помощью спектрально-иодометрического метода, ранее нами адаптированного и модифицированного для этих целей [6].

Выбор указанных физико-химических параметров меда в качестве анализируемых критериев был обусловлен тем, что, как известно из литературных источников, все они (за исключением 5-ГМФ) являются факторами его антимикробного действия. В связи с этим, происходящие с ними негативные изменения могут, в итоге, привести к снижению бактерицидной активности этого целебного продукта.

Результаты анализа физико-химических параметров до и после нагревания образцов меда при 50, 60, 70, 80 и 90 °С в течение 1 и 2 ч представлены в таблице 1.

Таблица 1. Физико-химические показатели образцов меда до и после термообработки

Режимы	Содержание 5-ГМФ, мг/кг	Влажность, %	Суммарная массовая доля редуцирующих сахаров, %	Свободная кислотность, мэкв/кг	Диастазное число, ед. Готе	Концентрация H_2O_2 , $\times 10^{-4}$ моль/л
До обработки	2.4±0.1	16.8±0.8	79.7±3.8	22.1±0.9	15.1±2.5	0.79±0.03
1 час						
50 °С, 1 ч	3.7±0.2	16.7±0.5	78.4±3.5	23.5±1.1	14.3±1.6	0.72±0.02
60 °С, 1 ч	5.1±0.2	16.7±0.6	77.1±2.9	23.4±1.2	13.1±0.5	0.66±0.03
70 °С, 1 ч	8.3±0.4	16.6±0.7	71.3±2.3	24.2±0.8	6.9±0.6	0.37±0.04
80 °С, 1 ч	10.1±0.5	16.6±0.6	70.7±3.2	24.8±0.7	3.5±0.7	0.28±0.02
90 °С, 1 ч	13.5±0.7	16.5±0.6	68.1±2.6	25.9±1.3	2.1±0.1	0.17±0.02
2 часа						
50 °С, 2 ч	4.9±0.3	16.6±0.8	76.8±2.6	23.3±0.5	13.7±1.7	0.67±0.03
60 °С, 2 ч	9.3±0.5	16.3±0.2	71.2±3.1	25.8±1.1	7.8±0.5	0.32±0.02
70 °С, 2 ч	14.9±0.7	16.2±0.5	67.8±2.7	26.1±1.1	6.5±0.8	0.21±0.02
80 °С, 2 ч	16.8±0.9	16.1±0.4	62.1±3.1	27.3±1.4	1.7±0.4	0.12±0.01
90 °С, 2 ч	19.9±1.1	16.0±0.4	59.2±1.9	28.2±0.7	0.5±0.1	0.05±0.01

Как видно из полученных данных, содержание 5-ГМФ увеличивалось в зависимости от температуры и продолжительности воздействия. Однако, ПДК (25.0 мг/кг) не была превышена даже при обработке 90 °С в течение 2 ч. Резкое увеличение его концентрации отмечалось после 1-часовой обработки при 70 °С и после 2-часовой обработки при 60 °С (на 240 и 280%, соответственно). Снижение суммарного содержания редуцирующих сахаров, диастазной активности и концентрации H_2O_2 наблюдалось при тех же режимах. При этом свободная кислотность значительных изменений не претерпевала.

Таким образом, можно заключить, что резкое увеличение содержания 5-ГМФ, а также снижение массовой доли редуцирующих сахаров, активности диастазы и концентрации H_2O_2 наблюдалось при 70 °С, 1 ч и 60 °С, 2 ч. В связи с этим, данные режимы можно считать тем самым нежелательным порогом термообработки, за которым начинают происходить необратимые изменения в химическом составе меда.

Работа выполнена в рамках проекта «Исследование проблем утилизации отходов природного происхождения в целях практического использования полученных продуктов» (122122600056-9).

Литература

1. Урженко В.В., Романова Ж.В., Хабиев А.Т., Нурбакыт А.Н. // Вестник КазНМУ, 2017, 3, 389.
2. Куликова Г.А., Седых Е.С. // Научный электронный журнал «Меридиан», 2020, 18(52), 1.
3. Заикина В.И. // Экспертиза меда и способы обнаружения его фальсификации. Учебное пособие. М.: Издательский дом «Дашков и К^о», 2012, 168 с.
4. Fallico V., Zappalà M., Arena E., Verzera A. // Food Chemistry, 2004, 85, 305.
5. ГОСТ 31768-2012. // Мед натуральный. Методы определения гидроксиметилфурфурала.
6. Грузнова О.А., Лобанов А.В., Сохликов А.Б., Грузнов Д.В. // Химическая безопасность, 2022, 6(2), 215.

ТЕСТИРОВАНИЕ ЭФФЕКТОВ ОБРАБОТКИ ЭКОПЕРОКСИДОМ И ЛАЗЕРНЫМ ОБЛУЧЕНИЕМ СЕМЯН НА НАЧАЛЬНЫХ СТАДИЯХ ИХ РАЗВИТИЯ

Смурова Л.А. *, Будник М.И. *, Апашева Л.М. *, Овчаренко Е.Н. *, Савранский В.В. **, Касаикина О.Т. *, Лобанов А.В. *

**ФГБУН Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук*

***ФГБУН ФИЦ «Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН»*

Внимание к ряду некоторых значимых сельскохозяйственных и технических культур, необходимость совершенствования способов их выращивания возрастают в меняющихся условиях настоящего времени. К таким востребованным культурам относятся лен-долгунец, сахарная свекла. Увеличивается потребность в качественном продукте после переработки этого растительного сырья.

Продукты переработки:

1. Из сахарной свеклы – этанол, биотопливо, сахара (70 % сахарозы).
2. Из льна-долгунца – масло, волокна специального назначения – в том числе для получения пороха.

Одновременно увеличивается потребность в качественном посевном материале. Нужны новые способы предпосевной обработки семян с целью стимуляции роста и развития растений. Следовательно, нужны и методики определения эффектов предпосевной обработки семян. Известно, что начальные стадии развития во многом определяют успешность дальнейшего развития на последующих этапах роста растений.

Традиционно для определения эффектов предпосевной обработки семян используют морфологические тесты (прорастание семян, рост проростков и т.д.). С помощью этих тестов эффект обработки семян можно определить не ранее, чем на 1-2 сутки.

Мы изучали возможность регистрации эффектов обработки семян уже в первые часы после обработки. Использовали метод спектрофотометрии в УФ-

области, с помощью которого возможна регистрация выхода метаболитов в водный раствор из активированных семян. Выход этих веществ рассматривается как показатель начала пробуждения семян, появление первичных продуктов жизнедеятельности пробуждающихся семян (аминокислоты, сахара и др.). Метаболиты имеют характерный УФ-спектр поглощения с выраженным максимумом при $\lambda_{\text{макс}}$ 207 нм. Форма спектра не меняется на начальной стадии прорастания семян. Спектры записывали на спектрофотометре Spector UV-VIS при комнатной температуре в кварцевой кювете с длиной опт. пути $l = 1$ см.

Тест-объектами были семена:

1. Лен-долгунец сорт Универсал.
2. Сахарная свекла сорт F1 РМС 121.

Для обработки семян использовали:

1. Излучение лазера на парах меди с генерацией двух длин волн: зеленая 510,5 нм, желтая 578,2 нм. Длительность импульса излучения 15 нс. Соотношение энергии и мощности между зеленой и желтой линиями излучения 3:1, плотность мощности $2 \cdot 10^{-4}$ Вт/см².
2. Растворы экопероксида [1].
3. Растворы экопероксида с включением 2% полимера – поливинилпирролидона (ПВП) [2].

Обработка семян льна

Увлажнение семян льна приводит к их слипанию. Для предотвращения слипания использовали полимерное покрытие из поливинилпирролидона (ПВП). Стимуляцию прорастания семян льна осуществляли добавлением экопероксида в 2% раствор полимера ПВП. В контроле семена покрывали водным раствором полимера и подсушивали в течение 24 час.

Морфологические тесты. Обработанные семена льна для проращивания помещали на влажные фильтры в чашки Петри в термостат с температурой + 20°C. На вторые сутки подсчет проросших семян показал, что обработанные экопероксидом семена опережают контроль на 20%. Наибольший эффект

стимуляции был определен на 4-е сутки проращивания, когда было получено превышение контрольных значений более, чем на 30%.

Спектрофотометрические измерения. Для определения выхода метаболитов семена тщательно отмывали в дистиллированной воде до исчезновения следов полимера. Далее отмытые семена помещали в кварцевую кювету с бидистиллированной водой и записывали УФ-спектры относительно воды через каждые 15 мин. Уже через полчаса обнаружилась разница в интенсивности и скорости накопления метаболитов в обработанных семенах относительно контрольных.

Обработка семян сахарной свеклы

Прорастание семян свеклы стимулировали:

- а) лазерным излучением;
- б) растворами экопероксида.

1. Обработка семян лазерным излучением.

Анализ эффективности обработки определяли по морфологическим тестам через 2 суток при проращивании в чашках Петри на фильтрах в термостате, при температуре +20°C.

Спектрофотометрическое исследование начала пробуждения семян по выходу в водную среду метаболитов показало, что характер УФ-спектров не менялся по ходу процесса пробуждения. Пробы воды в контроле и опытах отбирали через определенные промежутки времени. После замера семена возвращали в сосуды с водой для следующих измерений. Выход метаболитов в воду идет достаточно быстро с начальной скоростью $4,2 \cdot 10^{-3}$ отн.ед./мин для контрольных образцов. Для опытных образцов скорость выхода метаболитов зависела от времени облучения (рис.1): $7,0 \cdot 10^{-3}$ отн.ед./мин и $8,0 \cdot 10^{-3}$ отн.ед./мин для образцов с облучением, соответственно 10 и 20 сек. Однако, более продолжительное облучение в 90 сек. Приводит к уменьшению скорости выхода метаболитов - $2,90 \cdot 10^{-3}$ отн.ед./мин (кривая 4, рис.1). В этом случае и по морфологическим тестам через 48 часов после облучения определено блокирование прорастания семян.

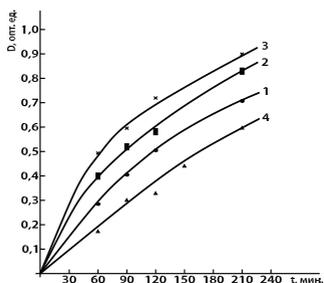


Рис. 1. Кинетические кривые выхода метаболитов во времени из семян сахарной свеклы. Контроль- кривая 1. Опыт – кривые 2, 3, 4, облучение, соответственно, 10, 20 и 90 сек.



Рис. 2. Проростки сахарной свеклы (8-ми суточные) после обработки семян лазером в течение 10 сек (контроль и опыт).

2. Обработка семян растворами экопероксида

Семена сахарной свеклы увлажняли в контроле – водой, в опыте – растворами экопероксида. Рабочие растворы экопероксида содержали пероксид водорода в следующих концентрациях: $O_1 - 5 \cdot 10^{-4}$ М, $O_2 - 5 \cdot 10^{-5}$ М, $O_3 - 5 \cdot 10^{-6}$ М. Концентрацию пероксида водорода определяли методом йодометрии [3]. Увлажненные семена раскладывали в чашки Петри и проращивали в термостате при $+20^\circ\text{C}$. Через 48 часов определено, что в O_1 блокировано прорастание семян. Наибольший эффект стимуляции получен в O_3 , где превышены контрольные значение на 40%. Проведен анализ наименьшего времени, достаточного для стимуляции прорастания семян при контакте с

экопероксидом. Получено, что 30 -ти минутной обработки семян свеклы раствором экопероксида (концентрация пероксида водорода $5 \cdot 10^{-6}$ М) достаточно для активации семян, что зафиксировано уже через час после обработки по скоростям выхода метаболитов спектрофотометрическим методом. Пробуждение семян с помощью морфологических тестов отмечено через 48 часов проращивания семян.

Следует отметить, что ранее [4] нами было показано, что обработка семян хвойных деревьев (ель, сосна) лазерным импульсным излучением в течение 90 сек приводит к их активации, и интенсивность УФ-полосы метаболитов и скорость ее увеличения через 2 часа после воздействия была в несколько раз выше по сравнению с контролем.

Данные по обработке сухих семян сахарной свеклы растворами экопероксида с разным количеством пероксида водорода в них и импульсным лазерным излучением с разными временными позициями свидетельствуют о возможности стимулировать начало активации семян сахарной свеклы при минимальном воздействии, что показано уже при 1-1,5 часа после обработки.

Существенно, что мы использовали короткое по времени воздействия на семена, а именно 30 мин контакта с раствором экопероксида или 10-ти секундным лазерным облучением. Этого короткого времени воздействия было достаточно для получения значительного стимулирующего рост эффекта.

Таким образом:

1. На семенах представителей 3-х различных видов растений: сахарная свекла семейство Амарантовые; лен семейство Льновые; ель семейство Хвойные показана возможность раннего тестирования действия предпосевной обработки семян тремя разными способами.
2. Семена обрабатывали лазерным импульсным излучением, увлажнением растворами экопероксида и пленочным полимерным покрытием.
3. Тестирование на начальных стадиях активации семян осуществляли, измеряя выход метаболитов из пробуждающихся семян.

4. Спектрофотометрическое измерение выхода метаболитов по УФ-спектрам поглощения может быть использован для экспресс-определения эффектов предпосевной обработки семян различными способами.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований РФ (тема № FFZE-2022-0009).

Литература

1. Ю.Э. Кириш // Поливинилпирролидон и другие поливиниламиды. М.: Наука, 1998, 249 с.
2. Л.М. Апашева, М.И. Будник, Е.Н. Овчаренко, А.В. Лобанов. // Экологически чистый пероксид водорода. Получение и свойства. Актуальные вопросы биологической физики и химии. 2021, т. 6, № 2, с. 358-361.
3. Г.Г. Комиссаров // Фотосинтез: физико-химический подход. М.: Едиториал УРСС6 2003, 224 с.
4. Л.М. Апашева, О.Т. Касаикина, Л.А. Смурова, Е.Н. Овчаренко, А.В. Лобанов. // Повышение всхожести и устойчивости к стрессам семян ели. Патент РФ № 2790449.

ИНКРУСТАЦИЯ СЕМЯН ЛЬНА ПОЛИМЕРНЫМ ПОКРЫТИЕМ, СТИМУЛИРУЮЩИМ ИХ РОСТ

Апашева Л.М.¹, Будник М.И.¹, Овчаренко Е.Н.¹, Степнова А.Ф.², Казиев Г.З.², Гущенко У.А.², Мвенге К.Л.², Орлова В.В.², Лобанов А.В.^{1,2}

¹*ФГБУН Федеральный исследовательский центр химической физики
им. Н.Н. Семенова Российской академии наук*

²*ФГБОУ ВО «Московский педагогический государственный университет»*

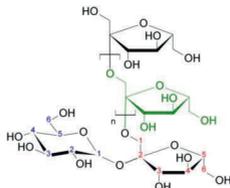
Лен-долгунец, исконно русская культура, известна в стране еще с II века до н.э. Это уникальная безотходная пищевая и техническая культура, все части которой могут быть использованы в различных отраслях народного хозяйства, в том числе и в медицине [1]. Состав льняного семени говорит о его биологической ценности, играет значимую роль в производстве продовольствия. Примерный состав семени по сухому весу: жировая составляющая 41%, протеины 21%, клетчатка 18%, сахар 6%. Состав семени и самого растения меняются в зависимости от сорта, среды и способа выращивания. В настоящее время во все более увеличивающихся масштабах культивируют лен специального назначения, в том числе для получения пороха [2]. Лен размножается в основном посевом семян. Для получения нужных урожаев всхожесть посевного материала должна быть не менее 80%.

Предпосевная обработка семян для стимуляции роста осложняется тем, что незначительное увлажнение семян приводит к слипанию посевного материала до образования комьев. Слипание увлажненных семян объясняется их специфическим строением. Они покрыты оболочкой, которая при увлажнении набухает, что ведет к слипанию.

Существует несколько способов предпосевной обработки семян льна (СВЧ-излучение, лазерное излучение, использование химических препаратов и др.). Часто это многоэтапные методы, что усложняет и удорожает процесс обработки. Нами предлагается способ избежать слипания семян в процессе предпосевной обработки для повышения всхожести. Предложена инкрустация семян полимером инулин с включенным в него пероксидом.

Инулин – органический полимер из группы полисахаридов, полимер D-фруктозы (35 звеньев). Молекулярная масса 6000 г/моль, белый водорастворимый порошок. Получается из клубней инулинсодержащих растений [3], в данной работе из клубней топинамбура, подвергнутых предварительной кавитационной обработке в различных режимах.

Инулин - $(C_6H_{10}O_5)_n$ — органическое вещество из группы полисахаридов, полимер D-фруктозы. Формула инулина:



Экопероксид – экологически чистый пероксид водорода, регулятор роста.

Известны способ и устройство для получения экологически чистого раствора пероксида водорода, в частности, из дистиллированной воды с помощью воздействия на нее стримерами высоковольтного электрического разряда [4].

Растворы экопероксида тестировали по количеству содержащегося в нем пероксида водорода. Концентрацию пероксида определяли методом йодометрии [5]. В работе использовали определенные водные растворы экопероксида, содержащие пероксид в следующих концентрациях для нескольких вариантов опытов: опыт $O_1 - 5 \cdot 10^{-4}$ М; опыт $O_2 - 5 \cdot 10^{-5}$ М; опыт $O_3 - 5 \cdot 10^{-6}$ М.

Приготовление рабочих растворов инкрустатора (полимер инулин + экопероксид).

В заранее приготовленные водные растворы экопероксида с определенной концентрацией в нем пероксида водорода добавляли нужное количество полимера инулина для получения в общем растворе инкрустатора концентрацию инулина, равную 2%.

Предпосевная обработка семян льна.

Оптимальное соотношение количества семян и инкрустатора следующее:

К 100 г сухих семян добавляли 50 мл раствора:

- а) в контроле 2%-раствор инулина на воде;
- б) в опытах к 100 г семян добавляли 50 мл инкрустатора (полимер + растворы экопероксида в нескольких разведениях).

Обработанные семена тщательно перемешивали до получения однородной массы. Затем обработанные семена подсушивали в течение 30 мин при температуре +19-20°C в условии лаборатории до высыхания и образования сыпучего состояния.

Подготовленные семена раскладывали на увлажненные водой фильтры в чашки Петри и помещали в термостат с температурой +19-20°C для проращивания. Учет количества живых проросших семян в контроле и опыте вели, начиная со вторых суток проращивания. Живыми проросшими считали семена льна с корнем длиной $\leq 0,5$ см. В каждом варианте опытов было не менее 100 семян.

Учитывая практическую значимость предлагаемого способа обработки семян, необходимо определить максимально допустимый интервал времени между окончанием обработки семян и началом их проращивания (либо для посева в грунт). Мы изучали влияние на степень проращивания следующих интервалов: 1, 2, 3 и 12 сутки.

Тест объектами были семена льна-долгунца, сорт Универсал и сорт Цезарь. Это новые сорта с определенными свойствами, уникальным строением и составом зеленой массы. Они используются в определенных технических целях, в том числе для получения пороха.

Отметим сразу, что семена льна сорта Цезарь менее отзывчивы на предпосевную обработку инкрустатором. Отличия опытных значений от контрольных не превышало 20%. Далее приводим результаты экспериментов с семенами льна сорта Универсал.

Результаты изучения эффектов обработки семян льна предлагаемым способом. Семена льна сорта Универсал обработаны по описанной выше методике. Интервал между окончанием обработки семян и началом проращивания 1 сутки:

Вариант	Количество проросших семян, %		
	2 сутки	3 сутки	4 сутки
К	35	50	70
O ₁	15	40	60
O ₂	45	50	75
O ₃	60	80	90

Определен максимальный эффект стимуляции проращивания семян. Он отмечен на 4 сутки опыта при использовании экопероксида с концентрацией пероксида водорода $5 \cdot 10^{-6}$ М (определено 90% проросших семян в опыте).

Пророщенные на фильтрах семена в течение 4-х суток с длиной корня $\leq 0,5$ см высаживали в культуральные сосуды на промытый и однократно увлажненный песок (150 мл песка + 50 мл дистиллированной воды). Сосуды с контрольными и опытными образцами выставляли в люминостат. Ритм освещения (свет:темнота=12:12 час). Температура +19-20°C. На 10-тые сутки после обработки семян и на 4-тые сутки роста на песке учитывали количество проростков с лопнувшими семядолями и появившимся зеленым листом. Получено, что в опытных вариантах количество проростков с зеленым листом превышало контрольное значение в O₂ на 25%, в O₁ на 30%.



Рисунок 1. Проростки льна на 10-е сутки роста

Одним из начальных тестов, по которому возможно определение начала процесса стимуляции, является фиксация выхода метаболитов из семян в водную среду, что является свидетельством начала пробуждения семян. Через 24 часа после обработки семян в контроле (инулин + вода), в опыте (инулин + экпероксид с концентрацией пероксида водорода $5 \cdot 10^{-6}$ М и $5 \cdot 10^{-5}$ М) семена тщательно отмывали в дистиллированной воде и подсушивали на фильтрах. Затем подсушенные семена помещали в специальные кюветы и заливали дистиллированной водой. Пробы воды для измерения в контроле и опыте отбирали через определенное время.

Электронный спектр поглощения записывали на Спектрофотометре Specord UV-VIS при температуре $+19^{\circ}\text{C}$ - $+20^{\circ}\text{C}$ в кварцевой кювете $L = 1$ см. В кювете сравнения была бидистиллированная вода. Вышедшие в раствор метаболиты имеют характерный спектр поглощения в UV-области с четко выраженным максимумом. Из полученных данных следует, что процесс пробуждения семян начинается уже с первых минут контакта семян с водой. Это фиксируется по выходу метаболитов в раствор. Отметим, что начало прорастания семян по морфологическим тестам можно определить лишь ко вторым суткам опыта.

Величину оптической плотности ($D_{\text{оп.ед.}}$) можно рассматривать как показатель начала и интенсивности жизнедеятельности семян в водной среде в первые часы опыта.

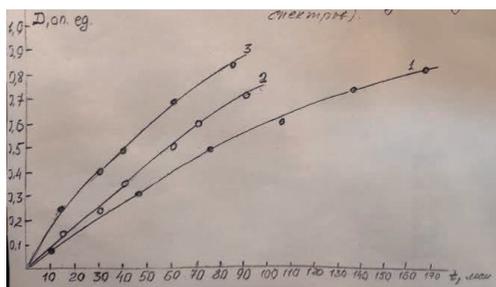


Рисунок 2. Кинетические кривые выхода метаболитов при замачивании семян льна сорта Универсал

Кривая 1 (К) – семена, без предварительной обработки полимером (контроль).

Кривая 2 (О₂) – семена, предварительно обработанные инкрустатором и тщательно отмытые дистиллированной водой (до полного исчезновения в смыве полимера), и просушенные на фильтрах.

Кривая 3 (О₃) – семена, предварительно обработанные инкрустатором и экопероксидом, отмытые дистиллированной водой (до полного исчезновения в смыве полимера) и просушенные на фильтрах.

Таким образом:

1. Создан новый экологически чистый инкрустатор для предпосевной обработки семян, для стимуляции развития льна, состоящий в определенных пропорциях, а именно, полимер инулин 2 % в водном растворе регулятора роста экопероксида.

2. Применение инкрустатора для обработки семян льна служит стимуляции прорастания семян, одновременно предотвращает слипания семян, что чрезвычайно актуально.

3. Обработка семян льна инкрустатором стимулирует прорастание семян по сравнению с контролем на 40-50%. Хранение обработанных инкрустатором семян льна ограничено во времени. Обработанные семена необходимо использовать в течение первых 4-х суток после обработки.

4. Выход обработанных семян из состояния покоя определяется надежно уже через 20-30 минут после обработки. Это фиксируется по выходу метаболитов в водную среду с помощью метода спектрофотометрии в УФ-области. С помощью морфологических тестов начало стимуляции семян по тесту появления корня и первого листа можно определить лишь через 48 часов после обработки семян.

Работа выполнена в рамках проекта «Исследование проблем утилизации отходов природного происхождения в целях практического использования полученных продуктов» (122122600056-9).

Литература

1. Попова Г.А. // Агротехнология льна. М., 2020.
2. Бобков С.А., Никишов В.П. // Лен в пороховой промышленности. М., 2021.
3. Смирнова Т.И., Осербаяев Н.К., Малахаев Е.Д. // Способ получения инулина из инулинсодержащего растительного сырья. Патент РФ №2485958.
4. Апашева Л.М., Будник М.И., Овчаренко Е.Н., Лобанов А.В. // Экологически чистый пероксид водорода, получение и свойства. Актуальные вопросы биологической физики и химии. 2021, т.6, № 2, с. 358-361.
5. Лобанов А.В., Рубцова Н.А., Комиссаров Г.Г. // Фотокаталистическая активность хлорофилла в образовании пероксида водорода. ДАН 2008 т.421, № 6, с.773-776.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА ПРИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

**Киселевский М.В., Будник М.И., Касаикина О.Т., Лобанов А.В.,
Зинатуллина К.М., Смурова Л.А., Апашева Л.М., Овчаренко Е.Н.,
Турбин В.В., Розанцев М.В.**

*ФГБУН Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н.
Семенова Российской академии наук
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России*

Известно, что одним из факторов канцерогенеза является отсутствие или очень низкая концентрация внутриклеточного кислорода (Ed McCabe «Oxygen Therapies: A New Way of Approaching Disease», Morrisville, N. Y.: Energy Pubns, 1988, с. 81).

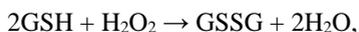
Гипоксия как общая особенность микроокружения солидных опухолей (МОО) в основном объясняется быстрой пролиферацией и чрезмерным гликолизом опухолевых клеток. Гипоксическое МОО может вызывать снижение терапевтического эффекта противоопухолевых стратегий, включая химиотерапию (ХТ), лучевую терапию (ЛТ), фотодинамическую терапию (ФДТ) и сонодинамическую терапию (СДТ). Например, индуцируемый гипоксией фактор-1 α (HIF-1 α), активируемый гипоксией в опухолях, может активировать регуляцию белка 1 (MDR1) с множественной лекарственной устойчивостью, приводящей к лекарственной устойчивости ХТ. ЛТ разрушает раковые клетки, ионизируя интерстициальную жидкость человеческого организма и образуя свободные радикалы, вызывающие разрушение молекул ДНК и перекрестное сшивание, что наиболее эффективно происходит в присутствии кислорода. При ФДТ и СДТ только в присутствии O₂ фотосенсибилизаторы или соносенсибилизаторы могут генерировать синглетный кислород (¹O₂) посредством передачи энергии при возбуждении светом или ультразвуком для окислительного уничтожения опухолевых клеток. Аналогичным образом индуцированное с помощью гидропероксидных радикалов ([•]ООН) истощение глюкозы приводит к

нарушению метаболизма глюкозы опухолевых клеток, запуская терапию голоданием, которая происходит только в аэробных условиях. Кроме того, H_2O_2 может действовать как сигнальная молекула как внутри, так и между клетками благодаря своему свойству свободной диффузии. Следовательно, высокие уровни экспрессии H_2O_2 связаны с различными клеточными сигнальными путями дифференцировки, роста и апоптоза опухолевых клеток, например, опухолевые клетки могут влиять на иммунный ответ МОО, запуская окислительно-восстановительные сигнальные каскады. Также в условиях кислого МОО и достаточного количества пероксида водорода возможно проведение химиодинамической терапии (ХДТ). ХДТ основана на Фентон-опосредованных ионами железа или ионами других металлов (например, Cu^+) фентоноподобных реакциях, катализирующих H_2O_2 , в результате чего образуется высокоцитотоксичный радикал $\cdot OH$, который приводит к более сильному окислительному повреждению онкологических клеток, чем непосредственно сам пероксид водорода. Однако количества эндогенного H_2O_2 в опухолях (50-100 мкМ) недостаточно для поддержания выработки $\cdot OH$. В дополнение к этому МОО содержит большое количество глутатиона (GSH, 2-10 мМ), который может элиминировать $\cdot OH$ и уменьшить окислительное повреждение онкологических клеток. (Yunxiu Zhang, Jianhong Zhang, Qingyan Jia, Jiechao Ge, Pengfei Wang «Innovative strategies of hydrogen peroxide-involving tumor therapeutics», *Materials Chemistry Frontiers*, 2021, 5, p. 4474-4475. DOI: 10.1039/d1qm00134e).

Действительно, глутатион является известным антиоксидантом, в организме участвует в регуляции окислительно-восстановительного гомеостаза, метаболических процессах, обеспечивает защиту МОО от окислительного стресса и, соответственно, способствует прогрессированию опухоли, где его повышенные уровни коррелируют с увеличением метастазирования (Ankita Bansal, M. Celeste Simon «Glutathione metabolism in cancer progression and treatment resistance», *Journal of Cell Biology*, 2018, 217(7), p. 2291-2298. DOI: 10.1083/jcb.201804161).

Однако следует отметить, что повышенный уровень глутатиона характерен не только для солидных опухолей, но также отмечается и в лейкоэмических клетках (бластах), что коррелирует с устойчивостью к химиопрепаратам, используемым для лечения детей и взрослых с острым лимфобластным лейкозом (Z.T. Maung, L. Hogarth, M.M. Reid, S.J. Proctor, P.J. Hamilton, A.G. Hall «Raised intracellular glutathione levels correlate with in vitro resistance to cytotoxic drugs in leukaemic cells from patients with acute lymphoblastic leukemia», *Leukemia*, 1994 Sep.; 8(9):1487-91. PMID: 8090028). Более того, повышенный уровень бластного глутатиона связан с повышенным риском рецидива острого лимфолейкоза (Pamela R. Kearns, Rob Pieters, M.M. Antoinette Rottier, Andrew D.J. Pearson, Andrew G. Hall «Raised blast glutathione levels are associated with an increased risk of relapse in childhood acute lymphocytic leukemia», *Blood*, 2001, 97 (2): 393-398. DOI: 10.1182/blood.V97.2.393), что возможно имеет схожие механизмы с ситуацией, когда повышенные уровни глутатиона в МОО коррелируют с увеличением метастазирования (смотри выше).

С H_2O_2 глутатион (GSH) взаимодействует напрямую с образованием дисульфида:



при этом в кислотной среде (например, кислотом или слабокислотом МОО) образуются радикалы GS^{\bullet} (К.М. Зинатуллина, О.Т. Касаикина, В.А. Кузьмин, Н.П. Храмеева «Взаимодействие глутатиона с пероксидом водорода. Кинетическая модель», *Кинетика и катализ*, 2019, том 60, № 3, с. 281-288. DOI: 10.1134/s0453881119030183), а скорости расходования GSH и образования радикалов GS^{\bullet} в реакции GSH с 8,6 мМ H_2O_2 (водный раствор, 37°C) возрастают соответственно в 2,2 и 2,4 раза при увеличении концентрации GSH от 2,6 до 10,1 мМ (К.М. Зинатуллина, О.Т. Касаикина, В.А. Кузьмин, Н.П. Храмеева «Про- и антиокислительные характеристики природных тиолов», *Известия Академии наук. Серия химическая*, 2018, № 4, с. 728).

Следовательно, чем более выражен онкологический процесс, тем выше концентрация глутатиона (GSH), тем больше скорости расщепления GSH и образования радикалов GS^{*}, что имеет тройной онкопротекторный эффект: снижение уровня глутатиона способствует уменьшению элиминации ^{*}OH, что в сочетании с образованием радикалов GS^{*} повышает окислительный потенциал МОО и, следовательно, увеличивает окислительные повреждения онкологических клеток, что также препятствует метастазированию, так как имеет место прямая корреляция между уровнем глутатиона и развитием метастазов.

Кроме того, известно, что ацетилхолин, регулируя активность рецепторов к главному фактору роста эпителия и главному васкулогенному фактору роста, вовлекается в процесс превращений «аденома → карцинома». Слизистая оболочка толстого кишечника обладает ацетилхолинсинтезирующей функцией, которая регулируется уровнем содержания ацетилхолина нейронального происхождения. Совместное действие данных систем активирует процессы восстановления эпителиальных покровов толстого кишечника, играя важную роль в формировании очагов неоплазий. В случае формирования неоплазий ацетилхолин выступает в роли аутокринного и паракринного ростового фактора (А.В. Смирнова, И.Е. Трубицына «Ацетилхолин. Роль в канцерогенезе толстого кишечника. Обзор», Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология, 2012, № 9, с. 68). Клеточные линии рака легкого также синтезируют и секретируют ацетилхолин, который действует как аутокринный фактор роста (P. Song, H.S. Sekhon, B. Proskocil, J.K. Blusztajn, G.P. Mark, E.R. Spindel «Synthesis of acetylcholine by lung cancer», Life Sciences, 2003, Vol. 72, Issues 18-19, 28 March, p. 2159-2168. DOI: 10.1016/S0024-3205(03)00078-X). В свою очередь обнаружено, что под влиянием катионов ацетилхолина (Ach⁺) увеличивается скорость образования радикалов GS^{*} в реакции GSH с H₂O₂ более чем в два раза (К.М. Зинатуллина «Кинетика и механизм радикальных реакций гидрофильных тиолов», автореферат диссертации на соискание ученой

степени кандидата химических наук, Москва, 2021, с. 23), что еще больше повышает окислительный потенциал МОО.

Снижение концентрации глутатиона за счет взаимодействия с H_2O_2 может дополнительно привести к повышению эффективности ХТ за счет уменьшения потенциала для конъюгации GSH с ксенобиотиками, в частности, химиотерапевтическими препаратами (О.А. Борисенок, М.И. Бушма, О.Н. Басалай, А.Ю. Радковец «Биологическая роль глутатиона», Медицинские новости, 2019, № 7, с. 6). При этом необходимо отметить, что глутатион повышается не только в опухоли, но и в крови больных (И.А. Горошинская, Е.И. Сурикова, Е.М. Франциянц, Л.А. Немашкалова, П.С. Качесова, Д.Е. Медведева, А.А. Маслов. «Глутатион-зависимая система в крови больных раком желудка с разным гистотипом опухоли и распространенностью заболевания», Исследования и практика в медицине, 2021, том 8, № 4, с. 12-22. DOI: 10.17709/2410-1893-2021-8-4-1).

Кроме того, пероксид водорода является источником молекулярного кислорода:



что может уменьшать гипоксию МОО и тем самым создавать условия для более эффективного применения таких противоопухолевых методов лечения, как ХТ, ЛТ, ФДТ, СДТ, ХДТ и др.

Таковы основные перспективы использования пероксида водорода при онкологических заболеваниях.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований РФ (тема № FFZE-2022-0009).

ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВ И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ НА СПЕКТРАЛЬНО-ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА ОКСИДА ЦИНКА, МОДИФИЦИРОВАННОГО ДЕТОНАЦИОННЫМИ НАНОАЛМАЗАМИ

Борулева Е.А., Лобанов А.В.

ФГБУН Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук

В последние несколько десятилетий значительное внимание уделяется исследованиям тонких пленок оксида цинка (ZnO) и композиционных тонкопленочных материалов, содержащих ZnO , в связи с их уникальными фотолюминесцентными свойствами. Большой интерес вызывает ультрафиолетовая люминесценция (УФЛ) ZnO , полоса которой лежит в области около 360 нм [1-5]. Оксид цинка, легированный различными допантами, позволяет регулировать оптические свойства материалов в широком диапазоне.

В настоящее время низкоразмерные структуры на основе ZnO обладают всеми требованиями для использования в качестве носителей биологических матриц благодаря своей высокой химической стабильности и биосовместимости. Токсическое действие наночастиц ZnO было зарегистрировано при высоких концентрациях (100 мкг/мл), что дает возможность использовать эти структуры для биоаналитических измерений.

Основными преимуществами ZnO по сравнению с аналогами, которые используются в биоаналитических устройствах, является простота и дешевизна его синтеза и возможность низкоразмерного масштабирования с различной морфологией.

Алмазные материалы обладают уникальными оптическими свойствами - отсутствием ощутимого поглощения в диапазоне от ультрафиолетового до инфракрасного диапазона [3-5], что позволяет точно регистрировать значения маломасштабного оптического поглощения и интенсивности люминесценции при взаимодействии с биообъектами.

Композитная структура ZnO, допированного детонационными наноалмазами (ДНА) обеспечивает ряд комбинированных свойств, включая большую площадь поверхности, улучшенную кристалличность и электрические свойства, и эффективную пассивацию поверхности. Эти структуры предлагают хороший выход фотоотклика для использования в полевых эмиссионных катодах, устройствах поверхностных акустических волн и биосенсорах [6]. Пленки оксида цинка, допированные ДНА, имеют низкую цитотоксичность, плотную структуру и развитую поверхность со свободными химическими связями, что позволяет применять их в качестве чувствительных элементов биосенсоров, использующихся для ДНК и разных белков [7, 8].

Поэтому цель данной работы состояла в получении биосенсора на основе оксида цинка, допированного ДНА, и исследовании вариантов его применения.

В работе методом золь-гель синтеза были получены тонкие пленки ZnO:SiO₂, допированные ДНА с массовым содержанием от 0 до 16 % масс. Методом спин-коатинга добавлялись к пленкам ДНК (10⁻¹⁰ г/л, 10⁻¹² г/л) и альбумин (10⁻⁶-10⁻¹² М). Оптические характеристики пленок исследовались методом абсорбционной и флуоресцентной спектроскопии.

При допировании пленок ZnO:SiO₂ ДНА интенсивность УФЛ пленки увеличивается в несколько раз. Максимальное возгорание УФЛ наблюдается при минимальной концентрации ДНА 2 % масс. При увеличении концентрации ДНА в пленке происходит спад интенсивности УФЛ, а при максимальной концентрации ДНА 16% масс. пик интенсивности исчезает. Это связано, по-видимому, с тем, что ДНА отдают свою энергию оксиду цинка за счет ее переноса. Также выявлено, что допирование приводит к прозрачности пленки на 4-20%. Ширина запрещенной зоны, напротив, уменьшается на 0.05эВ. Это связано с тем, что оксид цинка кристаллизуется в другой

кристаллической решетке, за счет сильного влияния кристаллического поля алмазной наночастицы.

Было проведено исследование по определению ДНК с помощью разработанного сенсора ZnO:SiO₂:ДНА. Результаты регистрации молекул ДНК с помощью предложенного сенсора представлены на рисунке 1. При определении ДНК в концентрации 10⁻¹² г/л устройством биосенсора величина интенсивности сигнала существенно возрастает при минимальных концентрациях ДНА.

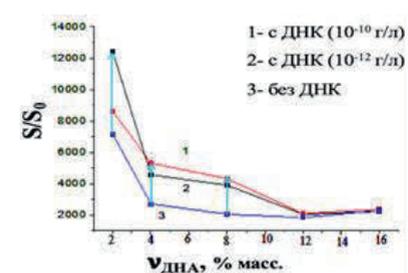


Рис. 1. – Зависимость интегральной интенсивности УФЛ ZnO от количества ДНА в пленках с добавлением и без ДНК

Далее было проведено исследование по определению сывороточного альбумина человека с помощью предложенного сенсора.

Результаты определения САЧ с помощью предложенного сенсора представлены на рисунке 2. При определении белка в концентрации 10⁻¹² М устройством биосенсора величина интенсивности сигнала увеличивается в 2 раза, что делает устройство более чувствительным на малую концентрацию альбумина. Также наблюдается монотонная зависимость УФЛ от концентрации САЧ в интервале от 10⁻⁸ до 10⁻¹² на тонких пленках оксида цинка с допантами, это говорит о возможности их использования в качестве чувствительных элементов биосенсорных устройств для количественного детектирования сверхмалых количеств белка.

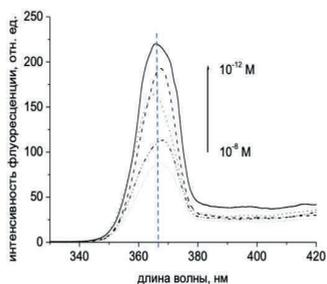
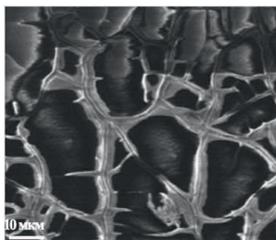


Рис. 2. – Спектры флуоресценции ($\lambda_{\text{ex}} = 280$ нм) в супрамолекулярной системе ZnO:SiO₂ :ДНА+САЧ

Известно, что ДНА сами по себе практически не флуоресцируют, а придают сенсбилизацию компоненту, с которым взаимодействуют. Структурные характеристики биосенсора регистрировали с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). В результате получен комплекс ДНА-ДНК со своими оптическими характеристиками. Данные приведены на рисунке 3а, б.



а



б

Рис3. – СЭМ-изображение пленки ZnO-ДНК (а), ZnO-ДНА и с нанесенной на поверхность ДНК (б)

Таким образом, было получено устройство биосенсора, позволяющее увеличить сенсбилизацию пленки минимум в два раза, а ее прозрачность на 20%. Такие устройства применимы для детектирования различных вирусов, белков и ДНК, что используется в доклинических и клинических испытаниях лекарственных веществ.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований РФ (тема № FFZE-2022-0009).

Литература

1. J. C. Lin, B. R. Huang, T. C. Lin Bilayer // Structure of ZnO Nanorod/Nanodiamond Film Based Ultraviolet Photodetectors. J. of The Electrochemical Society. 2013. V.160, №8 P.509–512.
2. S. Siddiqui, Z. Dai, C.J. Stavis // A quantitative study of detection mechanism of a label-free impedance biosensor using ultrananocrystalline diamond microelectrode array. Biosensors Bioelectron. 2012. V.35. P.284–290.
3. W. Yang, O. Auciello, J.E. Butler // DNA-modified nanocrystalline diamond thin-films as stable, biologically active substrates. Nature Materials. 2002. V.1, № 4. P. 253–257.
4. A. Härtl, E. Schmich, J.A. Garrido // Protein-modified nanocrystalline diamond thin films for biosensor applications. Nature Materials. 2004. V.3, №10. P.736–742.
5. Довлатов, В. Ю. // Детонационные наноалмазы: синтез, строение, свойства и применение. Успехи химии. 2007. Т.76, № 4. С.375-397.
6. Е. А. Boruleva, G. K. Chudinova, I. A. Nagovitsin // Optical studies of nanodiamonds interaction with some compounds important for medicine. Laser Physics Letters. 2019. V.16. No055601.
7. Е. А. Борулева, И. А. Наговицын, Г. К. Чудинова, А. В. Лобанов // Влияние ДНК на флуоресценцию композитных пленок ZnO, содержащих наноразмерные алмазы. Химическая физика. 2021. Т.40, № 11. С.78–86.
8. Е. А. Boruleva, A. V. Lobanov, G. K. Chudinova // Optical Properties of ZnO:SiO₂:Tb³⁺ films: the effect of DNA. Laser Phys. Lett. 2021. V.18. №3. P.035601.

ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ПЛЕНОК $ZnO:SiO_2$, ДОПИРОВАННЫХ ЦЕРИЕМ

Наговицын И.А.^{1,2}, Чудинова Г.К.¹, Лобанов А.В.²

¹ФГБУН Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук

²ФГБУН Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук

Оксид цинка – прямозонный полупроводник с большой шириной запрещенной зоны ($E_g = 3,37$ eV). Присущие ему оптические и люминесцентные свойства определили широкое использование материалов на его основе, как в фундаментальных, так и в прикладных исследованиях.

Значительный интерес представляет ультрафиолетовая (или краевая) люминесценция (УФЛ) ZnO, максимум которой располагается в области 350-390 нм, и изменяется в зависимости от структуры материала, его состава и окружения. Возникновение полосы УФЛ объясняется рекомбинацией экситонов, причем ширина полосы УФЛ и её интенсивность может увеличиваться из-за наличия примесей, определяющих возникновение множества экситонов со слабо различающимися энергиями связывания [1-4]. Природа УФЛ описана, например, в работах [5,6]. К сожалению, механизмы УФЛ в композитных пленках, а также при взаимодействии поверхности материалов с биоорганическими и биомакромолекулярными объектами изучены недостаточно.

Возможность получения структурированных на наноразмерном уровне поверхностей пленок [7], т.е. получения материалов с развитой поверхностью, предоставляет большие возможности для их использования в области фундаментальных исследований, например, изучение механизмов формирования наноразмерных супрамолекулярных комплексов, создания поверхностей для селективного образования и стабилизации структур определенного типа. В плане прикладных исследований эти особенности важны для разработки чувствительных элементов биосенсоров. Узкая

интенсивная полоса УФЛ ZnO может послужить основой для разработки чувствительных элементов с увеличением параметра «сигнал/шум» [8].

Дополнительную информацию о взаимодействии компонентов в пленке и влиянии адсорбированных на поверхность пленки соединений могут дать пленки, допированные лантаноидами, как за счет наличия собственных полос люминесценции редкоземельных элементов, так и за счет влияния этих допантов на структуру пленки ZnO в процессе синтеза материала [9-11]. Наличие ионов лантаноидов в пленке ZnO:SiO₂ может приводить к возгоранию УФЛ в несколько раз [12-14].

В работе продолжены ранее начатые исследования оптических свойств пленок ZnO:SiO₂, допированных ионами церия. Следует отметить, что большая разница радиусов ионов церия (1,04 Å) и Zn²⁺ (0,74 Å) затрудняет замещение Zn на Ce в кристаллической решетке и приводит к образованию достаточно больших напряжений [15]. Церий и церийсодержащие соединения в последние десятилетия все больше применяются в промышленности и медицине. Оксид цинка, допированный церием, может служить катализатором разложения природных органических материалов, а также использоваться для повышения эффективности сгорания автомобильного топлива [16]. Проводится синтез биосовместимых материалов, которые можно использовать для лечения поражения мягких тканей, и которые имеют антиоксидантную, противовоспалительную, антибактериальную активность, а также способность ускорять процессы заживления ран [17-19].

В биомедицинских исследованиях лантаноиды используются, например, для определения низких концентраций лекарственных препаратов, метаболитов, белков и ДНК, при этом часто применяется метод люминесцентного детектирования [20-22]. В настоящей работе значительное внимание было уделено влиянию малых концентраций биомакромолекул на УФЛ пленок. Так, при взаимодействии вещества, находящегося на поверхности пленки, с веществом в растворе (аналитом) происходит

изменение флуоресценции, пропорциональное количеству определяемого вещества в пробе [23-25].

Пленки $ZnO:SiO_2$ получали золь-гель методом. Золь-гель технология используется для создания функциональных материалов, которые могут являться чувствительными элементами оптических биосенсорных устройств. Как гелеобразующее вещество применяли одно из наиболее используемых соединений – этиловый эфир ортокремневой кислоты, тетраэтоксисилан ($Si(OC_2H_5)_4$), как источники металлооксидов в большинстве случаев использованы нитраты цинка и лантаноидов [12]. Ранее нами были получены пленки $ZnO:SiO_2$, содержащие различные допанты: ионы гадолиния, тербия, лантана, самария (0.1 - 1.0 % масс.), а также углеродные наноструктуры: детонационные наноалмазы (DND, $d = 10$ нм) и многостенные углеродные нанотрубки (MWCNT, OD = 10-15 нм, ID = 2-6 нм, $l = 1-10$ мкм). Во всех случаях при допировании пленок наблюдали увеличение интенсивности УФЛ оксида цинка в пленке ($\lambda_{em} = 360-365$ нм). Наличие ионов лантаноидов в пленке $ZnO:SiO_2$ приводит к возгоранию УФЛ в 2,9 – 9,6 раз. Также допирование заметно влияет на изменение ширины оптической запрещенной зоны. В случае добавления в пленку DND наблюдали уменьшение ширины Eg, во всех остальных случаях - её уширение [12-14].

Были приготовлены серии образцов с массовым содержанием церия в пленке 0.2: 0.3; 0.4: 0.5; 0.7; 0.9: 1.0 %. Оптические свойства исследовали с помощью спектрофлуориметра Shimadzu RF-5301pc и спектрофотометра Shimadzu UV-1800. Для нанесения на поверхность пленок биомакромолекул использовали центрифугу «Элекон» ЦЛМН-Р10-02, оснащенную разработанным в лаборатории держателем. Во всех случаях скорость вращения подложек составляла 2000 об/мин. Использовали ДНК тимуса теленка и сывороточный альбумин человека (Sigma-Aldrich Co.). Биомакромолекулы наносили из растворов $10^{-3}-10^{-12}$ г/л в 0.1 М NaCl, которые получали последовательным растворением. Препараты ДНК при растворении обрабатывали ультразвуком (42 кГц) на сонификаторе Branson 1510 (США) в

течение 20 мин. Спектры люминесценции пленок получали при $\lambda_{ex} = 260$ нм (максимум полосы поглощения ДНК), 280 нм (поглощение триптофана).

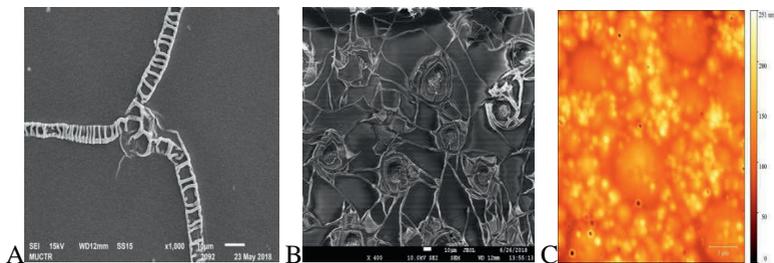


Рис. 1. Примеры изображений пленок $ZnO:SiO_2:Ce$, где содержание ионов самария – 0.7 % (А, В) и 0.3 % (С).

Структуру поверхности в ряде случаев исследовали методами SEM- AFM-микроскопии. Примеры изображения поверхности пленок, приведены на рис. 1. При изменении условий синтеза и количества допанта организация поверхности заметно меняется, при этом возможно образование регулярных структур различной морфологии.

Ширина оптической запрещенной зоны при допировании церием увеличивается от 3,37 для $ZnO:SiO_2$ до 3,8 eV, по-видимому, из-за того, что атомы церия, замещают атомы цинка, что говорит об изменении полупроводниковых свойств в область диэлектриков. Величину E_g рассчитывали по зависимости производной коэффициента пропускания от энергии.

При наличии церия в образце интегральная интенсивность флуоресценции увеличивается в 1,5 раза для 0,5% и 1% церия, в 2.5 раза для 0.7% церия и в 3,5 раза увеличивается для 0.9% церия.

Разница в концентрациях ДНК на поверхности оказывает незначительное влияние на изменение интенсивности люминесценции, которая составляет около 5 %. Следует отметить, что усиление УФЛ обратно пропорционально концентрации ДНК в растворе для нанесения ($10^{-3} - 10^{-9}$ г/л). Наибольшее усиление наблюдали при концентрации ДНК 10^{-9} г/л. Зависимости интенсивности УФЛ от концентрации нелинейны.

Впервые исследовано влияние на интенсивность УФЛ ZnO:SiO₂:Ce смесей детонационных наноалмазов и ДНК. Обнаружено, что усиление УФЛ при добавлении наноалмазов в 1,5 раза превышает таковое при нанесении однокомпонентного раствора ДНК.

Нанесение сывороточного альбумина человека (10⁻⁴ М) на поверхность пленок ZnO:SiO₂:Ce с трехпроцентным содержанием допанта приводит к заметному тушению УФЛ (в 7 раз) и последовательному росту интенсивности при разбавлении альбумина до концентрации 10⁻⁸ М

Итак, золь-гель методом на стеклянных подложках были получены тонкие пленки композитных материалов ZnO:SiO₂:Ce. Допирование ZnO:SiO₂ ионами церия приводит к усилению УФЛ по сравнению с недопированными пленками. Увеличение интенсивности отклика поверхности чувствительного элемента может послужить основой методов анализа с более высокой чувствительностью, с большим отношением «сигнал/шум».

Фундаментальные исследования изменения люминесцентных свойств полученных материалов при взаимодействии с биомакромолекулами, биоорганическими соединениями, перспективны в плане моделирования процессов переноса энергии в природных биофизических системах, определения фотофизических свойств наноразмерных агрегатов спектральными методами.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований РФ (тема № FFZE-2022-0009).

Коллектив благодарит И.А. Хайруллину (РУДН) за помощь в работе.

Литература

1. Суздаев И.П. // Нанотехнология: Физико-химия нанокластеров, наноструктур и наноматериалов. М.: ЛИБРОКОМ, 2014.
2. Shi L., Xu Y., Hark S., Liu Y., Wang S., et. al. // Nano Lett. 2007, v.7, №12, p.3559-3563.
3. Mazumder N., Sen D., Saha S., Ghorai U.K., Das N.S., Chattopadhyay K.K.// J. Phys. Chem. C. 2013, v. 117. p. 6454-6461.
4. Xu F., Lu Y., Xie Y., Liu Y. // J. Phys. Chem. C. 2009, v. 113. p. 1052-1059.
5. Родный П.А., Черненко К.А., Веневцев И.Д. // Оптика и спектроскопия, 2018, том 125, вып. 3, с 357-363.

6. Meyer B. K., Alves H., Hofmann D. M., Kriegseis W., Forster D., et.al. // *Phys. Stat. Sol. (b)*, 2004, v. 241, No. 2, p. 231–260.
7. Наговицын И.А., Чудинова Г.К., Лобанов А.В., Борулева Е.А., Мошников В.А., Налимова С.С., Кононова И.Е. // *Химическая физика*, 2018, т. 37, № 8, с. 29-35.
8. Konduru N.V., Murdaugh K.M, Sotiriou G.A, Donaghey T.C, Demokritou P. et.al. // *Part. Fibre Toxicol.*, 2014, 11:44
9. Xu W., Bony B.A., Kim C. R., Baeck J. S., Chang Y., et.al. // *Scientific Reports*, 2013, 3:3210
10. Goodall J.B.M., Illsley D., Lines R., Makwana N.M., Darr J.A. // *ACS Combinatorial Sci.*, 2015, v. 17, No 2, p. 100-112.
11. Наговицын И.А., Чудинова Г.К., Зубов А.И., Бутусов Л.А., Заведеев Е.В., Курилкин В.В., Комиссаров Г.Г. // *Химическая физика*, 2016, т. 35, № 8, с. 11-14.
12. Boruleva E.A., Hayrullina I.A., Nagovitsyn I.A., Khoroshilov A.V., Sheshko T.F., Lobanov A.V, Chudinova G.K. // *Laser Phys. Lett.*, 2019, v. 16, No. 8, 085901.
13. Hayrullina I.A., Nagovitsyn I.A., Boruleva E.A., Lobanov A.V., Chudinova G.K. // *Laser Physics*, 2020. v. 30, No 12. 125602.
14. Boruleva E.A., Chudinova G.K., Hayrullina I.A., Nagovitsyn I.A., Khoroshilov A.V., Lobanov A.V. // *Laser Phys. Lett.* 2021. v. 18. No 3. 035601.
15. Selvam C.S., Vijaya J., Kennedy J. // *J. Nanosci Nanotechnol.* 2014, v. 14, N 3, p. 2317-2324.
16. Nelson B.C., Johnson M.E., Walker M.L., Riley K.R., Sims C.M. // *Antioxidants (Basel)*. 2016, v. 5, N 2, p. 15.
17. Norman G., Christie J., Liu Z., et.al. // *Cochrane Database Syst Rev.* 2017, v. 12 :CD011821.
18. Heckman K.L., Estevez A.Y., DeCoteau W., et.al. // *Front Pharmacol.* 2020, v. 10:1599.
19. Barker E., Shepherd J., Asencio I.O. // *Molecules.* 2022, v. 27, N. 9:2678.
20. Егорова А.В., Скринец Ю.В., Александровна Д.И., Антонович В.П. // *Методы и объекты химического анализа*, 2010, v. 5, p. 180-201.
21. Karvinen J., Elomaa A., Makinen M., Hakala H., Mikkala V., Peuralahti J., Hurskainen P., Hovinen J., Hemmila I. // *Anal. Biochem.*, 2004, v. 325, No 2, p. 317-325/
22. Sanad M.F., Chava V., Shalan A.E., Enriquez L.G., Zheng T., Pilla S., Sreenivasan S.T. // *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2021, v. 13, No 34, p. 40731–40741.
23. Maciucă A.M., Munteanu A.C., Mihaila M. et.al. // *Molecules.* 2020, 19;25(22):5418.
24. Pu F., Huang Z., Ren J., Qu X. // *Anal Chem*, 2010, v. 82, N 19, p. 8211-8216.
25. Heyduk E., Heyduk T. // *Anal Biochem*, 1997 v. 248, N 2, p. 216-22

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЕМИНА И Zn^{II} -КОМПЛЕКСА ТЕТРА(4-ПИРИДИЛ)ПОРФИРИНА С ГЕКСАМОЛИБДЕНОНИКЕЛАТ-ПОЛИАНИОНОМ В ВОДНЫХ СРЕДАХ

Китушина Е.В.^{1,2}, Клименко И.В.¹, Орешкина А.В.², Казиев Г.З.²,
Лобанов А.В.^{1,2,3}

¹ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук

²ФГБОУ ВО «Московский педагогический государственный университет»

³ФГБУН Федеральный исследовательский центр химической физики

им. Н.Н. Семенова Российской академии наук

E-mail: ekat_kit@mail.ru

Спектроскопия порфиринов и их комплексов с металлами представляет собой актуальный раздел химической физики тетрапиррольных соединений (ТС). Молекулы производных ТС, формально представляющие производные порфирина, обладают макроциклической ароматической сопряженной системой двойных связей, которая обеспечивает делокализацию π -электронов по макроциклу. Характерными особенностями данной системы является наличие разветвления и присутствие гетероатомов в цепи сопряжения [1]. Поскольку порфирины и их производные являются ключевыми соединениями многих биологических процессов, важность их спектрального изучения заключается не только в ценности получаемой информации с точки зрения химического строения макроциклов, но и в возможности выявления новых стратегий разработки супрамолекулярных комплексов, используемых при ранней диагностике и лечении различных заболеваний.

Синтез супрамолекулярных комплексов позволяет исследовать механизм многих биологических процессов и явлений. Ферментативный катализ, ингибирование, иммунологический отклик, биологические регуляторные функции – все эти процессы включают стадию молекулярного распознавания структуры при комплексообразовании, то есть процесса, в котором некоторые молекулы (рецепторы) выбирают и связывают другие молекулы (субстраты) за счет межмолекулярных сил в структурно организованную систему.

Поэтому с точки зрения создания супрамолекул по типу рецептор-субстрат порфирины наряду с краун-эфирами являются чрезвычайно интересными объектами исследования. Благодаря жесткому основанию и расположению заместителей в определенном порядке, порфирины являются идеальными системами для использования в качестве основной структурной единицы, способной к различным видам взаимодействий. Благодаря наличию в порфириновой молекуле расширенной сопряженной π -системы для определения межмолекулярных взаимодействий успешно применяются разнообразные спектральные методы анализа [2].

Гетерополисоединения (ГПС) – класс неорганических кислот и их солей, содержащие десятки атомов кислорода, а также атомы переходных металлов. Данные атомы образуют различные наноразмерные многозарядные анионы. Общая формула гетерополисоединений - $K[X_xM_mO_y] \cdot nH_2O$, где М – вольфрам, молибден, ванадий, ниобий, тантал или смесь этих элементов в высшей степени окисления. Молекулы и анионы ГПС обладают характерными особенностями строения, а также специфическими физико-химическими свойствами. Зачастую, в твердом состоянии ГПС представляют собой кристаллогидраты переменчивого состава, полностью или частично зависящего от параметров окружающей среды, – температуры и влажности. Одна из самых широких областей применения ГПС – изготовление гетерогенных и гомогенных катализаторов. Также известно и широко описано применение ГПС в синтезе различных органических веществ. Как было отмечено ранее, структура гетерополисоединений значительно меняется от изменения среды и, на данном этапе развития химии, данный аспект широко изучается и является перспективным для развития науки.

В настоящее время делается упор на моделирование и определение структуры ГПС, дальнейшее описание их синтеза, характеристик и изучение физико-химических свойств новых материалов, полученных из органических и неорганических реагентов. Создание данных гибридных соединений открывает новые области исследования и синтеза многофункциональных

материалов, свойства которых являлись бы симбиозом магнитных, электрических и оптических параметров твердых тел.

Однако, многие проблемные вопросы, связанные с детальным изучением строения гетерополисоединений остаются нерешенными. Так, например, на данный момент полностью не определена роль гетерополисоединений в химических реакциях. В связи с этим, вопрос создания новых гетерополисоединений с заранее заданными свойствами является также актуальной задачей. Необходимо систематическое изучение реакций ГПС с неорганическими и органическими соединениями, выявление закономерностей «состав – строение – физико-химические свойства», на основании которых можно было бы прогнозировать поведение соединений при различных условиях.

В данной работе проводилось исследование взаимодействия комплекса железа(III) с протопорфирином IX (гемина) и комплекса цинка с тетра(4-пиридил)порфирином с кристаллогидратом гексамолибденоникелата натрия $\text{Na}_4[\text{Ni}(\text{OH})_6\text{Mo}_6\text{O}_{18}] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ в водных средах. Образование гибридных органо-неорганических структур наблюдали методами электронной абсорбционной спектроскопии и спектрофлуориметрии. Спектры поглощения и флуоресценции для различных пар взаимодействующих соединений приведены на рис. 1-3.

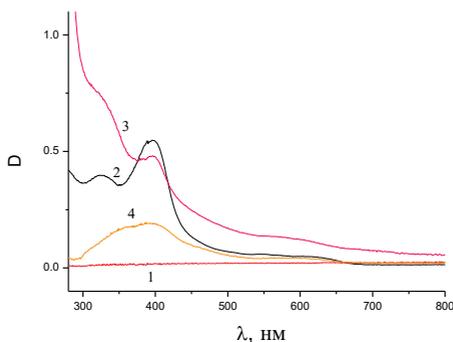


Рис. 1. Спектры оптического поглощения ГПС и гемина в воде с добавкой ДМФА: 1. ГПС в воде, ($C=10^{-5}$ моль/л); 2. гемин в ДМФА, ($C=10^{-5}$ моль/л); 3. ГПС в воде ($C=10^{-5}$ моль/л)+гемин в ДМФА ($C=10^{-5}$ моль/л), в соотношении 1:1; 4. гемин в ДМФА ($C=10^{-5}$ моль/л)+вода, в соотношении 1:1.

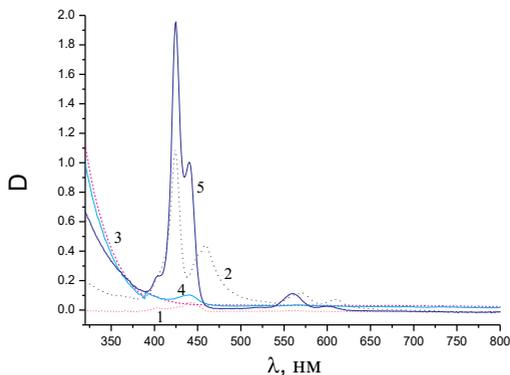


Рис. 2. Электронные спектры поглощения ГПС и Zn-порфирина в воде с добавкой ДМФА: 1. вода + Zn-порфирин в ДМФА ($C=10^{-5}$ моль/л), в соотношении 20:1; 2. Вода + Zn-порфирин в ДМФА ($C=10^{-5}$ моль/л) в соотношении 1:1; 3. ГПС в воде ($C=10^{-5}$ моль/л); 4. ГПС в воде ($C=10^{-5}$ моль/л)+ Zn-порфирин в ДМФА Zn-порфирин в соотношении 20:1; 5. ГПС в воде ($C=10^{-5}$ моль/л)+ Zn-порфирин в ДМФА ($C=10^{-5}$ моль/л) в соотношении 1:1.

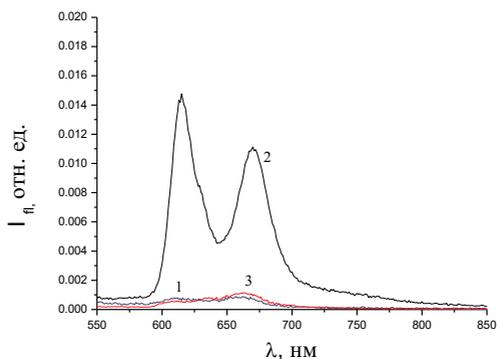


Рис. 3. Спектры флуоресценции ($\lambda_{\text{возб}}=450$ нм) Zn-порфирина в ДМФА в присутствии и в отсутствие ГПС и воды: 1. ГПС в воде ($C=10^{-5}$ моль/л) + Zn-порфирин в ДМФА ($C=10^{-5}$ моль/л), в соотношении 1:1; 2. Вода + Zn-порфирин в ДМФА ($C=10^{-5}$ моль/л), в соотношении 1:1; 3. Zn-порфирин в ДМФА ($C=10^{-5}$ моль/л).

Сравнение спектров индивидуальных соединений и из смесей показывает, что совместное нахождение в растворе органического и неорганического компонентов приводит к образованию гибридных структур (комплексов). Так, в электронных спектрах поглощения смеси гемина и ГПС в воде проявляется новая полоса, не характерная для чистого гемина (рис. 1). Подобный эффект не обнаруживается при переводе гемина в водную среду из ДМФА. Спектральное поведение Zn-порфирина отражает его нахождение преимущественно в мономерной форме в комплексе с ГПС, тогда как в воде Zn-порфирин представлен молекулярными агрегатами (рис. 2). Кроме того, в комплексах с ГПС наблюдается тушение флуоресценции Zn-порфирина (рис. 3), происходящее, по-видимому, по механизму переноса электрона от порфирина к ГПС.

Исследования, проведенные в этом направлении, позволят значительно расширить спектр применения ГПС и эффективно применять данные соединения, поскольку они будут иметь полезные и необходимые свойства для конкретной области применения.

Работа выполнена в рамках проекта «Исследование проблем утилизации отходов природного происхождения в целях практического использования полученных продуктов» (122122600056-9).

Литература

1. Гуринович, Г.П. и др. // Успехи физических наук 79.2 (1963): 173-234.
2. Мамардашвили, Г.М. и др. // Успехи химии 74.8 (2005): 839-855.

СВОЙСТВА РЕСВЕРАТРОЛА И ПРОИЗВОДНЫХ 3-ГИДРОКСИПИРИДИНА В КАЧЕСТВЕ АДАПТОГЕНА К СТРЕССОВЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ

Русина И.Ф.^{*}, Жигачева И.В.^{}, Кузнецов Ю.В.^{**}, Касаикина О.Т.^{*},
Вепринцев Т.Л.^{**}**

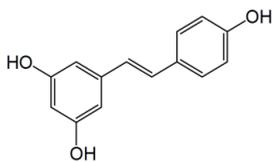
^{}Федеративный Исследовательский Центр ИХФ им. Н.Н. Семенова РАН*

*^{**}Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН
119334, Москва, Косыгина-4, Россия*

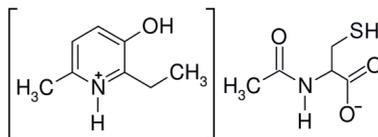
В настоящее время достаточно актуальна проблема поиска новых препаратов, повышающих устойчивость организма к стрессу. Одним из наиболее активно развивающихся направлений органической и биомедицинской химии является синтез и исследование биологической активности синтетических и природных антиоксидантов, которые составляют новую группу лекарственных препаратов, широко используемых для лечения широкого ряда заболеваний сердечно-сосудистой системы, диабета, нервной системы благодаря их способности эффективно регулировать процессы окисления и пероксидации [1, 2]. Всесторонние исследования биологических свойств производных 3-ОП позволили установить, что данные соединения могут выступать в качестве потенциальных защитных агентов при действии на организм различных повреждающих факторов [1-4].

Первичным механизмом развития стресс-реакции организма является взаимодействие активных форм кислорода с полиненасыщенными жирными кислотами, входящими в состав липидной фракции митохондриальных мембран, что приводит к активации перекисного окисления липидов. Результатом ПОЛ является накопление токсичных для клетки продуктов и развитие ряда патологических состояний [4-11].

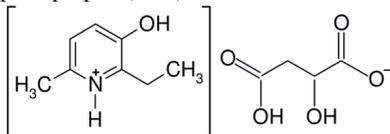
В качестве объектов исследования использовали антиоксиданты ряда производных 3-гидроксипиридина и ресвератрол:



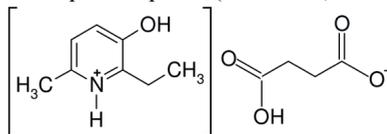
транс-3,4,5-тригидроксистильбен
ресвератрол-(RSV)



N-ацетилцистеинат2-этил-6-метил-
-3-гидроксипиридин (NAC-3-HP)



Этоксидол



Мексидол

Этот ряд препаратов, использованный в качестве объекта исследования, представляет комплексные соединения солей 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина с природными кислотами (янтарной, яблочной) и ацетилцистеином (NAC). Производные 3-гидроксипиридина являются гетероциклическими аналогами ароматических фенолов и в связи с этим проявляют антиоксидантные и антирадикальные свойства. [12].

Антиоксидантный эффект препарата N-ацетилцистеината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина обусловлен также способностью NAC выступать в качестве предшественника восстановленного глутатиона, который является прямым антиоксидантом и субстратом некоторых антиоксидантных ферментов. Кроме того, в условиях истощения запасов эндогенного цистеина и восстановленного глутатиона NAC может действовать как прямой антиоксидант определенных типов для некоторых видов оксидантов [13-15]. Однако при высоких концентрациях в присутствии переходных металлов NAC может действовать как окислитель и восстанавливать переходные металлы, способствуя образованию АФК в реакциях, подобных реакции Фентона, или образовывать тиольные радикалы[15].

Точный механизм воздействия N-ацетилцистеината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина на функциональное состояние митохондрий неизвестен. В связи с этим целью работы было изучение влияния стресса на функциональное

состояние митохондрий при воздействии комплексных препаратов 3-гидроксипиридина и ресвератрола в различных дозировках.

Результаты и обсуждение

Антирадикальную активность (АРА) препаратов оценивали хемилюминесцентным методом (ХЛ) в модельной реакции окисления этилбензола, инициируемой азо-бис-изобутиронитрилом (AIBN) при 50°C [16-18]. При окислении углеводородов источником ХЛ является экзотермическая реакция рекомбинации пероксильных радикалов. В этой реакции обычно выделяется энергия в 100-200 ккал/моль и возбуждается одна молекула карбонильного продукта (кетона), которая испускает квант света ХЛ в видимой области спектра. Мерой антиокислительной активности ингибиторов служит степень тушения ими хемилюминесценции (ХЛ). В присутствии ингибитора (InH) скорость обрыва цепи увеличивается за счет линейного обрыва пероксирадикалов на ингибиторе. Эти реакции приводят к снижению концентрации RO_2^* и, следовательно, интенсивности ХЛ (рис.1).

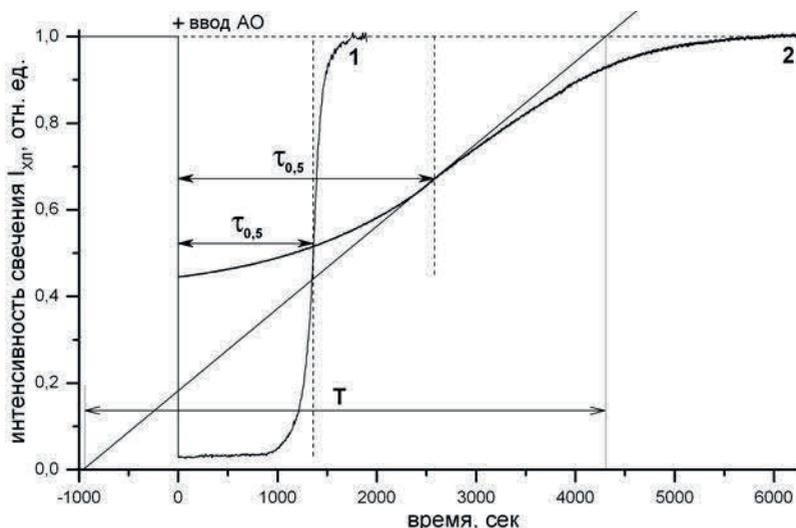


Рис.1. Кинетика хемилюминесценции при окислении этилбензола (20% в хлорбензоле, $W_i=1,0 \times 10^{-8} \text{ Мс}^{-1}$, 50°C) после введения:

1.-хромана $[CrC_1]_0 = 3,23 \times 10^{-6} \text{ М}$; **2.**- (НАС-3-НР) = $3,33 \times 10^{-5} \text{ М}$.

Скорость инициирования свободнорадикального окисления W_i определяли и контролировали непосредственно в реакционной смеси до и после эксперимента по кинетике тушения ХЛ стандартным ингибитором хроманом CrC1 (6-гидрокси-2,2,5,7,8-пентаметилхроманан - синтетический аналог α -токоферола) по формуле [16,17]:

$$W_i = f [\text{InH}]_0 / \tau_{0,5} = 2 [\text{CrC}_1]_0 / \tau_{0,5} \quad (1),$$

где $[\text{InH}]_0$ — концентрация ингибитора, $f = 2$ — стехиометрический коэффициент стандартного ингибитора CrC1, $\tau_{0,5}$ — период индукции в секундах с момента введения образца до выхода интенсивности хемилюминесценции до уровня $I_{0,5}$ по мере расходования ингибитора (см. рис. 1). После расходования ингибитора интенсивность ХЛ обычно возвращается к исходному уровню неингибированного свечения. Анализ кинетических кривых интенсивности ХЛ в присутствии ингибитора позволяет одновременно определить константу скорости k_{inh} реакции пероксильных радикалов RO_2^{\cdot} с ингибитором и стехиометрический коэффициент ингибирования f , равный числу актов обрыва цепи на ингибиторе.

Величину k_{inh} рассчитывали по максимальному наклону ($\text{tg}\varphi$) кинетических кривых тушения ХЛ в точке перегиба на стадии восстановления ХЛ [16-17]:

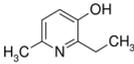
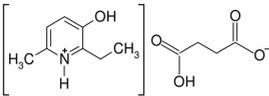
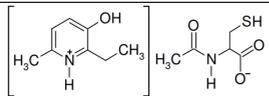
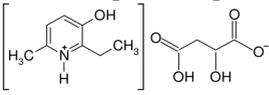
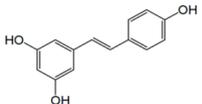
$$(k_{inh})_{|\text{tg}\varphi} = \frac{\sqrt{2k_t} \cdot \text{tg}\varphi}{\sqrt{W_i} \cdot 0,273} = \frac{\sqrt{2k_t} \cdot}{\sqrt{W_i} \cdot 0,273 \cdot T_{\text{sec}}} \quad (2),$$

где W_i — скорость инициирования за счет разложения AIBN; $k_t = 1,9 \cdot 10^7 (\text{Mc})^{-1}$ — константа скорости рекомбинации пероксильных радикалов этилбензола.

Площадь светосуммы свечения ХЛ над кинетической кривой тушения ингибитором (см рис.1) является количественной характеристикой стехиометрического коэффициента ингибирования f и не зависит от (k_{inh}). Для глубокого тушения ХЛ используется упрощенная формула расчета f [16]:

$$f \times [\text{InH}]_0 = W_i \times \tau_{0,5} \quad (3).$$

Таблица 1. Сравнительная антирадикальная активность ингибиторов ($W_i = 5.0 \times 10^{-8} (\text{Mc})^{-1}$; (RH)-этилбензол(20% в ХБ); [ДБА] = $5.0 \times 10^{-3} \text{M}$; 50°C)

№ п/п	Антиоксидант	$k_{inh} \times 10^{-4}$ (Mc) ⁻¹	<i>f</i>	Ссылка (литер.)
1	 2-Метил-5этил-3-гидроксипиридин	3.3	1.8	16
2	 Мексидол	4.7	1.9-2.0	16
3	 N-цистеинат-3-метокси-6-этокст-гидроксипиридин	3.84	0.78-0.9	16
4	 Этоксидол	2.7	1.9-2.0	18
5	 Ресвератрол	23.6	1.9-2.0	—
6	Дибунол	2.2-2.4	1.9-2.0	16,17
7	Хроман (CrC1) – 6-гидрокси-2,2,2,5,7,8-пента-метилхроман	452	2.0	16,17

Была проведена серия экспериментов по изучению влияние различных дозовых концентраций ресвератрола на кинетику окисления этилбензола. Показано, что при низких концентрациях антиоксиданта $\leq 10^{-6}$ М после полного его расходования интенсивность ХЛ возвращается к исходному уровню $I_0=1$. Превышение дозировки $\geq 10^{-6}$ М приводит к увеличению интенсивности ХЛ ($\geq 20\%$) после выхода из индукционного периода. Скорость инициирования W_i , измеренная по $\tau_{0.5}$ ингибитором хроманом, также на 10-20% превышала

исходные значения. Эта особенность, вероятно, связана с процессами прооксидации за счет участия ингибиторного радикала в продолжения цепи окисления при высоких концентрациях антиоксиданта $\geq 10^{-6}M$.

Заключение. На основании полученных данных можно сделать вывод, что исследуемые препараты обладают высокой антиоксидантной и антирадикальной активностью (АРА). В таблице 1 для сравнения антирадикальной активности приведены также данные по АРА ресвератрола (RSV), который представляет собой природный полифенол стильбеновой природы, относящийся к семейству флавоноидов. Его антиоксидантные свойства обусловлены не только ингибированием свободнорадикального окисления, но и повышением активности ферментов антиоксидантной системы и защищает клетки от повреждения при окислительном стрессе [9].

N-ацетилцистеинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (NAC-3-HP) представляет собой комплекс алкилпроизводного 3-гидроксипиридина и ацетилцистеина. Он, как и другие 3-гидроксипиридины, является гетероциклическим аналогом ароматических фенолов, содержащим гидроксильные и алкильные группы в ароматическом цикле, что обеспечивает липофильность и антирадикальную активность препарата. Кроме того, наличие алкильной цепи в ароматическом цикле обеспечивает легкость прохождения лекарства через мембрану в клетку. Препараты группы производных 3-ГП, вероятно, характеризуются широким спектром биологической активности по аналогии с соединениями витаминов B₆, B₁₂, которые обладают также достаточно низкой токсичностью. Производные 3-ГП ингибируют свободнорадикальное окисление в липидной фракции мембран; взаимодействуют с липидными перекисными радикалами, первичными пептидными радикалами, повышают активность супероксиддисмутазы и других антиоксидантных ферментов, что делает их перспективными для защиты организма от окислительного стресса. Введение в комплексе (NAC-3-HP) ацетилцистеина обеспечивает растворимость препарата в протонных растворителях, повышает антиоксидантную

активность и перспективность клинического использования этих соединений в качестве лекарственных препаратов. Его свободная тиоловая группа способна взаимодействовать с электрофильными АФК-группами. Способность к восстановлению дисульфидных связей определяет способность ацетилцистеина разрывать мукополисахаридные цепи и деполимеризовать мукопротеины мокроты, что позволяет использовать его в качестве муколитического, противовоспалительного и, возможно, тромбэмболического препарата. Помимо муколитического действия, N-ацетилцистеин обладает антиоксидантным действием, что способствует улучшению альвеолярного газообмена. В настоящее время ацетилцистеин и мексидол включены в 1-ю группу лекарственных препаратов протокола лечения начальных стадий COVID-19.

Обладая высокой антирадикальной и антиоксидантной активностью, препараты солей производных 3-оксипиридинов препятствуют патологическому воздействию окислительного стресса на организм и могут представлять перспективный класс лекарственных соединений с адаптогенными свойствами, способствующими повышению устойчивости организма к стрессовым факторам благодаря наличию в структуре двух активных центров воздействия.

Работа выполнена в рамках Государственного задания №122040500074-1.

Список литературы

1. Kvetnansky, R., Sabban, E. L., Palkovits M. // Catecholaminergic Systems in Stress: Structural and Molecular Genetic Approaches. *Physiol. Rev.* 2009. 89: 535–606.
2. Bachurin, S. O., Shevtsova, E., Kireeva, E.G., Oxenkrug, G.F., Sablin, S.O. // Mitochondria as a Target for Neurotoxins and Neuroprotective Agents. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2003. 993: 334-344.
3. Robinson, A. D., Ramanathan, K. B., McGee, J. E., Newman, K. P., and Weber, K. T. // Oxidative stress and cardiomyocyte necrosis with elevated serum troponins: pathophysiologic mechanisms. *Am. J. Med. Sci.* 2011. 342: 129–134.
4. Juan, C. A. Pérez de la Lastra, J. M., Plou, F. J., Pérez-Lebeña, E. // The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *Int. J. Mol. Sci.* 2021 22(9): 4642-4663.
5. Kvetnansky, R., Sabban, E. L., Palkovits M. // Catecholaminergic Systems in Stress: Structural and Molecular Genetic Approaches. *Physiol. Rev.* 2009. 89: 535–606.

6. Bachurin, S O., Shevtsova, E., Kireeva, E.G., Oxenkrug, G.F., Sablin, S.O. // Mitochondria as a Target for Neurotoxins and Neuroprotective Agents. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2003. 993: 334-344.
7. Robinson, A. D., Ramanathan, K. B., McGee, J. E., Newman, K. P., and Weber, K. T. // Oxidative stress and cardiomyocyte necrosis with elevated serum troponins: pathophysiologic mechanisms. *Am. J. Med. Sci.* 2011. 342: 129–134.
8. Juan , C.A. Pérez de la Lastra, J. M., Plou, F. J., Pérez-Lebeña, E. // The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *Int. J. Mol. Sci.* 2021. 22(9): 4642-4663.
9. Lenaz, G. // Mitochondria and reactive oxygen species. Which role in physiology and pathology? *Adv Exp Med Biol.* 2012. 942: 93-136.
10. Li, X, Fang Pu, Mai J., Choi, E. T, Wang, H., Xiao-feng, Yang. // Targeting mitochondrial reactive oxygen species as novel therapy for inflammatory diseases and cancers. *Journal of Hematology & Oncology.* 2013. 6:1-19
11. Peoples, J. N., Saraf, A., Ghaza, N.I, Pham, T. T., Kwong, J. Q. // Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart disease. *Experimental & Molecular Medicine.* 2019. 51: 1–13.
12. Carrizzo, A., Forte, M., Damato, A. Carrizzo, A., Forte, M., Damato, A., Trimarco, V., Salzano, F., Bartolo, M., Maciag, A., Puca, A.A, Vecchioneag, C. // Antioxidant effects of resveratrol in cardiovascular, cerebral and metabolic diseases. *Food and Chemical Toxicology,* 2013. 61 :215–226.
13. Rubiolo, J.A., Mithieux, G., Vega, F.V. // Resveratrol Protects Primary Rat Hepatocytes against Oxidative Stress Damage: Activation of the Nrf2 Transcription Factor and Augmented Activities of Antioxidant Enzymes. *European Journal of Pharmacology.* 2008. 591: 66-72.
14. De Oliveira, M. R., Nabavi, S. F, Manayi, A, Daglia, M, Z. Hajheydari, Z., S. M. Nabavi, S. M. // Resveratrol and the mitochondria: From triggering the intrinsic apoptotic pathway to inducing mitochondrial biogenesis, a mechanistic view. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2016. 1860: 727–745.
15. Aldini, G., Altomare, A., Baron, G., Vistoli, G., Carini, M., Borsani, L., Sergio, F. N // Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: the reasons why. *Free Radical Research.* 2018. 52 (7): 751-762
16. Zinatullina, K. M., Orekhova, A. V., Kasaikina, O. T, Khrameeva, N. P., Berezin, M. P, Rusina, I. F. N // Acetylcysteine is an effective analogue of glutathione in reactions with reactive oxygen species. 2021. *Russian Chemical Bulletin.* 70, 1934-1938.
17. Rusina, I. F., Karpukhin, O. N., Kasaikina, O. T. // Chemiluminescent Methods in Inhibited Oxidation Research. *Russ. J. Phys. Chem.* 2013. 7 (4): 463-477.
18. Belyakov, V.A., Vasiliev, R.F., Fedorova, G.F. Kinetics of oxychemiluminescence and its use for the analysis of antioxidants. *Kinetics and catalysis.* 2004. 45 (3): 355-362.
19. Zhigacheva I.V., Krikunova N.I., Binyukov V., Mil E.M., Rusina I.F. and Goloshchapov A. // *Current Molecular Pharmacology,* 2022. V15, 7 I, P.502-507.

ОТКРЫТЫЕ ВОПРОСЫ МЕТОДОЛОГИИ И РЕЗУЛЬТАТОВ СИСТЕМНОГО АНАЛИЗА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ РАДИОГЕННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ОРГАНИЗМА

В.Л.Шарыгин^{1,*,}, А.Е.Сипягина², Л.С.Балева², Н.М.Карахан²,
М.И.Яблонская²**

*¹Федеральный исследовательский центр химической физики
им. Н.Н. Семёнова РАН (ФИЦ ХФ РАН), Москва, Россия*

**E-mail: sharygin@chph.ras.ru; **E-mail: sharygin2011@mail.ru*

*²Научно-исследовательский клинический институт педиатрии и детской хирургии им. акад. Ю.Е. Вельтищева ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Минздрава России*

Работа посвящена биофизическому анализу комплекса экспериментальных фактов о природе возрастания частоты генных мутаций из-за дисбаланса пулов dNTP в активно пролиферирующих тканях и выяснению физико-химических механизмов формирования естественной резистентности организма и способов её повышения при действии различных ДНК-тропных агентов. Основой междисциплинарных исследований стало определение временной фазной динамики изменений метаболического системного SOS-ответа: спектр биофизических, биохимических и сопряжённых цитогенетических показателей, необходимых для выяснения регуляторной роли SOS-репарационных реакций повреждений ДНК, обеспечивающих стохастический характер выживания *индивидуальных организмов* в условиях экопатогенных воздействий различной природы и в условиях радиационного окислительного стресса. Для анализа первичных организменных реакций и цитогенетических изменений при действии γ -радиации в широком диапазоне доз использовали установленные нами в экспериментах на животных и в клинических исследованиях *маркёры* радиорезистентности организма. Речь идёт о контроле активности RNR *in situ* в тканях и органах, о пулах плазменных белков Fe³⁺-трансферрина и Cu²⁺-церулоплазмина и уровне радикалов адреналина в крови, сигналов ЭПР метгемоглобина и гемихромов, активности СОД и глутатионпероксидазы,

антиокислительной активности крови, а также о количестве внеклеточной ДНК в крови [1,2].

Изучение динамики ЭПР-характеристик метаболических реакций с участием свободных радикалов и парамагнитных металлокомплексов выявило волновой характер развития SOS-ответа систем жизнеобеспечения организма под воздействием различных ДНК-тропных агентов. Методология системного подхода требует эмпирического обобщения и объяснения волновой фазной динамики клеточного SOS-ответа системы *de novo* синтеза dNTP и реакций ДНК, РНК и белков организма на действие γ -радиации. Всё более очевидной становится важная и определяющая роль в *стресс-индуцированном мутагенезе*, известном как SOS-репарация, изменений свободнорадикальной активности RNR. Механизмы управления стохастическими фенотипическими мутациями подтверждают роль RNR в адаптивном механизме антистрессовой реакции мутагенной природы и генерации репарации повреждений ДНК в органах кроветворения облучённого организма [3,4]. Использование функциональной концепции мутагенеза и ЭПР-технологий позволило провести разработку и логический научный анализ потенциально важных звеньев механизмов регуляции свободнорадикальной активности ферментной системы RNR и установить стратегические закономерности её участия в функционировании системы SOS-репарации ДНК при инициации адаптивного ответа и для сохранения в условиях РИНГ организменного гомеостаза. С этой точки зрения изменения фенотипа облучённого организма были протестированы нами в многочисленных опытах с помощью комплекса ЭПР-биомаркёров, как при высоких уровнях облучения, так и в условиях действия малых доз низкоэнергетической γ -радиации. Заключение, что возникающий в условиях общего облучения индуцированный мутагенез связан и обеспечивается дисбалансом синтеза dNTP, и определяется это необходимостью репарации увеличенного объёма повреждений ДНК в условиях радиационного окислительного стресса (РОС) [5,6].

В результате эмпирического обобщения данных об индуцированном облучением мутагенезе, как возможной причине начала метаболическо-физиологических защитных реакций организменных систем, разработан междисциплинарный подход с попыткой выяснения стохастического характера возникновения повреждений систем жизнеобеспечения организма в экстремальных условиях. Это определяет возможности поиска и решения специальных и прикладных задач по выяснению первичных пусковых механизмов, репарационного SOS-ответа повреждений ДНК и хромосомных мутаций в условиях действия ионизирующих излучений различной силы и длительности. Конкретная задача связана с выяснением интегрального *организменного SOS-ответа* на РОС и его роли в проявлении радиогенных реакций и характера отдалённых последствий для разновозрастной детской популяции в связи с аварией на ЧАЭС. Мониторинг состояния здоровья детей, подвергшихся радиационному воздействию в малых дозах, высветил важную проблему поддержания гомеостаза детского организма в генезе возникновения стохастических заболеваний. Качественные характеристики мониторинга имеют и самостоятельное значение для обоснования функционально-физиологических интерпретаций и объективной экспертизы повышенной индивидуальной радиационной чувствительности в детской популяции в нескольких поколениях F0–F1 с помощью тестов молекулярного и клеточного уровня [7–10].

Таким образом, методология исследований совокупности филогенетических наблюдений интегрального SOS-ответа ферментных систем нацелена на рассмотрение *системного организменного ответа*, связанного с нарушением баланса внутриклеточных синтезов ДНК, РНК, белков и dNTP, повышающих вероятность возникновения генных и структурных мутаций. Именно биофизический подход к изучению вопросов на уровне целостного организма открывает возможности объективной разработки экспресс-методов тестирования ранних молекулярных реакций системы SOS-репарации ДНК, во многом определяющих эффекты РИНГ и

системных радиогенных повреждений облучённого организма [11-13]. Заметим, что дисбалансная концепция мутагенеза расширила круг конкретных вопросов о роли мутагенной формы SOS-репарации в механизме антистрессорной реакции организма. Это позволило по-новому объяснить стохастический характер возникновения фенотипических мутаций с физико-химических позиций и прийти к выводу, что мутагенная репарация управляется сложными эволюционно наработанными механизмами регуляции. Полагают, что мутагенная репарация способна увеличивать радиационно-индуцированную адаптивную нестабильность генома, повышать эндогенный мутагенный фон и перестраивать функциональное метаболическое состояние клеток, изменяя их восприимчивость к стресс-фактору [14]. Очевидно, что в механизме поддержания надёжности и устойчивости организменных систем важную определяющую роль играют сложные функциональные взаимоотношения между центральными регулирующими системами (нервная, иммунная, эндокринная, репродуктивная) и субклеточными управляющими энзиматическими системами (антиоксидантная и ДНК-репарирующая), которые могут нарушаться в экстремальных условиях РОС [15–17]. Важнее всего, что нельзя с определённой предсказуемостью предсказать реакцию сложной системы на внешние воздействия (факторы окружающей среды), продолжающиеся в организме на протяжении всей жизни индивидуума. По современным представлениям, это одна из категорий нерешаемых проблем в биологии. Взятые в совокупности филогенетические наблюдения подсказывают, что молекулярный уровень интегрирован в высокорегулируемые сети в соответствующих центральных системах, так что трудно определить отдельные молекулярные функции и определённые гены в качестве основных причин конкретных SOS-процессов. И тем не менее, в условиях повышенного уровня непостоянства генома, возрастания частоты мутаций в соматических клетках, вполне логично прогнозировать возникновение ранних и отдалённых эффектов ионизирующих излучений. Примечательно, что запрограммированное

самоубийство клеток (апоптоз) в пролиферирующих тканях облучённых млекопитающих также связано с длительным и глубоким нарушением процессов репликации и репарации ДНК. Важно отметить, что последствия резкого и длительного по времени дисбаланса могут быть одним из начальных пусковых звеньев злокачественного перерождения клеток [18,19].

Таким образом, биологическая природа феномена организменного SOS-ответа, в котором гены составляют лишь часть, требует комплексного экспериментального анализа системных регуляторных взаимодействий. Именно они определяют итоговые результаты мутагенной репарации и реальные проявления динамического развития молекулярно-генетических SOS-реакций в организме. По всей видимости, в экстремальной для организма SOS-ситуации, следствием дисбалансного мутагенеза будет индуцированная неопределённость степени мутабельности генома, характеризующаяся непредсказуемой частотой спонтанных мутаций, проявляющихся в вероятностных ложнопозитивных результатах снижения жизнеспособности клеток [13,14].

Мониторинг состояния здоровья детей, подвергшихся радиационному воздействию в малых дозах, в связи с катастрофой на ЧАЭС, имеет самостоятельное значение для установления возрастной динамики индивидуальной интегральной иммунологической повышенной радиационной чувствительности в детской популяции с помощью тестов молекулярного и клеточного уровня. В наших исследованиях на начальном этапе феномен радиационной адаптации и первичная реакция детского организма к изменившемуся радиационному фону проявились в повышении уровня Fe^{3+} -ТФ и Cu^{2+} -ЦП в крови и плазме и оказались функционально взаимосвязаны с активацией окислительных и энергетических реакций, обеспечивающих комплексный адекватный контроль за скоростью-лимитирующей стадией в синтезе ДНК. Длительное динамическое обследование обнаружило сохранение повышенного уровня содержания Fe^{3+} -ТФ и Cu^{2+} -ЦП в крови и плазме у детей, что имеет прогностическое значение

для активации синтеза dNTP и ДНК. Мобилизация механизмов цитогенетической индивидуальной устойчивости и показателей иммунологического статуса обеспечивает защиту и восстановление кроветворной и репродуктивной систем организма в ответ на действие малых доз облучения [20,21]. Существенно, что у детей, проживающих в регионах с высоким уровнем загрязнения радионуклидами, установлено системное сохранение динамики фазозависимых изменений клеточного метаболизма, но при этом — закономерное устойчивое снижение интенсивности сигналов Fe^{3+} -ТФ и Cu^{2+} -ЦП в крови и плазме. Это свидетельствует о снижении включения ионов железа в апотрансферрин, ухудшении антиоксидантных свойств крови и подавлении синтеза dNTP из-за ингибирования свободнорадикальной активности RR, что является фактором, лимитирующим скорость синтеза ДНК и, кроме того, приводит к ингибированию синтеза железосодержащих белков и ферментов. В ходе исследования установлено, что нарушение работы ЦЭТ приводит к усилению продукции активных форм кислорода и развитию хронического и острого энергетического кризиса, возникающего на уровне целого организма [18,22,23]. Проведённые параллельно цитогенетические исследования показали увеличение частоты aberrаций хромосом, активацию соматического мутагенеза, накопление клеток с дисгеномными эффектами в детском организме. Фенотипические мутации, очевидно, менее критичны, чем последствия генетических мутаций, по той причине, что фенотипические мутации, как правило, не наследуются. В одной из наших работ при изучении воздействия на детей малых доз радиации по структуре хромосомных aberrаций выявлено увеличение количества делеций, инверсий, колец, изохроматидных и одиночных фрагментов и пробелов, полиплоидии [11]. Отметим, «нельзя точно и однозначно предсказать, произойдёт ли вообще (и если «да», то какая именно) мутация в совершенно определённом индивидуальном гене после соответствующего облучения» [28]. Мы предполагаем, что системы SOS-репарации могут обладать механизмами

иницирования возможных мутаций именно в тех генах, что задействованы в борьбе с конкретной формой и силой стресса [20].

Эффективную прогностику и раннюю фазу повреждений характеризует нейрогуморальная система адаптации к РОС, которая нами оценивалась регистрацией в крови методом ЭПР одного из гормонов-нейромедиаторов – адреналина. В этих опытах уровень свободнорадикальной формы адреналина у детей из регионов радионуклидного загрязнения снижен, причём, более значительно – у детей 2-го поколения. Кроме того, изменяется возрастная физиологическая динамика уровня адреналина: с увеличением возраста у детей происходит не уменьшение, а увеличение значения этого показателя. Представляется вероятным, что это сказывается на всей системе биогической регуляции и характеризуется, к примеру, нарастанием распространённости бронхиальной астмы у детей младших возрастных групп поколения F1. Гормональный дисбаланс у детей поколений F0–F1 носит системный характер и реализуется также через тиреоидные (тиреотропные) и половые гормоны, которые имеют регуляцию через гипоталамо-гипофизарную систему, причём, с признаками дискордантности [24-25].

Таким образом, фенотипические молекулярные характеристики связаны с явлением радиационного мутагенеза и комплексной модификации генной экспрессии, обуславливающей как потенциально обратимые изменения, так и возможное развитие экопатологии. Активность мутагенеза провоцируется в результате как прямого, так и косвенного воздействия на генетический аппарат, о чём свидетельствует повышение уровня хромосомных aberrаций на фоне сниженной репарационной способности ДНК [9,13,14]. Разумеется, повышенная индуцированная нестабильность генома, мутации в соматических клетках, снижение эффективности репарации ДНК повышают риск развития молекулярно-геномных повреждений и увеличивают состояние дезадаптации детского организма. В этих реакциях определённое важное значение имеет участие и роль баланса нуклеотидов, ключевым звеном восстановительных репарационных процессов которых является индукция

рибонуклеотидредуктазы, содержащей свободный радикал тирозинового аминокислотного остатка. Формирование организменного SOS-ответа на метаболический РОС подтверждается параллелизмом динамики изменений регуляторной системы перекисного окисления липидов, свободнорадикальной активности ключевого фермента RNR (индукция или ингибирование) и взаимосвязанными адаптивными интегральными – стратегическими для организма – нарушениями нуклеотидного обмена. Отметим, что направляемые процессом адаптации изменения соотношений уровня нуклеотидов и их метаболитов стохастически возникают и регистрируются в условиях РОС чаще, чем в контрольной группе. При этом, уровень вкДНК может быть достоверно выше, чем в группе сравнения. Исследования показали, что у детей, проживающих в регионах радионуклидного загрязнения, уровень внеклеточной ДНК (вкДНК) статистически значимо превышает таковой показатель в группе сравнения. В группе детей, облучённых внутриутробно и рождённых в 1986–1987 гг. (1-е поколение), имеет место значительное повышение вкДНК ($7,87 \pm 0,58$ мкг/мл), а в группе сравнения – $4,53 \pm 0,23$. Повышенный уровень вкДНК и увеличение выхода в циркуляцию клеток–предикторов апоптоза (клетки с иммунофенотипом CD95+) характеризуют активность клеточного апоптоза и это также свидетельствует о наличии склонности к новообразованиям. Остаётся заключить, что стресс-индуцированная и, по всей видимости, адаптивная нестабильность генома может также лежать и в основе развития рака [17,23].

В результате исследования радиационных повреждений и стохастических эффектов было установлено, что у пациентов группы наблюдения (101 человек) из поколений F0–F1, проживающих в регионах радионуклидного загрязнения почвы, по цезию-137 более 1665 кБк/кв.м, изменение уровня нуклеотидов и их метаболитов регистрируется чаще, чем в группе сравнения (34 человека) — у лиц аналогичного возраста и пола, проживающих в радиационно чистых регионах. При этом, повышенный уровень нуклеотидов (пуриновых: гуанина, гуанозина, аденина, аденозина) в

группе наблюдения по сравнению с группой сравнения – отмечается чаще в 2 раза. По причинам, которые мы предполагаем и понимаем лишь частично, у пациентов в поколении F1 (т.е. у детей, рождённых от родителей, облучённых в детском и подростковом возрасте), уровень изменений более выражен, чем у лиц поколения F0. Напомним, что нарушения обмена нуклеотидов приводят к формированию патологических состояний и к извращённому течению обменных процессов в организме. Накапливаясь в больших количествах, пуриновые нуклеотиды индуцируют апоптоз клеток, в результате чего у детей из радиационно загрязнённых регионов имеет место активация процессов апоптоза. В то же время, в этих исследованиях, в поколении F1 подобной зависимости не было отмечено [24,25].

Реалистичным и логическим путём является поиск мишеней, общих для всех или для больших групп индивидуумов, и выявление факторов, определяющих общие закономерности в их реакциях на РОС. Теоретические аспекты этих проблем в молекулярной радиобиологии ещё и обусловлены необходимостью обосновать существующие адаптационные закономерности и вероятность возникновения наследуемых аномалий и заболеваний с учётом очевидной их зависимости от исходного состояния индивидуальной организменной системы. Трудно определить и отдельные молекулярные функции, и определённые гены в качестве основных причин конкретных процессов повреждения и динамики наблюдаемых характеристик адаптивных системных реакций аппарата жизнедеятельности, адекватных индивидуальному организму. Однако, нет сомнений в надёжности данных, получаемых в результате биофизического анализа SOS-реакций облучённого организма, и более того, — в попытке разумной их интерпретации. Надо признать, что проблемы, не решаемые вследствие стохастического характера происходящих в организме процессов, существуют. И потому, в частности, нельзя с определённой предсказательной реакцией сложной биологической системы на внешнее воздействие [14,26,28].

При этом, ЭПР-анализ обеспечивает реальную возможность зарегистрировать и показать, что индукторами синтеза dNTP могут быть вещества, являющиеся бета-блокаторами адрениновых рецепторов, некоторые радиопротекторные соединения, а также вещества, обладающие антиоксидантной активностью и эстрогеноподобным действием [15]. Логический анализ и интерпретация объёмных и длительных экспериментов на собаках доказывают, что адаптивный характер SOS-репарации и мутагенеза, и активации синтеза dNTP, в условиях применения перспективных радиопротекторов, может обеспечить и реально служит объективным адекватным критерием повышения резистентности организма к моменту облучения и в критические сроки постлучевого поражения. Радиопротекторы, активируя синтез ДНК, РНК и белков, обеспечивают защиту и полноценное восстановление жизнеспособности организма в раннем пострadiационном периоде и определяют высокую выживаемость собак, облучённых даже в «смертельных» дозах [15,16,18–20].

Заключение и выводы. Цикл наших исследований имеет постоянное развитие и высокотехнологичное продолжение, что и позволило обосновать, в рамках методологической концепции, биодозиметрические подходы анализа регуляции закономерностей организменной SOS-реакции клеток тканей и органов в ответ на γ -облучение. Фазные изменения ЭПР-показателей, их сопоставление с биохимическими и цитогенетическими характеристиками способствуют прогностическому пониманию и оценке роли стохастически возникающих ранних радиогенных повреждений, достигающих уровня необратимых, в условиях высоких доз γ -облучения. Аналитический обзор результатов наших многолетних биофизических исследований свидетельствует, что для объяснения механизмов индуцированного мутационного процесса, заслуживает внимания использование методологии количественного системного анализа ранних и отдалённых фенотипических радиогенных повреждений.

В связи с приведёнными ранее соображениями, несомненным объективным результатом организменных SOS-ответов и, в том числе, последствиями дисбаланса пулов нуклеотидов, являются факты возрастания частоты генных мутаций и мутаций хромосом при действии экопатогенных факторов. По величине SOS-ответа и последующей динамике адаптивных молекулярно-клеточных реакций можно судить о силе действующих стресс-агентов различной природы и в соответствии с задачами адаптации, применяя модификаторы и протекторы, влиять на SOS-реакцию. Предлагаемая концепция требует дальнейшего анализа и конкретного наполнения динамического SOS-ответа количественными показателями внутриклеточных сдвигов энергетического метаболизма, классификации «качества» процессов репаративного синтеза ДНК, новыми (системными по значению) молекулярными критериями радиационных повреждений и совокупных индивидуальных гомеостатических реакций фенотипа в экстремальных условиях. Для разработки стратегии поиска необходима как количественная оценка интегрального адаптивного SOS-ответа, так и возможность использовать определяющую роль механизмов стресс-индуцированных изменений свободнорадикальной активности RNR, лежащих в основе дисбаланса пулов dNTP, инициирующих метаболическую генерацию мутационных повреждений ДНК в органах кроветворения облучённых млекопитающих. Это позволяет по динамике комплекса ЭПР-показателей радиочувствительности выделять группы высокого риска у облучённых разными дозами и пытаться устанавливать возможность развития радиационной экопатологии и синергизма экопатогенных воздействий.

На новом этапе накопления фундаментальных знаний эмпирическое обобщение результатов опытных данных позволяет заключить, что характер и динамические аспекты адаптационных реакций молекулярно-клеточных систем находятся под жёстким контролем эволюционного отбора, направленного против дестабилизации генома. Благодаря эволюционному фактору, сохраняется, в той или иной степени, целостность клеточной

организации и контроль за возможными начальными молекулярными патогенетическими повреждениями в экстремальных условиях существования организма. Согласно развиваемой концепции, в условиях Земли существует влияние разнообразных экопатогенных факторов, на которые реализуется адаптивная стратегия и *базисный универсальный механизм SOS-ответа живых систем*, сформировавшийся как целесообразная природная реальность у млекопитающих в результате эволюционного развития. Именно мобилизацией природного компенсаторного цитогенетического механизма обусловлена эффективная репарация лучевых повреждений и адекватное увеличение вероятности уровня мутаций, обеспечивающих *благоприятный стохастический результат жизнеобеспечения в экстремальных условиях* [14,26].

Остаётся заключить, что понимание методологии и результатов выбора методик для анализа организменного стресса определяют понимание механизмов мутагенеза и возможных его негативных последствий. Важнее всего оценка аппарата мутагенной репарации, параллельная комплексная оценка адаптивной нестабильности генома, характера экспрессии отдельных конкретных генов, контроля за мобилизацией экзогенных факторов метилирования ДНК и изменения индукции микро-РНК. Необходима оценка сложных механизмов регуляции мутагенной репарации, характеризующих динамику адаптивного «антиоксидантного статуса» организма; общепринятых показателей «устойчивости» иммунологического статуса; фактов нарушения регуляции интегрального нуклеотидного обмена и наличия показателей функционального патогенного сдвига к апоптозу у повреждённых клеток организма – уровень VK ДНК.

Выводы:

1. Цикл исследований цитогенетических SOS-реакций для ретроспективной оценки организменных дозовых реакций на γ -облучение связан с методологическими принципами современной биофизики и эмпирическим обобщением, «с начала причинных цепей» по Н.В. Тимофееву-

Ресовскому, результатов анализа факторов ионизирующих излучений и явлений восстановления повреждений ДНК, индуцированных радиацией в клетках и их генетических структурах.

2. В рамках развития проблемы физико-химических механизмов индуцированных мутаций обосновано использование комплекса цитогенетических технологий и специальных ЭПР-биомаркёров, допускающих адекватную раннюю экспресс-диагностику возникающих радиогенных повреждений метаболизма у детей, облучённых в результате аварии на ЧАЭС.

3. Аналитический обзор одного из сценариев SOS-репарации при действии малых доз радиации на организм и взятые в совокупности многолетние фенотипические наблюдения убеждают, что стресс-индуцированный мутагенез может быть *адаптивным механизмом антистрессовой реакции*, а не просто «сбоем в работе восстановительных систем», и способствует выживанию, увеличивая общую частоту мутаций и повышая, тем самым, вероятность адаптации.

4. Концепция в области методологии цитогенетики и геномики, и факты об особенностях формирования системного SOS-ответа организма на ДНК-тропные агенты представляют новые научно-обоснованные цели для анализа физико-химических механизмов возникающих пороков развития и болезней у облучённых детей.

5. Использование методологии комплексного изучения организменной цитогенетической SOS-реакции на экстремальные факторы внешней среды связано с возможностью объективного количественного биофизического анализа молекулярных явлений, которые обеспечивают интегрированную функцию специфических задач для выживания организма человека и животных.

Системный интегральный анализ адаптивных ответных SOS-реакций энергетических, белоксинтезирующих, антиоксидантных, антирадикальных и, одновременно, молекулярных систем геномного плана, обеспечивает поиск

клинически значимых тестов возможных повреждений организма при действии общего облучения. Однако, полной и объективной количественной оценке анализ механизмов жизнеспособности открытых биологических систем – организма – трудно поддаётся. Можно согласиться с мнением Нобелевского лауреата Эрвина Шрёдингера: «...недостаточно исследовать только то, что может быть измерено». Но как не согласиться с мнением и другого Нобелевского лауреата, физика Ричарда Фейнмана: «Мы просто обязаны, мы вынуждены распространять всё то, что мы уже знаем, на как можно более широкие области, выходить за пределы уже достигнутого...Опасно? Да. Ненадёжно? Да. Но ведь это единственный путь прогресса. Хотя этот путь неясен, только на нём наука оказывается плодотворной. Ведь наука приносит пользу только тогда, когда говорит вам о ещё непоставленных экспериментах. Она никому не нужна, если позволит судить лишь о том, что известно из опыта, что только что произошло. Поэтому всегда необходимо распространять идеи за рамки того, на чём они уже опробованы».

Список использованных источников

1. Пулатова М.К., Авакян М.А., Шарьгин В.Л. // Идентификация сигнала ЭПР рибонуклеотидредуктазы в животных тканях с высокой пролиферативной активностью. Биофизика, 1986, т. 31, вып. 2, с. 340–342.
2. Pulatova M.K., Sharygin V.L., Filatov D.E., Todorov I.N. // ESR studies of the role of ribonucleotide reductase in DNA synthesis regulation during normal and pathological processes in animal tissues. Highlights of Modern Biochemistry 1989, p.215-229.
3. Пулатова М.К., Шарьгин В.Л., Филатов Д.Э., Тодоров И.Н. // Активация рибонуклеотидредуктазы как показатель SOS-реакции на воздействие экстремальных факторов, повреждающий ДНК в клетках высших животных. Докл. РАН. 1995. Т. 340, № 1, с. 123–127.
4. Pulatova M.K., Sharygin V.L. // Free radical reactions in mechanisms of damage, repair and protection of blood systems. Free Radicals in Biology and Environment. NATO ASI Series. Ser.A. Life Science. Ed. F.Minisci. Dordrecht, Netherlands: Kluwer.Acad.Publ., 1997.V. 27. P. 305-315.
5. Pulatova M.K., Sharygin V.L., Todorov I.N. // The activation of ribonucleotide reductase in animal organs as the cellular response against the treatment with DNA damaging factors and the influence of radioprotectors on this effect. Biochim. Biophys. Acta. 1999, v. 1453, N 3, p. 321–329.
6. Шарьгин В.Л., Пулатова М.К., Шлякова Т.Г., Митрохин Ю.И., Тодоров И.Н. // Активация радиопротекторами и антиоксидантами синтеза

дезоксирибонуклеотидов как важнейшая стадия в механизме формирования резистентности организма к действию ДНК-повреждающих факторов. Изв. РАН. Сер. биол. 2005, № 4, с. 401–422.

7. Сипягина А.Е., Пулатова М.К., Шарыгин В.Л., Сусков И.И. // Критерии повышенной чувствительности к малым дозам ионизирующего излучения и её значение в формировании адаптивных процессов у детей. Здоровье детей и радиация: актуальные проблемы и решения. Под ред. Л.С.Балевой и А.Д.Царгородцева. М., 2006, вып. 2, с. 149–160.

8. Сипягина А.Е., Балева Л.С., Пулатова М.К., Шарыгин В.Л. и др. // Организация медицинской помощи детям различных когорт наблюдения, подвергшимся воздействию малых доз радиации. Радиационная биология. Радиоэкология. 2006. Т. 46, № 3, с. 374–380.

9. Шарыгин В.Л., Пулатова М.К., Сипягина А.Е., Балева Л.С. // Использование магниторезонансной спектроскопии при системном анализе радиочувствительности / радиорезистентности животных и человека. Радиационная биология. Радиоэкология. 2013. Т. 53, № 2, с. 151–169.

10. Сипягина А.Е., Балева Л.С., Шарыгин В.Л., Пулатова М.К. // Возможности использования метаболических показателей для альтернативной биологической дозиметрии у детей, подвергшихся действию малых доз ионизирующего излучения. Медицинские радиологические последствия Чернобыля: прогноз и фактические данные спустя 30 лет: сборник тезисов международной научно-практической конференции. Обнинск, 17–19 мая 2016 г. С. 131–132. <http://www.radiation-and-risk.com/abstracts.pdf> (Accessed 17 May 2016).

11. Сусков И.И., Кузьмина Н.С., Сускова В.С., Балева Л.С., Сипягина А.Е. // Проблема индуцированной геномной нестабильности как основы повышенной заболеваемости у детей, подвергающихся низкоинтенсивному воздействию радиации в малых дозах. Радиационная биология. Радиоэкология. 2006. Т. 46, № 2, с. 167–177.

12. Сипягина А.Е., Балева Л.С., Карахан Н.М., Яблонская М.И., Шарыгин В.Л. // Характеристика и роль изменения нуклеотидов в I–II поколениях детей, проживающих в загрязнённых радионуклидами регионах. Сб. «Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность –2017, 11–15 сентября 2017 г. / под ред. Ю.А.Омельчук, Н.В.Ляминой, Г.В.Кучерик. Севастополь: СевГУ, 2017. 1617с. С. 1229–1233.

13. C.Rampazzo, P.Ferraro and P.Reichard. // Mitochondrial deoxyribonucleotides, pool sizes, synthesis, and regulation. J. Biol. Chem. 2004. V. 279. P. 17–19.

14. Свердлов Е.Д. // Взгляд на жизнь через окно генома. В 3-х т. Т.1: Очерки структурной молекулярной генетики. М.: Наука, 2009.

15. Шарыгин В.Л., Пулатова М.К., Шлякова Т.Г. и др. // Радиоспектроскопия ЭПР как метод регистрации изменения радиорезистентности организма. Экспериментальное обоснование. Биофизика. 2009. Т. 54. Вып.2. С. 311–322.

16. Пулатова М.К., Шарыгин В.Л., Сипягина А.Е. и др. // Радиоспектроскопия ЭПР как метод регистрации изменения радиорезистентности организма. Клиническое обоснование. Биофизика. 2009. Т. 54. Вып.2. С. 323–333.

17. Под ред. проф. Л.С.Балевой // Злокачественные новообразования у детей, проживающих в территориях, загрязнённых радионуклидами в результате аварии на Чернобыльской АЭС / Сб. статистических мат-лов. Ч.2. Моск. НИИ педиатрии и детской хирургии, Детский научно-практ. центр противорадиационной защиты. М.: 2004. Ч.2.

18. Шлякова Т.Г., Шарыгин В.Л., Зорин В.В., Чернов Г.А., Пулатова М.К. // Влияние индометопена на противолучевые свойства индралина. Радиационная биология. Радиоэкология, 2014, т. 54, № 1, с. 50–56.

19. Шарыгин В.Л. // ЭПР-спектроскопия при системном анализе радиочувствительности / радиорезистентности организма. Опыт и тенденции. Радиационная биология. Радиоэкология, 2018. Т. 58. № 5. С. 463–476.

20. Шарыгин В.Л. // Методология использования спектроскопии ЭПР в анализе физико-химических механизмов радиогенных повреждений организма животных и человека. Радиационная биология. Радиоэкология. 2021, т. 61, № 2, с. 117–132.

21. Сипягина А.Е., Балева Л.С., Карахан Н.М., Яблонская М.И., Шарыгин В.Л. // Characteristic of cytogenetic's changes in F0-F1 abitants generations in radiation-polluted regions / SCIENTIFIC DISCUSSION / Section of biological and medical sciences. Praha, (Czech Republic). 2021. Vol. 1, N 53, P. 3-6. ISSN 3041-4245.

22. Сипягина А.Е., Малышев В.С., Балева Л.С., Карахан Н.М., Якушева Е.Н., Шарыгин В.Л. // Роль радиационного фактора в формировании и изменении течения аллергических заболеваний (бронхиальной астмы) в поколениях пациентов после аварии на ЧАЭС. Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность–2021: Сб. статей по материалам международной научно-практической конференции «Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность–2021» / Под ред. Л.И. Лукиной, Н.А. Бежина, Н.В. Ляминой. Севастополь: Сев.ГУ, 2021. 680с. С. 573-578. УДК 6-61.616-003/004.

23. Шарыгин В.Л., Сипягина А.Е., Балева Л.С. // Опыт системного анализа физико-химических механизмов радиогенных повреждений организма. ФГБУ науки ФИЦ химической физики им. Н.Н.Семёнова РАН / Сб. трудов XXVI-й ежегодн. научн. конф. ФИЦ ХФ им. Н.Н.Семёнова РАН, секция «Динамика химических и биологических процессов. М.: ООО «АЛГОМАТ», 2021, 257с.: ил. С. 240-250.

24. Сипягина А.Е., Балева Л.С., Карахан Н.М., Яблонская М.И., Шарыгин В.Л. // Рос.Вестн.Перинат. и педиатрии. 2015, 60, (4), с.246–247.

25. Сипягина А.Е., Балева Л.С., Карахан Н.М., Шарыгин В.Л. // Формирование болезней системы кровообращения у детей, подвергшихся действию радиационного фактора. Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность–2018: Сб. статей по материалам международной научно-практической конференции «Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность–2018» (24-27 сентября 2018 г.) / Под ред. Л.И. Лукиной, Н.А. Бежина, Н.В. Ляминой. Севастополь: Сев.ГУ, 2018. 1312с. С.1085-1088. ISBN 978-5-6040112-3-2.

26. Кунин Е.В. // Логика случая. О природе и происхождении биологической эволюции / Пер. с англ. ЗАО Издательство Центрполиграф, М., 2014, 527 с.

27. Шарыгин В.Л., Сипягина А.Е., Балева Л.С., Карахан Н.М., Яблонская М.И. // Методология системного анализа физико-химических механизмов радиогенных повреждений организма животных и человека / ФГБУ науки ФИЦ химической физики им. Н.Н.Семёнова РАН / Сб. трудов XXVII-й ежегодн. научн. конф. ФИЦ ХФ им. Н.Н.Семёнова РАН, секция «Динамика химических и биологических процессов. М.: ООО «АЛГОМАТ», 2022, 190с. С. 158-169.

28. Тимофеев-Ресовский Н.В. // Генетика, эволюция, значение методологии в естествознании. Лекции, прочитанные в Свердловске в 1964 году. Екатеринбург: Токмас-Пресс, 2009. 240с.

29. Фейнман Р. // Характер физических законов / Пер.с англ. 2-е изд., испр. Гл.ред.физ.-мат.лит. Б-чка «Квант». Вып. 62. М.: Наука, 1987. 160с.

Содержание

	Стр.
Программа конференции	3
<u>А.Ф. Ванин</u>	8
Динитрозильные комплексы железа с тиол-содержащими лигандами – источники одного из универсальных цитотоксинов – катиона нитрозония	
<u>Васин А. А.</u> , Гулин А. А., Корозникова Е. Е., Донцов А. Е., Яковлева М.А., Фельдман Т. Б., Надточенко В.А., Островский М. А.	9
Механизм фотоокисления побочных продуктов зрительного цикла	
<u>Шатов А.А.</u> , Астафьев А.А., Шахов А.М.	11
Фемтосекундный лазерный синтез люминесцентных наночастиц из толуола и их модификация	
<u>А.В. Гусенков.</u> А. Н. Костров, В. А. Надточенко	19
Очистка холста от клевого грунта методом лазерной абляции: анализ морфологии и химического состава очищенной поверхности	
<u>Потапова Н.В.</u> , Касаикина О.Т.	22
Супрамолекулярные катализаторы генерирования радикалов на основе QAC	
<u>Зинатуллина К.М.</u> , Орехова А.В., Касаикина О.Т., Храмеева Н.П., Будник М.И., Борисов Ю.А.	30
Роль интермедиатов в реакции глутатиона с пероксидом водорода	
<u>Егорова Ю.Н.</u> , Мотякин М.В., Кондратович В.Г., Касаикина О.Т.	38
Особенности механизма взаимодействия иодида ацетилходина с пероксидом водорода	
<u>Аствацатуров Д.А.</u> , Чумакова Н.А., Кокорин А.И.	45
Подвижность полярных жидкостей в межплоскостном пространстве оксида графита	
<u>Матвеев М.В.</u> , Чумакова Н.А.	47
Ориентационная упорядоченность мембран из оксида графита по данным метода спинового зонда и сканирующей электронной микроскопии	
<u>Каплин А.В.</u> , Еремина Е.А., Коробов М.В., Ребрикова А.Т., Чумакова Н.А., Кокорин А.И.	49
Синтез и сорбционные свойства порошков и мембран на основе оксида графита	
<u>Егорова М.С.</u> , Осыченко А.А., Залесский А.Д., Мартиросян Д.Ю., Точило У.А., Надточенко В.А.	51
Влияние фемтосекундной лазерной энуклеации на структуру цитоскелета ооцитов мыши	

<u>О.Т. Калинина</u> , Ю.А. Федоров, А.А. Осыченко, А.Д. Залесский, Д.Ю. Мартиросян, У.А. Точилю, В.Н. Надточенко	56
Влияние флуоресцентного красителя BioTracker Blue на эффективность слияния клеток с помощью фемтосекундного лазерного излучения ближнего инфракрасного диапазона	
<u>Сайфулина К. Э.</u> , Филошкина В.И., Белова Е.М., Томский А.А., Гамалея А.А., Седов А.С.	61
Связь активности субталамического ядра с клиническими симптомами болезни Паркинсона	
<u>А.А. Незвинский</u> , Е.М. Белова, А.А. Гамалея, А.А. Томский, А.С. Седов.	68
Альфа осцилляции субталамического ядра пациентов с болезнью Паркинсона в покое и при выполнении движений	
<u>Джалагония И.З.</u> , Усова С.В., Гамалея А.А., Томский А.А., Седов А.С.	72
Анализ эффективности DBS по нейронной активности бледного шара	
<u>Захаров Н.И.</u> , Белова Е.М., Гамалея А.А., Томский А.А., Седов А.С.	74
Энтропийный подход к предсказанию эффективности стимуляции глубоких структур мозга у пациентов с болезнью Паркинсона	
<u>Градов О.В.</u>	-
Спектрозональная и гиперспектральная безлинзовая микроскопия как инструмент физико-химических и структурно-биофизических исследований с пространственным и временным разрешением (3D / 4D)	
<u>Швыдкий В.О.</u> , Травин С.О., Штамм Е.В., Шишкина Л.Н	77
Биогестирование как интегральный показатель качества природных и сточных вод	
<u>М. С. Шебанов</u> , В. Б. Иванов	79
Анализ термодеструкции полиариленкетон в неизотермическом режиме в широком интервале температур методом термогравиметрии	
<u>Федотов В. Г.</u>	88
О поглощении и оптическом усилении в атмосферном воздухе	
И.Н. Когарко, <u>В.В. Петушкова</u> , Б.С. Когарко, Е.А. Нейфах, О.В. Ктиторова, И.И. Ганеев, Н.С. Кузьмина, Е.И. Селиванова	93
Изучение радиационно-химических нарушений системы крови при контакте облученных и необлученных животных при ионизирующей радиации	
<u>А. А. Осипов</u> , Г. А. Посыпанова	101
Сравнительный анализ количественных изменений фокусов белков репарации ДР ДНК γ H2AX и pATM в нейральных стволовых клетках, подвергавшихся воздействию гамма-нейтронного излучения.	
<u>Игнатов М.А.</u> , Трубоченкова Т.М., Яшкина Е.И, Осипов А.Н.	104

- Влияние хлорохина на радиационно-индуцированную гибель клеток глиобластомы человека
- Яшкина Е.И.**, Трубченкова Т.М., Игнатов М.А., Воробьева Н.Ю., Осипов А.Н. 107
Влияние ионов цинка на радиационно-индуцированное старение фибробластов человека
- Ю.А. Зрилова**, Т.М. Бычкова, О.В. Никитенко, И.М. Парфенова, Т.А. Караулова, А.А. Иванов 111
Влияние острого облучения на массу и температуру тела в эксперименте на мышах
- Боружева А.Б.**, Воробьева А.Г., Леонов А.В., Попов В.А. 114
Механоактивация хром⁺ наноалмазы. Приготовление металломатричного композита.
- М.Г.Маклецова**, Полещук В.В., М.Ю.Вакуленко, Г.Т.Рихирева 122
Полиаминный стресс-ответ и возраст-зависимые заболевания
- Калинина И.Г.**, Иванов В.Б., Семенов С.А., Жданова О.А., Казарин В.В. 126
Кинетические закономерности воздействия метаболитов плесневого гриба на диэлектрические свойства композиционного полимерного материала
- Градова М.А.**, Маклакова И.А., Лоухина И.В., Худяева И.С., Лобанов А.В., Белых Д.В. 135
Фотокаталитическая активность катионных производных хлорина еб, адсорбированных на поверхности частиц слоистого силиката магния
- Грузнов Д.В., **Грузнова О.А.**, Попов Н.И., Щербакова Г.Ш., Степанова С.П., Лобанов А.В. 143
Антибактериальные свойства FeIII-тетрафенилпорфирина в комплексе с полимером
- Грузнова О.А.**, Лобанов А.В., Сохликов А.Б., Грузнов Д.В. 148
Содержание 5-гидроксиметил-2-фуральдегида в меде при воздействии высоких температур
- Смурова Л.А.**, Будник М.И., Касаикина О.Т., Овчаренко А.В., Апашева Л.М., Савранский В.В., Лобанов А.В. 152
Тестирование на начальных стадиях развития семян, обработанных эпопероксидом и лазерным излучением
- Апашева Л.М.**, Будник М.И., Овчаренко Е.Н., Степнова А.Ф., Казиев Г.З., Гущенко У.А., Мвенге К.Л., Орлова В.В., Лобанов А.В. 158
Инкрустация полимерным покрытием семян, стимулирующая их рост
- Киселевский М.В., **Будник М.И.**, Касаикина О.Т., Лобанов А.В., Зинатуллина К.М., Смурова Л.А., Апашева Л.М., Овчаренко Е.Н., Турбин В.В., Розанцев М.В. 165
Перспективы использования пероксида водорода при онкологических заболеваниях

<u>Борулева Е.А.</u> , Лобанов А.В.	170
Влияние белков и нуклеиновых кислот на спектрально-люминесцентные свойства оксида цинка, модифицированного детонационными наноалмазами	
<u>Наговицын И.А.</u> , Чудинова Г.К., Лобанов А.В.	175
Люминесценция пленок ZnO:SiO ₂ , допированных церием	
<u>Китушина Е.В.</u> , Клименко И.А., Орешкина А.В., Казиев Г.З., Лобанов А.В.	181
Взаимодействие гемина и ZnII-комплекса тетра(4-пиридил)порфирина с гексамолибденоникелат-полианионом в водных средах	
<u>Русина И.Ф.</u> , Жигачева И.В., Кузнецов Ю.В., Касаикина О.Т., Вепринцев Т.Л.	186
Свойства ресвератрола и производных 3-гидроксипиридина в качестве адаптогена к стрессовым воздействиям.	
<u>Шарыгин В.Л.</u> , Сипягина А.Е., Балева Л.С., Карахан Н.М., Яблонская М.И.	194
Открытые вопросы методологии и результатов системного анализа физико-химических механизмов радиогенных повреждений организма	
Содержание	210
Алфавитный указатель	214

Алфавитный указатель

Астафьев А.А.	11	Маклецова М.Г.	122
Апашева Л.М.	152,158,165	Мартиросян Д.Ю.	51,56
Аствацатуров Д.А.	45	Матвеев М.В.	47
Балева Л.С.	194	Мвенге К.Л.	158
Белова Е.М.	61,68,74	Мотякин М.В.	38
Белых Д.В.	135	Наговицын И.А.	175
Борисов Ю.А.	30	Надточенко В.А.	9,19,51,56
Борулева Е.А.	170	Незвинский А.А.	68
Борунова А.Б.	114	Нейфах Е.А.	93
Будник М.И.	30,152,158,165	Никитенко О.В.	111
Бычкова Т.М.	111	Овчаренко Е.Н.	152,158,165
Вакуленко М.Ю.	122	Орехова А.В.	30
Ванин А.Ф.	8	Орешкина А.В.	181
Васин А.А.	9	Орлова В.В.	158
Вепринцев Т.Л.	186	Осипов А.А.	101
Воробьева А.Г.	114	Осипов А. Н.	104,107
Воробьева Н. Ю.	107	Островский М.А.	9
Гамалея А.А.	61,68,72,74	Осьченко А.А.	51,56
Ганеев И.И.	93	Парфенова И.М.	111
Градов О.В.	-	Петушкова В.В.	93
Градова М.А.	135	Полещук В.В.	122
Грузнов Д.В.	143,148	Попов В.А.	114
Грузнова О.А.	143,148	Попов Н.И.	143
Гулин А.А.	9	Посыпанова Г.А.	101
Гусенков А.В.	19	Потапова Н.В.	22
Гущенкова У.А.	158	Ребрикова А.Т.	49
Джалагония И.З.	72	Рихирева Г.Т.	122
Донцов А.Е.	9	Розанцев М.В.	165
Егорова М.С.	51	Русина И.Ф.	186
Егорова Ю.Н.	38	Савранский В.В.	152
Еремина Е.А.	49	Сайфулина К.Э.	61
Жданова О.А.	126	Седов А.С.	61,68,72,74
Жигачева И.В.	186	Селиванова Е.И.	93
Залесский А.Д.	51,56	Семенов С.А.	126
Захаров Н.И.	74	Сипягина А.Е.	194
Зинатуллина К.М.	30,165	Смурова Л.А.	152,165
Зрилова Ю.А.	111	Соخليков А.Б.	148
Иванов А.А.	111	Степанова С.П.	143
Иванов В.Б.	79,126	Степнова А.Ф.	158
Игнатов М. А.	104,107	Томский А.А.	61,68,72,74
Казарин В.В.	126	Точило У.А.	51,56
Казиев Г.З.	158,181	Травин С. О.	77
Калинина И.Г.	126	Трубченкова Т.М.	104,107
Калинина О.Т.	56	Турбин В.В.	165
Каплин А.В.	49	Усова С.В.	72
Караулова Т.А.	11	Федоров Ю.А.	56
Карахан Н.М.	194	Федотов В. Г.	88
Касаикина О.Т.	22,30,38,152,165,186	Фельдман Т.Б.	9
Киселевский М.В.	165	Филошкина В.И.	61
Китушина Е.В.	181	Храмеева Н.П.	30

Клименко И.А.	181	Худяева И.С.	135
Когарко И.Н.	93	Чудинова Г.К.	175
Когарко Б.С.	93	Чумакова Н.А.	45,47,49
Кокорин А.И.	45,49	Шарыгин В.Л.	194
Кондратович В.Г.	38	Шатов А.А.	11
Коробов М.В.	49	Шахов А.М.	11
Корозникова Е.Е.	9	Швыдкий В.О.	77
Костров А.Н.	19	Шебанов М.С.	79
Ктиторова О.В.	93	Шишкина Л.Н.	77
Кузнецов Ю.В.	186	Штамм Е.В.	77
Кузьмина Н.С.	93	Щербакова Г.Ш.	143
Леонов А.В.	114	Яблонская М.И.	194
Лобанов А.В.	135,143,148,152,158,165,170, 175,181	Яковлева М.А.	9
Лоухина И.В.	135	Яшкина Е.И.	104,107
Маклакова И.А.	135		

НАУЧНОЕ ИЗДАНИЕ

**СБОРНИК ТРУДОВ
XXVIII ЕЖЕГОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ ФИЦ ХФ РАН
СЕКЦИЯ
«ДИНАМИКА ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ
ПРОЦЕССОВ»**

Издание подготовлено в авторской редакции

ISBN 978-5-6042044-8-1



Подписано в печать 01.06.2023 г. Формат 60×84/16.

Печать офсетная.

Усл. печ. л. 12,32. Тираж 100 экз. Заказ 8

Издательство ООО «АЛГОМАТ»

238325, Калининградская область, Гурьевский р-н, п. М. Луговое,

ул. Селецкая, 15