ISSN 1561-8331 (Print)
ISSN 2524-2342 (Online)

БІЯАРГАНІЧНАЯ ХІМІЯ

BIOORGANIC CHEMISTRY

УДК 577.112
https://doi.org/10.29235/1561-8331-2026-62-4-271-283

Поступила в редакцию 11.08.2026
Received 11.08.2026

Н. Е. Боборико[1, 2], А. А. Семынин[2], Я. В. Диченко[3], С. А. Усанов[3]

[1]Институт химии новых материалов Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
[2]Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь
[3]Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

ФОТОХИМИЧЕСКИ ИНДУЦИРОВАННОЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ ЖЕЛЕЗА ГЕМА В СОСТАВЕ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ФЕРМЕНТА CYP7A1, ИММОБИЛИЗОВАННОГО НА ПОВЕРХНОСТИ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА

Аннотация. Разработана и изучена биокаталитическая система на основе цитохрома Р450 человека (изоформа CYP7A1), иммобилизованного на поверхности наноразмерного диоксида титана. Целью исследования являлось создание эффективной системы – донора восстановительных эквивалентов, использующей фотогенерированные электроны TiO_2 в качестве альтернативы кофактору НАДФН. Наноразмерный диоксид титана был синтезирован золь-гель методом с использованием тетраизопропоксида титана (IV) в качестве прекурсора с варьированием температуры термообработки гидратированного оксида $TiO_2 \cdot nH_2O$ в интервале 400–700 °С. В качестве добавок, модифицирующих фазовый состав TiO_2 и морфологию его частиц, на стадии синтеза применялись щавелевая и лимонная кислоты и фторид аммония. Изучено фотовосстановление иона железа гема цитохрома Р450 7А1, адсорбированного на диоксиде титана различного фазового состава и морфологии. Установлено, что формирование анатазной модификации TiO_2 и использование щавелевой кислоты в качестве модифицирующей добавки в количестве $n(H_2C_2O_4) : n(TiO_2) = 4 : 1$ обеспечивает значительное увеличение фотокаталитической активности системы. Методом молекулярной динамики (100,0 нс) проанализирован процесс адсорбции CYP7A1 на поверхности анатаза. Установлен механизм изменения нативной структуры, приводящей к денатурации CYP7A1, при иммобилизации его на поверхности TiO_2 через смещение I-спирали.

Ключевые слова: цитохром Р450, диоксид титана, анатаз, рутил, золь-гель синтез, фотокатализ, молекулярная динамика, CYP7A1, щавелевая кислота

Для цитирования. Фотохимически индуцированное восстановление железа гема в составе человеческого фермента CYP7A1, иммобилизованного на поверхности наночастиц диоксида титана / Н. Е. Боборико, А. А. Семынин, Я. В. Диченко, С. А. Усанов // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя хімічных навук. – 2026. – Т. 62, № 4. – С. 271–283. https://doi.org/10.29235/1561-8331-2026-62-4-271-283

N. E. Boborіko[1, 2], A. A. Semynin[2], Ya. U. Dzichenka[3], S. A. Usanov[3]

PHOTOCHEMICALLY DRIVEN HEME IRON REDUCTION OF HUMAN CYP7A1 IMMOBILIZED ON THE SURFACE OF TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES

[1]Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
[2]Belarusian State University, Minsk, Belarus
[3]Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Abstract. This work focuses on the development and investigation of a biocatalytic system based on human cytochrome P450 (isoform CYP7A1) immobilized on the surface of nanoscale titanium dioxide. The aim of the study was to create an efficient system for supplying reducing equivalents that utilizes photogenerated electrons from TiO_2 as an alternative to the NADPH cofactor. The nanoscale titanium dioxide was synthesized via the sol-gel method using titanium (IV) tetraisopropoxide as a precursor, with the heat treatment of the hydrated oxide ($TiO_2 \cdot nH_2O$) carried out in the range of 400–700 °C. Oxalic acid, citric acid, and ammonium fluoride were used as additives during the synthetic stage to modify the TiO_2 phase composition and particle morphology. The photoreduction of the heme iron of cytochrome P450 7A1 adsorbed on titanium dioxide samples with different phase compositions and morphologies was investigated. It was found that the formation of anatase the TiO_2 modification and the use of oxalic acid as a modifying additive at a molar ratio of $n(H_2C_2O_4) : n(TiO_2) = 4 : 1$ result in a signi-

ficant increase in the photocatalytic activity of the system. The adsorption of CYP7A1 on the anatase surface was analyzed using molecular dynamics (100 ns). The mechanism underlying the alteration of the native structure, which leads to CYP7A1 denaturation, upon immobilization on the TiO_2 surface was identified. The mechanism involves the displacement of the I-helix.

Keywords: cytochrome P450, titanium dioxide, anatase, rutile, sol-gel synthesis, photocatalysis, molecular dynamics, CYP7A1, oxalic acid

For citation. Boboriko N. E., Semynin A. A., Dzichenka Ya. U., Usanov S. A. Photochemically driven heme iron reduction of human CYP7A1 immobilized on the surface of titanium dioxide nanoparticles. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*, 2026, vol. 62, no. 4, pp. 271–283 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1561-8331-2026-62-4-271-283

Введение. Цитохромы P450 (CYP) представляют собой обширное суперсемейство гемсодержащих монооксигеназ, ответственных за метаболизм широкого спектра эндогенных соединений – стероидов, желчных кислот, витаминов, а также за детоксикацию ксенобиотиков [1–4]. Уникальность этих ферментов заключается в их способности катализировать регио- и стереоселективное окисление неактивированных связей C–H, что крайне затруднительно в классическом органическом синтезе [2]. Функционирование CYP описывается достаточно сложным каталитическим циклом, включающим стадии связывания субстрата в активном центре за счет координации с ионом Fe^{3+} гема с последующим восстановлением Fe^{3+} до Fe^{2+} под действием НАДФН через НАДФН-Р450-зависимую редуктазу с образованием промежуточных высоко реакционноспособных окси- и гидропероксо-соединений железа. Завершается каталитический цикл высвобождением гидроксилированного субстрата и возвращением фермента в исходное координационное и функциональное состояние [1, 2].

В искусственно создаваемых биокаталитических системах целесообразна замена НАДФН альтернативными донорами электронов. Полупроводники, обладающие фотокаталитической активностью, в частности TiO_2, способны напрямую инжектировать электроны в активный центр фермента, имитируя действие белковых редуктаз [5–7]. Следовательно, запуск каталитического цикла и реакции гидроксилирования субстрата может регулироваться облучением системы излучением с длиной волны, соответствующей собственному поглощению полупроводника (для диоксида титана, ширина запрещенной зоны которого в зависимости от кристаллической модификации составляет 3,0–3,2 эВ, длина волны собственного поглощения лежит в ультрафиолетовой области). Известно, что фотокаталитическая активность диоксида титана зависит от его фазового состава, морфологии поверхности, размера и формы частиц [8–10]. Введение на стадии золь-гель синтеза модифицирующих добавок позволяет контролировать структурные особенности получаемого оксидного материала [10–14]. Сущность такого влияния во многом определяется способностью добавляемого вещества эффективно и/или селективно связываться с определенными сайтами на поверхности формируемых оксидных наночастиц и тем самым регламентировать дальнейшее структурообразование оксидного материала. Исходя из этого перспективными модификаторами являются органические кислоты, способные выступать в качестве полидентатных лигандов для иона титана в процессе гидролиза изопропоксида титана, а также фториды, поскольку в литературе широко известна склонность фторид-ионов селективно адсорбироваться на определенных кристаллографических гранях диоксида титана за счет энергетического выигрыша процесса такой адсорбции [15–17].

Эффективное функционирование биокаталитической системы на основе цитохромов Р450 человека и диоксида титана во многом определяется адсорбцией фермента на поверхность оксидного материала: с одной стороны, адсорбция должна обеспечивать результативный перенос фотогенерированных электронов к активному центру фермента и минимизировать процессы рекомбинации фотогенерированных носителей заряда, а с другой – необходимо максимальное сохранение нативной структуры белка в адсорбированном состоянии для обеспечения его собственной каталитической активности. В данной работе процесс адсорбции CYP7A1 цитохрома Р450 человека на поверхность анатаза был изучен методом молекулярного моделирования.

Таким образом, целью исследования являлось создание эффективной системы – донора восстановительных эквивалентов, использующей фотогенерированные электроны TiO_2 в качестве альтернативы кофактору НАДФН, а также изучение влияния фазового состава и морфологии диоксида титана на фотокаталитические свойства системы.

Материалы и методы исследования. *Синтез наноразмерного диоксида титана.* Изопропоксид титана (IV) при постоянном перемешивании и нагревании системы до 40 °С по каплям растворяли в равном объеме 96%-го этанола. К полученной смеси по каплям в течение 1 ч при постоянном интенсивном перемешивании добавляли смесь этанола с водой, поддерживая температуру смеси 70–80 °С. Конечное объемное соотношение компонентов изопропоксид : вода : этанол в системе составляло 1 : 65 : 1. После завершения смешения всех реагентов смесь 2 ч выдерживали при постоянном интенсивном перемешивании при 70–80 °С.

Полученную коллоидную систему выдерживали 24 ч при комнатной температуре для самопептизации, после чего полученный золь высушивали 8 ч при 80 °С. Образовавшийся ксерогель подвергали температурной обработке при 400, 550 и 700 °С в течение 2 ч.

Для исследования влияния лимонной, щавелевой кислот и фторида аммония на структурные характеристики и фотокаталитическую активность диоксида титана на стадии синтеза в систему вводилось необходимое количество соответствующей добавки. Синтез проводили следующим образом. Изопропоксид титана (IV) и изопропиловый спирт в мольном соотношении 1 : 2 при интенсивном перемешивании на магнитной мешалке выдерживали при комнатной температуре в течение 20 мин. Затем к смеси добавляли требуемое количество соответственно лимонной, щавелевой кислот или фторида аммония в количестве 4,0 моль к 1,0 моль изопропоксида титана, добавляя при этом дополнительно 2,0 моль изопропилового спирта, и в течение 1 ч при комнатной температуре. Полученную коллоидную систему выдерживали 24 ч при комнатной температуре для самопептизации, после чего высушивали при 80 °С в течение 8 ч. Образовавшийся ксерогель 2 ч подвергали температурной обработке на воздухе при 400, 550 и 700 °С. Исследовались также системы с мольным соотношением фторида аммония и изопропоксида титана 1 : 1 и 0,5 : 1, щавелевой кислоты и изопропоксида титана 3 : 1, 2 : 1 и 1 : 1. При этом изменялось только количество вводимой добавки, иные параметры синтеза оставались неизменными.

Изучение фотокаталитической активности диоксида титана. В работе использовали рекомбинантный фермент CYP7A1 человека, полученный в лаборатории белковой инженерии согласно имеющейся методике [18]. Для измерения фотокаталитической активности полученных образцов диоксида титана определяли интенсивность пиков в спектре поглощения цитохрома P450 в восстановленной форме, связанного с CO. Первоначально была приготовлена система поглощения кислорода на основе ферментов каталазы и глюкозооксидазы. 15 мг каталазы растворяли в буферном растворе (40,0 мМ Трис, 140,0 мМ NaCl, 0,1 мМ ЭДТА, pH 7,5) для получения раствора с концентрацией фермента 108,5 мг/мл. 13,0 мг глюкозооксидазы растворяли в буфере такого же состава для получения раствора с концентрацией фермента 113,0 мг/мл. Затем к 4,0 мл буферного раствора (50,0 мМ Трис, pH 7,5) добавляли 26,7 мг глюкозы и по 20,0 мкл раствора каталазы и глюкозооксидазы. Систему инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре. Далее в систему добавляли раствор CYP7A1 и 4 мкл водной суспензии порошка синтезированного диоксида титана, предварительно обработанной ультразвуком. Помимо суспензии порошка также исследовали золь гидрата диоксида титана в эквивалентном количестве, полученный по описанной выше методике без введения модифицирующих добавок до его высушивания при 80 °С в течение 8 ч. Синтезированный золь характеризуется агрегативной и седиментационной устойчивостью, концентрация TiO_2 в золе, определенная гравиметрическим методом, составляет $7{,}7 \cdot 10^{-2}$ М. Финальная концентрация цитохрома P450 в исследуемом растворе составляла 1,0 мкМ. Полученную систему разделяли поровну на две кюветы и записывали спектр поглощения в диапазоне 400–500 нм. Далее раствор в анализируемой кювете барботировали CO и записывали новый спектр. После этого кюветы вынимали из спектрометра и облучали УФ-лампой (длина волны 254 нм) в течение 20 с, записывали по три спектра после каждого облучения. Эксперимент проводили до суммарного времени облучения не менее 120 с.

Измерение среднего размера частиц в золе гидратированного диоксида титана, полученного по описанной выше методике без введения модифицирующих добавок и разбавленного дистиллированной водой в 5 000 раз, проводилось методом динамического рассеяния света на приборе DynaPro NanoStar.

Исследование фазового состава синтезированного диоксида титана осуществлялось методом рентгенофазового анализа порошков оксидных материалов, полученных после температурной обработки, при котором выполнялась запись дифрактограмм на приборе HZG 4M с использованием излучения Cu K_α. Фазы идентифицировались по стандартной методике по набору межплоскостных расстояний.

Изучение морфологии и размера частиц диоксида титана проводилось методом сканирующей электронной микроскопии с помощью электронного микроскопа LEO 1420.

Изучение адсорбции CYP7A1 на поверхность анатаза методом молекулярного моделирования. Моделирование взаимодействия цитохрома с немодифицированной (не содержащей функциональных групп) поверхностью анатаза в водной среде выполнялось методом молекулярной динамики с использованием набора программ Amber (Assisted Model Building with Energy Refinement). В работе применяли классическую схему расчетов, включающую следующие стадии: минимизация, нагрев в течение 1,0 нс (*NVT*-ансамбль), уравновешивание – 5,0 нс (*NPT*-ансамбль) и моделирование динамики свободной системы – 100,0 нс (*NPT*-ансамбль). На всех стадиях накладывали ограничения на атомы неорганического материала с помощью параметра restraint = 500,0 либо 1 000,0 (ккал/моль · Å^2).

Для системы, содержащей CYP7A1, была создана кубическая расчетная ячейка с размерами 118,7 × 117,6 × 218,9 Å. Поверхности с более пространственно доступными атомами титана (в сравнении с кислородом) были ориентированы к молекуле белка, расстояние между поверхностями анатаза составляло 161,9 Å. Использованная модель воды – TIP3P. Для сохранения электронейтральности в систему был добавлен ион Cl^- с помощью утилиты из пакета Amber tleap.

Траектории молекулярной динамики анализировали с применением функционала программы Chimera v. 1.16.

Результаты и их обсуждение. Типичный спектр поглощения цитохрома P450, восстановленного диоксидом титана различного фазового состава и морфологии, а также устойчивым золем гидратированного диоксида титана, представлен на рис. 1 на примере фотовосстановления CYP7A1 золем диоксида титана. Увеличение времени УФ-облучения приводит к росту интенсивности максимумов поглощения CYP450-Fe^{II}-CO при 450 нм (соответствует нативной каталитически активной форме фермента) и 420 нм (соответствует конформации фермента с измененным пространственным строением железосодержащего активного центра, часто не проявляющей

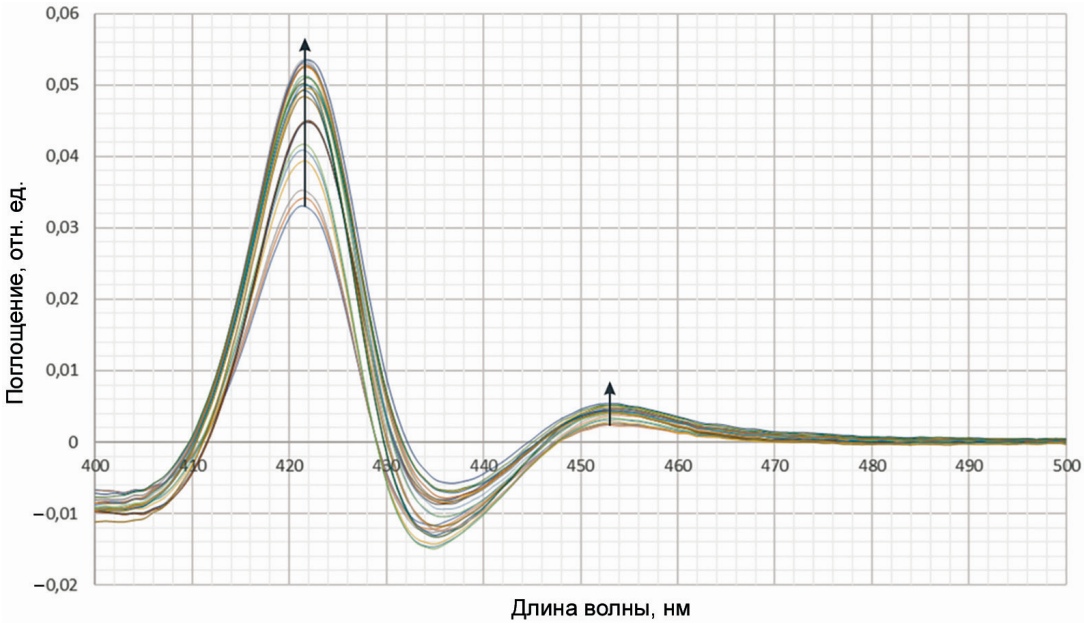


Рис. 1. Спектр поглощения CYP7A1, фотокаталитически восстановленного золем диоксида титана, после УФ-облучения в течение 20–160 с

Fig. 1. Absorption spectrum of CYP7A1 that was photocatalytically reduced by a titanium dioxide sol during UV irradiation for 20–160 s

каталитической активности), что указывает на увеличение количества CYP450 в восстановленной форме. Использование различных образцов диоксида титана в фотокаталитической системе не изменяет общего вида спектра и положения максимумов, однако определяет их интенсивности в процессе облучения.

Для сравнения фотокаталитической активности различных образцов диоксида титана были построены диаграммы значений максимумов поглощения системы CYP7A1-Fe^{II}-CO–диоксид титана при 420 нм и при 450 нм при разном времени облучения (рис. 2). Следует обратить внимание, что наиболее перспективны фотокаталитические системы, в которых увеличивается либо остается высокой интенсивность максимума поглощения при 450 нм, поскольку при этом подразумевается существование белка в системе в активной каталитической форме, т. е. способной в дальнейшем катализировать процессы гидроксилирования субстрата.

Из анализа эффективности фотовосстановления CYP7A1 следует, что наибольшую фотокаталитическую активность в сформированной биокаталитической системе проявляет золь гидрата диоксида титана. Это можно связать с тем, что средний размер частиц TiO_2 в золе значительно меньше, чем в порошках, прошедших температурную обработку, и составляет по результатам динамического рассеяния света 7–12 нм. Прогрев диоксида титана ожидаемо приводит к увеличению среднего размера частиц за счет их агломерации, что подтверждается результатами электронной микроскопии. Помимо этого поверхность частиц диоксида титана в золе максимально гидратирована в сравнении с частицами TiO_2 в порошках, прошедших термическую обработку, что определяет протекание процессов адсорбции молекул белка на поверхность TiO_2 и может обеспечивать более эффективный перенос фотогенерированных электронов к активному центру цитохрома P450. Введение модифицирующих добавок на стадии синтеза изменяет фотокаталитическую активность диоксида титана.

Наибольшее положительное влияние на фотокаталитические свойства диоксида титана оказывает его модификация щавелевой кислотой – наблюдается интенсивное фотовосстановление цитохрома в каталитически активной форме (рост интенсивности максимума поглощения при 450 нм). Лучшие фотовосстановительные свойства среди всех исследованных образцов проявляет диоксид титана, модифицированный щавелевой кислотой в мольном соотношении кислоты к диоксиду титана 4 : 1 и прогретый при 550 °C в течение 2 ч. Максимальная высота пика поглощения при 450 нм составляет приблизительно 70 % от таковой для золя диоксида титана. Модификация диоксида титана фторид-ионами эффективно обеспечивает процесс фотовосстановления, однако слабо выраженный рост пика восстановленной формы CYP7A1 при 450 нм в таких биокаталитических системах указывает на интенсивную утрату нативной конформации фермента. Из анализа экспериментальных результатов следует, что фторид аммония способствует денатурации фермента в биокаталитической системе в большей степени, чем щавелевая и лимонная кислоты. Понижение активности фермента в присутствии фторид-ионов в целом может быть связано с их координацией и связыванием с ионом железа активного центра цитохрома P450 или разрушением лигандсвязывающего кармана, как это наблюдается при ферментативном окислении некоторых фторсодержащих соединений.

Из анализа экспериментальных данных очевидно, что различные образцы диоксида титана характеризуются различной фотокаталитической активностью. Изменение условий синтеза, в частности введение модифицирующих добавок и варьирование условий термообработки оксидного материала, определяет фазовый состав и структурные особенности получаемого диоксида титана. В таблице представлены данные о зависимости фазового состава TiO_2, установленного с помощью рентгенофазового анализа, от условий синтеза.

Как следует из результатов рентгенофазового анализа, термообработка при 700 °C в течение 2 ч диоксида титана без введения на стадии синтеза добавок приводит к фазовому переходу кристаллической фазы анатаза в более термодинамически устойчивую кристаллическую фазу рутила. Однако присутствие фторида аммония при получении оксидного материала позволяет полностью подавить данный фазовый переход и сохранить анатазную модификацию TiO_2 и после прогрева при 700 °C даже при наименьшем из изученного диапазона количестве вводимого NH_4F ($n(NH_4F) : n(TiO_2) = 0{,}5 : 1$). При этом на рентгенограммах образцов, полученных с добавлением

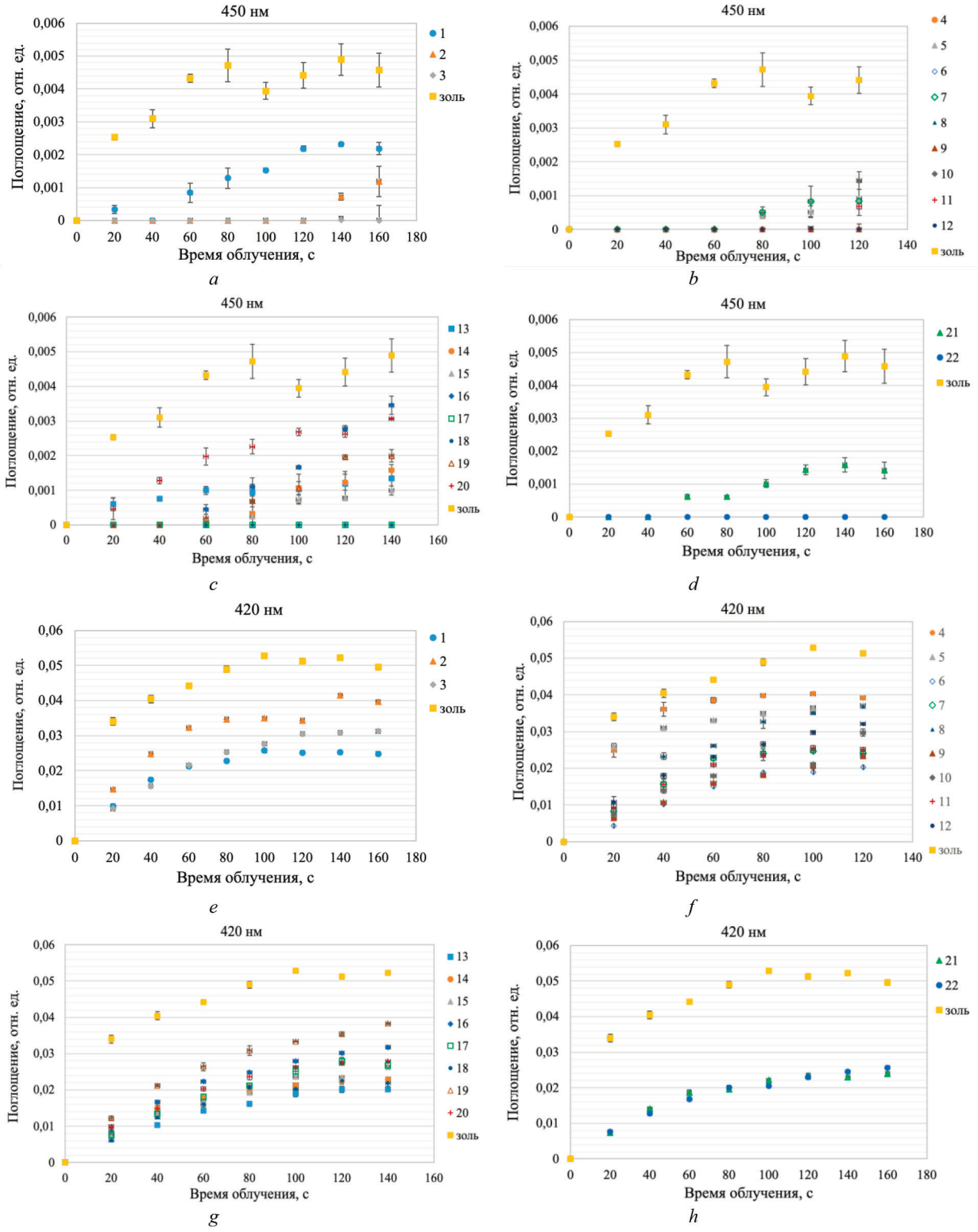


Рис. 2. Сравнительные диаграммы максимумов поглощения при 450 нм (*a*–*d*) и 420 нм (*e*–*h*) системы CYP7A1-Fe^{II}-CO–диоксид титана при различном времени УФ-облучения: *a*, *e* – TiO_2 без добавок; *b*, *f* – TiO_2 с NH_4F; *c*, *g* – TiO_2 с $C_2H_2O_4$; *d*, *h* – TiO_2 с $C_6H_8O_7$ (номера образцов TiO_2 на диаграммах соответствуют табл. 1)

Fig. 2. Comparative charts of absorption maxima at 450 nm (*a*–*d*) and 420 nm (*e*–*h*) of the CYP7A1-Fe^{II}-CO–titanium dioxide system at different times of UV irradiation: *a*, *e* – TiO_2 without additives; *b*, *f* – TiO_2 with NH_4F; *c*, *g* – TiO_2 with $C_2H_2O_4$; *d*, *h* – TiO_2 with $C_6H_8O_7$ (TiO_2 sample numbers correspond to Table 1)

Фазовый состав TiO_2 в зависимости от условий синтеза

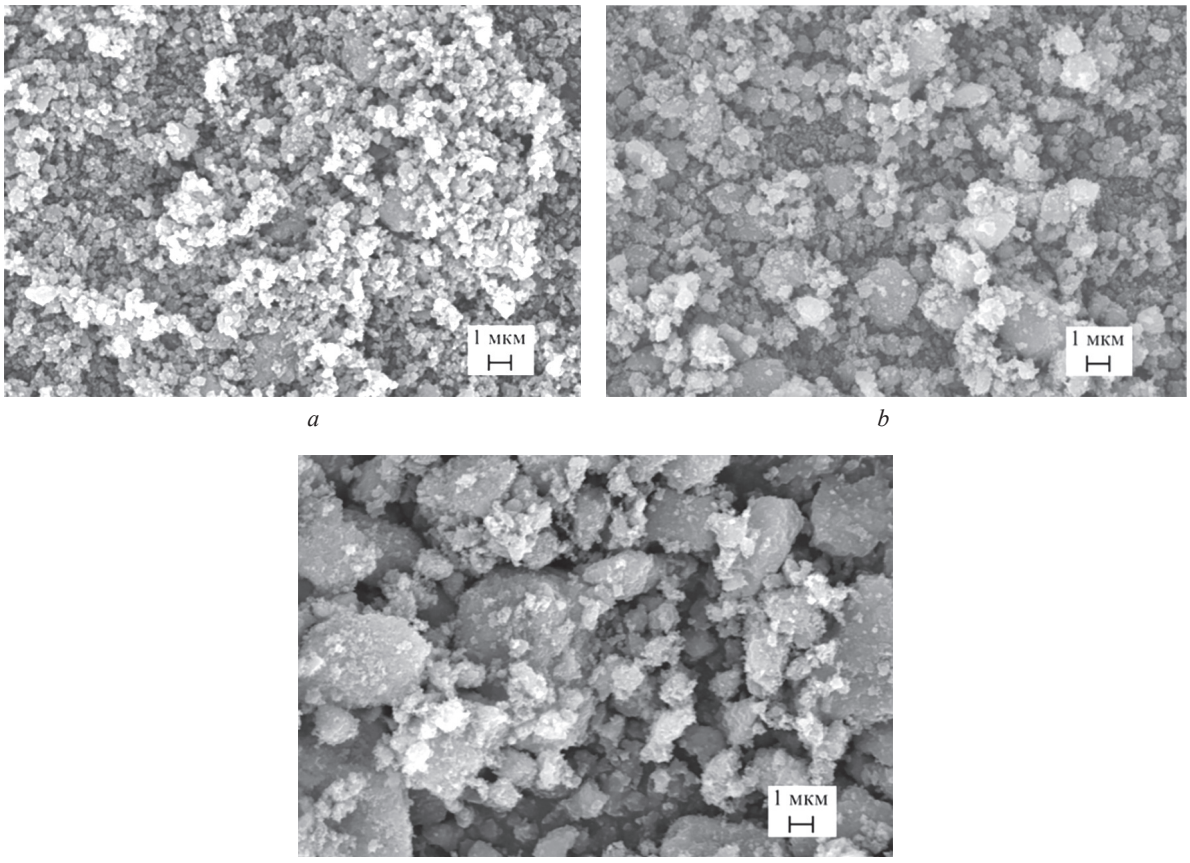
TiO_2 phase composition depending on synthetis conditions

Образец	Модифицирующая добавка	Количество добавки, n(добавки) : $n(TiO_2)$	Температура прогрева в синтезе, °C	Фазовый состав
1	–	–	400	Анатаз (91 %), брукит (9 %)
2		–	550	Анатаз (93 %), брукит (7 %)
3		–	700	Рутил (91 %), анатаз (9 %)
4	Фторид аммония NH_4F	4 : 1	400	Анатаз (8 %), $(NH_4)_2TiF_6$ (31 %), $(NH_4)_{0,8}TiOF_{2,8}$ (61 %)
5		4 : 1	550	Анатаз
6		4 : 1	700	Анатаз
7		1 : 1	400	Анатаз
8		1 : 1	550	Анатаз
9		1 : 1	700	Анатаз
10		0,5 : 1	400	Анатаз
11		0,5 : 1	550	Анатаз
12		0,5 : 1	700	Анатаз
13	Щавелевая кислота $C_2H_2O_4$	1 : 1	550	Анатаз (96 %), рутил (4 %)
14		2 : 1	550	Анатаз
15		3 : 1	550	Анатаз (93 %), рутил (7 %)
16		4 : 1	550	Анатаз
17		1 : 1	700	Рутил (78 %), анатаз (22 %)
18		2 : 1	700	Анатаз (73 %), рутил (27 %)
19		3 : 1	700	Рутил (69 %), анатаз (31 %)
20		4 : 1	700	Анатаз (76 %), рутил (24 %)
21	Лимонная кислота $C_6H_8O_7$	4 : 1	500	Анатаз (61 %), рутил (39 %)
22		4 : 1	650	Рутил

фторида аммония, рефлексы, соответствующие кристаллической фазе рутила, отсутствуют даже в следовых количествах. Использование щавелевой кислоты в качестве модифицирующей добавки подавляет фазовый переход анатаза в рутил частично и позволяет получить оксидные материалы, содержащие как фазу анатаза, так и фазу рутила, причем количественное соотношение этих двух фаз в материале определяется мольным соотношением щавелевой кислоты, вводимой на стадии синтеза, к количеству изопропоксида титана.

Анализ фотовосстановительных свойств синтезированных образцов диоксида титана указывает на то, что с точки зрения фазового состава наилучшими фотокаталитическими свойствами характеризуется диоксид титана, модифицированный щавелевой кислотой в мольном соотношении кислоты к диоксиду титана 4 : 1 и представляющий собой анатазную модификацию TiO_2 либо смесь двух кристаллических модификаций – анатаза и рутила со значительным преобладанием фазы анатаза. Стоит отметить, что диоксид титана в чистой рутильной кристаллической модификации либо в виде смеси анатаза и рутила со значительным преобладанием рутильной модификации почти не обладает фотовосстановительной активностью по отношению к железу гема цитохрома в активной форме.

Фотокаталитическая активность диоксида титана также определяется морфологией частиц TiO_2. На рис. 3 представлены результаты исследования морфологии поверхности оксидных материалов, полученных с использованием щавелевой, лимонной кислот и фторида аммония в качестве модифицирующих добавок. Очевидно, что введение щавелевой кислоты на стадии синтеза позволяет получить оксидные материалы с наиболее развитой поверхностью и наименьшим средним размером частиц. Как следует из анализа фотокаталитических свойств материалов, такая морфология материала коррелирует с высокой фотовосстановительной активностью. Высокая развитость поверхности и низкий размер частиц при использовании щавелевой кислоты достигается за счет ее разложения при высокой температуре прокаливания материала с образованием углекислого газа, который разрыхляет оксидный материал.



a *b*

c

Рис. 3. СЭМ-микрофотографии образцов 20 (*a*), 22 (*b*), 12 (*c*) (номера образцов соответствуют табл. 1)

Fig. 3. SEM micrographs of samples 20 (*a*), 22 (*b*), 12 (*c*) (sample numbers correspond to Table 1)

Адсорбция CYP7A1 на поверхность анатаза осуществляется за счет электростатического взаимодействия между аминокислотными остатками фермента с сайтами адсорбции на поверхности анатаза, а также с молекулами растворителя. Возможные взаимодействия в процессе адсорбции были изучены с использованием метода молекулярной динамики. Установление предпочтительных контактов между молекулой белка и поверхностью анатаза может указать на пути перспективного модифицирования поверхности диоксида титана для более эффективной адсорбции CYP7A1 с сохранением его каталитически активной конформации.

Установлено, что во взаимодействии с поверхностью TiO_2 участвует множество аминокислотных остатков фермента. Во-первых, в адсорбции играют роль Glu454, Gln456 и Lys458: за время моделирования (production, 100,0 нс) между Glu454 и поверхностью анатаза трижды формировался контакт с межатомными расстояниями в диапазоне 4,4–4,9 Å, данные связи были крайне нестабильны, карбоксилатная группа глутамата часто удалялась от поверхности на расстояние более 5,0 Å. Однако стоит отметить, что карбоксилатная группа Glu454 была достаточно жестко ориентирована в направлении поверхности, но не смогла приблизиться к ней из-за своего расположения в структуре белка. Между аминогруппой Gln456 и диоксидом титана контакты возникали значительно чаще и были значительно стабильнее. Межатомные расстояния колебались в основном в диапазоне 3,5–4,2 Å, минимальное расстояние до поверхности составило 3,00 ± 0,05 Å. В случае Lys458 наблюдается иное поведение: на протяжении большей части времени моделирования его аминогруппа была отвернута от поверхности анатаза и ориентирована в сторону остальной части белка. Контакт с диоксидом титана возникал лишь в единичных случаях и был наименее стабильным среди всех аминокислот этого участка цитохрома. Ближайшим окружением Lys458 являются остатки Pro460 и 461, а также Cys459. По-видимому, они конкурировали с поверхностью анатаза за связывание с лизином за счет электростатических взаимодействий. Такое поведение может также

объясняться электростатическим отталкиванием протонированной аминогруппы Lys458 от положительно заряженных атомов титана поверхности, в то время как анализированный ранее Gln456 содержит непротонированную аминогруппу. Все рассмотренные контакты боковых групп CYP7A1 с поверхностью анатаза можно отнести к Ван-дер-Ваальсовым взаимодействиям. Стоит также отметить, что приблизительно на 38,7–39,6 нс процесса адсорбции произошла локальная смена конформации белка, которая привела к удалению всех перечисленных аминокислотных остатков от поверхности, после чего контактов с ней на данном участке цитохрома P450 не возникало.

Второй участок CYP7A1, взаимодействовавший с поверхностью анатаза, – N-концевой фрагмент. На протяжении почти всего смоделированного процесса аминокислотные остатки этой области находились на значительном расстоянии от поверхности и никак с ней не взаимодействовали. Однако за счет высокой подвижности N-концевого фрагмента цитохрома P450 в некоторые моменты возникали контакты с поверхностью, в первую очередь с участием Met1. При максимальном сближении расстояние между парой атомов S–Ti составило 3,4 Å. Данный контакт формировался дважды с небольшим интервалом, после чего N-концевой фрагмент снова удалился от поверхности на расстояние более 10,0 Å. Контакты метионина с поверхностными атомами титана можно охарактеризовать значительной прочностью и стабильностью межатомного расстояния. Lys3 участвует в адсорбции слабо, по-видимому, из-за электростатического отталкивания, как и в случае Lys458. Наблюдается лишь один подобный контакт, межатомное расстояние колебалось около величины 4,2 Å.

В процессе адсорбции принимали участие остатки аминокислот одной из α-спиралей: Arg44 и Lys45. Данный участок белка не подвергался заметным конформационным измерениям на уровне вторичной структуры и взаимодействовал с поверхностью анатаза на протяжении почти всего смоделированного процесса. Между гуанидиновой группой Arg44 и несколькими поверхностными атомами титана и кислорода формировалось множество Ван-дер-Ваальсовых связей с межатомными расстояниями в диапазоне 3,3–5,0 Å, причем для более коротких связей колебания длин происходили в более узком диапазоне. В случае Lys45 связи являлись значительно менее прочными, хотя межатомное расстояние при максимальном сближении лизина с поверхностью было меньше, чем для соседнего аргинина (3,2 и 3,3 Å соответственно). Контакты Lys45 оказались наиболее стабильными среди всех контактов с участием остатков лизина CYP7A1, смоделированных в данной работе.

В адсорбции также играли роль аминокислотные остатки Tyr407 и Asn409. Контакты между кислородом OH-группы Tyr407 и одним из поверхностных атомов титана оказались весьма прочными, а межатомное расстояние большую часть времени находилось в диапазоне 3,4–3,8 Å, максимальное сближение – до 3,1 Å. Asn409 участвовал в образовании водородных связей на протяжении по меньшей мере 6,5 нс, расстояние между амидной группой аспарагина и одним из атомов кислорода анатаза при этом находилось в пределах 2,5–3,0 Å. Стоит отметить, что участок CYP7A1, содержащий Tyr407 и Asn409, также претерпел локальные изменения конформации, которые происходили синхронно с таковыми для участка с Glu454, Gln456 и Lys458. В результате этих конформаций Tyr407 и Asn409 сближались с поверхностью анатаза, а Glu454, Gln456 и Lys458, как было отмечено ранее, отдалялись. На рис. 4 представлена RMSD карта для трех участков CYP7A1, наиболее долго участвовавших в процессе адсорбции белка на поверхности диоксида титана: петли, несущего Glu454, Gln456 и Lys458, α-спирали с Arg44 и Lys45 и петли, содержащей Tyr407 и Asn409.

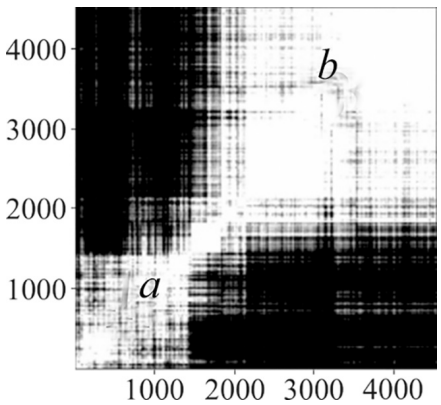


Рис. 4. Диаграмма парного RMSD для аминокислотных остатков CYP7A1, адсорбированного на поверхность анатаза; *a* и *b* – два сравнительно устойчивых состояния фермента

Fig. 4. Pairwise RMSD plot for the amino acid residues of CYP7A1 adsorbed on the anatase surface; *a* and *b* represent two relatively stable states of the

Показанный на рис. 4 участок *a* соответствует адсорбции CYP7A1 через петлю, несущую Glu454, Gln456 и Lys458, а также боковые группы указанной α-спирали. Участок *b* совпадает с адсорбцией цитохрома P450 через петлю, содержа-

щую Tyr407 и Asn409 и, по-прежнему, боковые группы α-спирали. Небольшой участок между *a* и *b* показывает фреймы, на протяжении которых петля с Tyr407 и Asn409 мигрировала от несвязанной с поверхностью анатаза области фермента.

Таким образом, большинство контактов между CYP7A1 и поверхностью анатаза возникают с участием основных аминокислот, однако протонированные остатки лизина образуют стабильные связи редко. Локальная конформационная перестройка вызвана неустойчивостью связей, возникших на участке *a* приведенной RMSD-карты, в результате чего Tyr407 и Asn409 становится возможным подойти к поверхности достаточно близко. Большинство контактов, наблюдаемых в данной модели, можно отнести к Ван-дер-Ваальсовым связям разной степени устойчивости. К водородным связям однозначно можно причислить только контакты с участием Asn409. Стоит отметить, что устойчивых водно-опосредованных контактов не обнаружено: подходящие к поверхности боковые группы аминокислотных остатков крайне быстро вытесняют молекулы воды и располагаются, как правило, на расстоянии 3,0–4,5 Å от поверхности диоксида титана. Вероятно, значительный вклад в адсорбцию вносит электростатическое притяжение белковой молекулы в целом.

При более детальном анализе изменений, которые претерпевает структура CYP7A1 в ходе моделируемой адсорбции, становится видно, что смена конформаций не ограничивается отдельными локальными перестройками. Так, хорошо заметно смещение I-спирали относительно гема, в результате чего данный участок перемещается в сторону от активного центра. Важно отметить, что указанная перегруппировка активного центра фермента происходит синхронно с отходом Glu454, Gln456 и Lys458 от поверхности анатаза и сближением с ней Tyr407 и Asn409. Аминокислотные остатки I-спирали у CYP450 ответственны за транспорт протонов в активный центр, образование комплекса железа гема с кислородом, а также за правильную ориентацию молекулы субстрата. При реализации подобной перестройки фермента можно говорить о вероятной утрате каталитической активности цитохрома P450 и, таким образом, переход из состояния *a* в состояние *b* на построенной RMSD-карте соответствует денатурации фермента.

Подобные изменения в структуре фермента могут быть причиной образования формы CYP7A1, отвечающей максимуму поглощения при 420 нм, что наблюдалось в эксперименте с фотовосстановлением.

Заключение. Создана эффективная система – донор восстановительных эквивалентов, использующая фотогенерированные электроны TiO_2 в качестве альтернативы кофактору НАДФН для восстановления железа гема цитохрома P450 человека (изоформа CYP7A1). Установлено, что фотокаталитическая активность используемого в системе диоксида титана зависит от его фазового состава и морфологии. Наилучшими фотокаталитическими свойствами характеризуется диоксид титана, представляющий собой анатазную модификацию TiO_2 либо смесь двух кристаллических модификаций – анатаза и рутила с преобладанием фазы анатаза. Диоксид титана в чистой рутильной кристаллической модификации либо в виде смеси рутила и анатаза со значительным преобладанием рутильной модификации почти не обладает фотовосстановительной активностью по отношению к железу гема цитохрома P450 в активной форме.

Показано, что контролировать фазовый состав, структурные особенности и, следовательно, фотокаталитическую активность TiO_2 можно варьируя химическую природу и количество модифицирующей добавки, вводимой на стадии синтеза, а также условий термообработки оксидного материала. Присутствие фторида аммония при получении оксидного материала позволяет полностью подавить фазовый переход анатаза в рутил и сохранить чистую анатазную модификацию TiO_2 и после прогрева материала при 700 °C. Использование щавелевой кислоты в качестве модифицирующей добавки подавляет фазовый переход анатаза в рутил частично и позволяет получить оксидные материалы, содержащие как фазу анатаза, так и фазу рутила, причем количественное соотношение этих двух фаз в материале определяется мольным соотношением щавелевой кислоты и изопропоксида титана. Применение щавелевой кислоты позволяет получить оксидные материалы с наиболее развитой поверхностью и наименьшим средним размером частиц.

Результаты, полученные при молекулярном моделировании адсорбции CYP7A1 на поверхности анатаза, позволяют предположить механизм молекулярной перестройки фермента вблизи поверхности анатаза. Происходящая перестройка переводит фермент в форму, характеризующуюся максимумом поглощения системы CYP7A1-Fe^{II}-CO при 420 нм. Данная перегруппировка сопровождается смещением I-спирали относительно гема, в результате чего этот участок перемещается в сторону от активного центра с синхронным отходом Glu454, Gln456 и Lys458 от поверхности анатаза и сближением с ней Tyr407 и Asn409.

Полученные в работе значения показывают перспективность использования наноразмерного диоксида титана в искусственно создаваемых биокаталитических системах. Запуск каталитического цикла фермента в таких системах может регулироваться УФ-облучением системы, вследствие чего фотогенерированные электроны оксидного полупроводника способны напрямую инжектироваться в активный центр фермента, имитируя действие белковых редуктаз.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант Х22У-009).

Acknowledgments. This work was supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (grant X22U-009).

Список использованных источников

1. Cytochromes P450 in biosensing and biosynthesis applications: Recent progress and future perspectives / L. Mi, Z. Wang, W. Yang [et al.] // Trends in Analytical Chemistry. – 2023. – Vol. 158. – Art. 116791. https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116791

2. Exploring the Potential of Cytochrome P450 CYP109B1 Catalyzed Regio- and Stereoselective Steroid Hydroxylation / X. Zhang, Y. Hu, W. Peng [et al.] // Frontiers in Chemistry. – 2021. – Vol. 9. – Art. 649000. https://doi.org/10.3389/fchem.2021.649000

3. Enhanced Enzymatic Reactivity for Electrochemically Driven Drug Metabolism by Confining Cytochrome P450 Enzyme in TiO_2 Nanotube Arrays / J. Lu, H. Li, D. Cui [et al.] // Analytical Chemistry. – 2014. – Vol. 86, № 15. – P. 8003–8009. https://doi.org/10.1021/ac502234x

4. Awad, G. Immobilization of P450 BM3 monooxygenase on hollow nanosphere composite: Application for degradation of organic gases pollutants under solar radiation lamp / G. Awad, E. F. Mohamed // Applied Catalysis B: Environment and Energy. – 2019. – Vol. 253. – P. 88–95. https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2019.04.045

5. Turner, J. G. How Do Proteins Associate with Nanoscale Metal–Organic Framework Surfaces? / J. G. Turner, C. G. Murphy // Langmuir. – 2021. – Vol. 37, № 32. – P. 9910–9919. https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.1c01664

6. Carravetta, V. Peptide−TiO_2 Surface Interaction in Solution by Ab Initio and Molecular Dynamics Simulations / V. Carravetta, S. Monti // The Journal of Physical Chemistry B. – 2006. – Vol. 110, № 12. – P. 6160–6169. https://doi.org/10.1021/jp056760j

7. Brandt, E. G. Molecular Dynamics Simulations of Adsorption of Amino Acid Side Chain Analogues and a Titanium Binding Peptide on the TiO_2 (100) Surface / E. G. Brandt, A. P. Lyubartsev // The Journal of Physical Chemistry C. – 2015. – Vol. 119. – P. 18126−18139. https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b02670

8. Tailored synthesis of anatase-brookite heterojunction photocatalysts for degradation of cylindrospermopsin under UV-Vis light / S. M. El-Sheikh, T. M. Khedr, V. Vogiazi [et al.] // Chemical Engineering Journal. –2017. – Vol. 310, № 23. – P. 428–436. https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.05.007

9. Investigation of the effect of sol-gel synthesis variables on structural and photocatalytic properties of TiO_2 nanoparticles / M. A. Behnajady, H. Eskandarloo, N. Modirshahla, M. Shokri // Desalination. – 2011. – Vol. 278. – P. 10–17. https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.04.019

10. Bessekhouad, Y. Synthesis of photocatalytic TiO_2 nanoparticles: optimization of the preparation conditions / Y. Bessekhouad, D. Robert, J. V. Weber // Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry. – 2003. – Vol. 157, № 1. – P. 47–53. https://doi.org/10.1016/S1010-6030(03)00077-7

11. New insight in the role of modifying ligands in the sol-gel processing of metal alkoxide precursors: A possibility to approach new classes of materials / V. G. Kessler, G. I. Spijksma, G. A. Seisenbaeva [et al.] // Journal of Sol-Gel Science and Technology. – 2006. – Vol. 40. – P. 163–179. https://doi.org/10.1007/s10971-006-9209-6

12. Hanaor, D. A. H. Review of the anatase to rutile phase transformation / D. A. H. Hanaor, C. C. Sorrell // Journal of Materials Science – 2010. – Vol. 46 – P. 855–874. https://doi.org/10.1007/s10853-010-5113-0

13. Ding, X. Z. Correlation between Anatase-to-Rutile Transformation and Grain Growth in Nanocrystalline Titania Powders / X. Z. Ding, X. H. Liu // Journal of Materials Research. – 1998. – Vol. 13. – P. 2556–2559. https://doi.org/10.1557/JMR.1998.0356

14. Chen, X. Synthesis of Titanium Dioxide (TiO_2) Nanomaterials / X. Chen, S. S. Mao // Journal of Nanoscience and Nanotechnology. – 2006. – Vol. 6, № 4. – P. 906–925. https://doi.org/10.1166/jnn.2006.160

15. Synthesis of TiO_2 nanoparticles out of fluoride solutions / D. Sofronov, M. Rucki, A. Doroshenko [et al.] // Journal of Materials Research and Technology. – 2022. – № 17. – P. 2267–2279. https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2022.02.002

16. Effect of fluoride ions on the structure and electrocatalytic properties of titanium dioxide nanotubes / H. M. Maltanava, S. K. Poznyak, N. Scharnagl [et al.] // Journal of the Belarusian State University. Chemistry. – 2017. – № 1. – P. 3–9.

17. Fluorine ions-mediated morphology control of anatase TiO_2 with enhanced photocatalytic activity / Kangle Lv, Bei Cheng, Jiaguo Yu, Gang Liu // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2012. – Vol. 14, № 16. – P. 5349–5362. https://doi.org/10.1039/c2cp23461k

18. Discovery of the potential of cholesterol-lowering human CYP7 enzymes as biocatalysts for the production of C7 hydroxylated steroids / Y. Dzichenka, M. Shapira, A. Sachanka [et al.] // Biophysical Chemistry. – 2025. – Vol. 319. – Art. 107393. https://doi.org/10.1016/j.bpc.2025.107393

References

1. Li Mi, Ziteng Wang, Wenge Yang, Chaofeng Huang, Bin Zhou, Yonghong Hu, Songqin Liu. Cytochromes P450 in biosensing and biosynthesis applications: Recent progress and future perspectives. *Trends in Analytical Chemistry*, 2023, vol. 158, art. 116791. https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116791

2. Zhang X., Hu Y., Peng W., Gao C., Xing Q., Wang B., Li A. Exploring the Potential of Cytochrome P450 CYP109B1 Catalyzed Regio- and Stereoselective Steroid Hydroxylation. *Frontiers in Chemistry*, 2021, vol. 9, art. 649000. https://doi.org/10.3389/fchem.2021.649000

3. Lu, Li H., Cui D., Zhang Y., Liu S. Enhanced Enzymatic Reactivity for Electrochemically Driven Drug Metabolism by Confining Cytochrome P450 Enzyme in TiO_2 Nanotube Arrays. *Analytical Chemistry*, 2014, vol. 86, iss. 15, pp. 8003–8009. https://doi.org/10.1021/ac502234x

4. Awad G., Mohamed E. F. Immobilization of P450 BM3 monooxygenase on hollow nanosphere composite: Application for degradation of organic gases pollutants under solar radiation lamp. *Applied Catalysis B: Environment and Energy*, 2019, vol. 253, pp. 88–95. https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2019.04.045

5. Turner J. G., Murphy C. G. How Do Proteins Associate with Nanoscale Metal–Organic Framework Surfaces? *Langmuir*, 2021, vol. 37, iss. 32, pp. 9910–9919. https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.1c01664

6. Carravetta V., Monti. S. Peptide−TiO_2 Surface Interaction in Solution by Ab Initio and Molecular Dynamics Simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2006, vol. 110, no. 12, pp. 6160–6169. https://doi.org/10.1021/jp056760j

7. Brandt E. G. Lyubartsev A. P. Molecular Dynamics Simulations of Adsorption of Amino Acid Side Chain Analogues and a Titanium Binding Peptide on the TiO_2 (100) Surface. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2015, vol. 119, pp. 18126−18139. https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b02670

8. El-Sheikh S. M., Khedr T. M., Vogiazi V., Ismail A. A., Konstantinou I. K., Hiskia A., Dionysiou D. D. Tailored synthesis of anatase-brookite heterojunction photocatalysts for degradation of cylindrospermopsin under UV-Vis light. *Chemical Engineering Journal*, 2017, vol. 310, no. 23, pp. 428–436. https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.05.007

9. Behnajady M. A., Eskandarloo H., Modirshahla N., Shokri M. Investigation of the effect of sol-gel synthesis variables on structural and photocatalytic properties of TiO_2 nanoparticles. *Desalination*, 2011, vol. 278, pp. 10–17. https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.04.019

10. Bessekhouad Y., Robert D., Weber J. V. Synthesis of photocatalytic TiO_2 nanoparticles: optimization of the preparation conditions. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2003, vol. 157, no. 1, pp. 47–53. https://doi.org/10.1016/S1010-6030(03)00077-7

11. Kessler V. G., Spijksma G. I., Seisenbaeva G. A., Håkansson S., Blank D. H. A. New insight in the role of modifying ligands in the sol-gel processing of metal alkoxide precursors: A possibility to approach new classes of materials. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 2006, vol. 40, pp. 163–179. https://doi.org/10.1007/s10971-006-9209-6

12. Hanaor D. A. H., Sorrell C. C. Review of the anatase to rutile phase transformation. *Journal of Materials Science*, 2010, vol. 46, pp. 855–874. https://doi.org/10.1007/s10853-010-5113-0

13. Ding, X. Z., Liu X. H. Correlation between Anatase-to-Rutile Transformation and Grain Growth in Nanocrystalline Titania Powders. *Journal of Materials Research*, 1998, vol. 13, pp. 2556–2559. https://doi.org/10.1557/JMR.1998.0356

14. Chen X., Mao S. S. Synthesis of Titanium Dioxide (TiO_2) Nanomaterials. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2006, vol. 6, no. 4, pp. 906–925. https://doi.org/10.1166/jnn.2006.160

15. Sofronov D., Rucki M., Doroshenko A., Shaposhnyk A., Kapustnik O., Mateychenko P., Baumer V., Zurowski W. Synthesis of TiO_2 nanoparticles out of fluoride solutions. *Journal of Materials Research and Technology*, 2022, vol. 17, pp. 2267–2279. https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2022.02.002

16. Maltanava H. M., Poznyak S. K., Scharnagl N., Ivanovskaya M. I., Gaevskaya T. V. Effect of fluoride ions on the structure and electrocatalytic properties of titanium dioxide nanotubes. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry*, 2017, no. 1, pp. 3–9.

17. Kangle Lv, Bei Cheng, Jiaguo Yu, Gang Liu. Fluorine ions-mediated morphology control of anatase TiO_2 with enhanced photocatalytic activity. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2012, vol. 14, no. 16, pp. 5349–5362. https://doi.org/10.1039/c2cp23461k

18. Dzichenka Y., Shapira M., Sachanka A., Cherkesova T., Shchur V., Grbović L., Pavlović K., Vasiljević B., Savić M., Nikolić A., Oklješa A., Ajduković J., Kuzminac I., Yantsevich A., Usanov S., Jovanović-Šanta S. Discovery of the potential of cholesterol-lowering human CYP7 enzymes as biocatalysts for the production of C7 hydroxylated steroids. *Biophysical Chemistry*, 2025, vol. 319, art. 107393. https://doi.org/10.1016/j.bpc.2025.107393

Информация об авторах

Боборико Наталья Евгеньевна – кандидат химических наук, доцент, ведущий научный сотрудник. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220084, Минск, Республика Беларусь); доцент кафедры. БГУ (пр-т Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: boboriko@ichnm.by

Семынин Артём Александрович – студент. БГУ (пр-т Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: che.semyninAA@bsu.by

Диченко Ярослав Владимирович – кандидат химических наук, доцент, ведущий научный сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Академика Купревича, 5/2, 220084, Минск, Республика Беларусь). E-mail: dichenko@iboch.by

Усанов Сергей Александрович – член-корреспондент, доктор химических наук, профессор, главный научный сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Академика Купревича, 5/2, 220084, Минск, Республика Беларусь). E-mail: usanov@iboch.by

Information about the authors

Boboriko Natalia E. – Ph. D. (Chemistry), Associate Professor, Leading Researcher. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Scorina Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus); Associate Professor. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: boboriko@ichnm.by

Semynin Artsiom A. – Student. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: che.semyninAA@bsu.by

Dzichenka Yaraslau U. – Ph. D. (Chemistry), Associate Professor, Leading Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Academician Kuprevich Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dichenko@iboch.by

Usanov Sergei A. – Corresponding Member, Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Chief Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Academician Kuprevich Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: usanov@iboch.by