

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

# ВЕСЦІ НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

---

СЕРЫЯ ХІМІЧНЫХ НАВУК. 2020. Т. 56, № 4

---

# ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

---

СЕРИЯ ХИМИЧЕСКИХ НАУК. 2020. Т. 56, № 4

---

Журнал основан в январе 1965 г.

Выходит четыре раза в год

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь,  
свидетельство о регистрации № 390 от 18.05.2009 г.

*Журнал входит в Перечень научных изданий Республики Беларусь  
для опубликования результатов диссертационных исследований,  
включен в базу данных Российского индекса научного цитирования (РИНЦ)  
и в международную базу данных Scopus*

Главный редактор

**Сергей Александрович Усанов** – Отделение химии и наук о Земле Национальной академии наук  
Беларуси, Минск, Беларусь

Редакционная коллегия

- А. В. Бильдюкевич** (*заместитель главного редактора*) – Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь  
**Н. П. Крутько** (*заместитель главного редактора*) – Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь  
**Я. В. Рощина** (*ведущий редактор журнала*) – Издательский дом «Беларуская навука», Минск, Беларусь  
**В. Е. Агабеков** – Институт химии новых материалов Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

**И. В. Войтов** – Белорусский государственный технологический университет, Минск, Беларусь  
**А. А. Гилеп** – Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь  
**А. И. Иванец** – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь  
**Е. Н. Калининченко** – Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь  
**М. И. Кузьменков** – Белорусский государственный технологический университет, Минск, Беларусь  
**А. И. Кулак** – Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь  
**Ф. А. Лахвич** – Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь  
**В. Г. Левашкевич** – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь  
**И. И. Лиштван** – Институт природопользования Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь  
**В. И. Поткин** – Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь  
**Д. В. Свиридов** – Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь  
**В. А. Хрипач** – Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь  
**О. И. Шадыро** – Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь  
**В. В. Шманай** – Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

Редакционный совет

**В. Балтрунас** – Центр исследований природы Литвы Института геологии и географии, Вильнюс, Литва  
**П. Драшар** – Пражский университет химии и технологии, Прага, Чехия  
**Л. Маркс** – Варшавский университет, Варшава, Польша  
**В. Н. Пармон** – Сибирское отделение Российской академии наук, Российская Федерация  
**В. Я. Прушак** – Солигорский институт проблем ресурсосбережения с опытным производством, Солигорск, Беларусь  
**А. В. Рогачев** – Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины, Гомель, Беларусь  
**Чжао Лян** – Хэнаньская академия наук, Хэнань, Китай

*Адрес редакции:*

*ул. Академическая, 1, к. 119, 220072, г. Минск, Республика Беларусь.  
Тел.: + 375 17 272-19-19; e-mail: himvesti@mail.ru  
Сайт: vestichem.belnauka.by*

---

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ.

Серия химических наук. 2020. Том 56, № 4.

*Выходит на русском, белорусском и английском языках*

---

Редактор *Я. В. Роцина*

Компьютерная вёрстка *Ю. А. Агейчик*

Подписано в печать 12.11.2020. Выход в свет 26.11.2020. Формат 60×84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Бумага офсетная.

Печать цифровая. Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 58 экз. Заказ 199.

Цена: индивидуальная подписка – 12,32 руб., ведомственная подписка – 29,31 руб.

Издатель и полиграфическое исполнение:

Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом «Беларуская навука».

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий № 1/18 от 02.08.2013. ЛП № 02330/455 от 30.12.2013. Ул. Ф. Скорины, 40, 220141, г. Минск, Республика Беларусь

© РУП «Издательский дом «Беларуская навука»,

Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя хімічных навук, 2020

# PROCEEDINGS

## OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

---

CHEMICAL SERIES, 2020, vol. 56, no. 4

---

The Journal was founded in January 1965

Periodicity is 4 issues per annum

Founder is the National Academy of Sciences of Belarus

The Journal is registered on May 18, 2009 by the Ministry of Information of the Republic of Belarus in the State Registry of Mass Media, reg. no. 390

*The Journal is included in the List of Journals for Publication of the Results of Dissertation Research in the Republic of Belarus and in the Database of Russian Scientific Citation Index (RSCI) and of the international Scopus Database*

### Editor-in-Chief

**Sergey A. Usanov** – Department of Chemistry and Earth Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

### Editorial board

**Alexandr V. Bilyukevich** (*Associate Editor-in-Chief*) – Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

**Nikolay P. Krutko** (*Associate Editor-in-Chief*) – Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

**Yanina V. Roshchina** (*Lead Editor*) – Publishing House “Belaruskaya Navuka”, Minsk, Belarus

**Vladimir E. Agabekov** – Institute of New Materials Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

**Igor V. Voitov** – Belarusian State University of Technology, Minsk, Belarus

**Andrey A. Gilep** – Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

**Andrei I. Ivanets** – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

**Elena N. Kalinichenko** – Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

**Mikhail I. Kuzmenkov** – Belarusian State University of Technology, Minsk, Belarus

**Anatoly I. Kulak** – Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

**Fyodor A. Lakhvich** – Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

**Vladimir G. Levashkevich** – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

**Ivan I. Lishtvan** – Institute for Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

**Vladimir I. Potkin** – Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus  
**Dmitry V. Sviridov** – Belarusian State University, Minsk, Belarus  
**Vladimir A. Khripach** – Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus  
**Oleg I. Shadyro** – Belarusian State University, Minsk, Belarus  
**Vadim V. Shmanai** – Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

#### Editorial Council

**Baltrunas Valentinas** – Lithuanian Nature Research Center of the Institute of Geology and Geography, Vilnius, Lithuania  
**Pavel Drasar** – Prague University of Chemistry and Technology, Prague, Czechia  
**Leszek Marks** – University of Warsaw, Warszawa, Poland  
**Valentin N. Parmon** – Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Russian Federation  
**Victor Ya. Prushak** – Soligorsk Institute of Resource Saving Problems with the Pilot Plant, Soligorsk, Belarus  
**Alexander V. Rogachev** – Francisk Skorina Gomel State University, Gomel, Belarus  
**Zhao Liang** – Henan Academy of Sciences, Henan, China

*Address of the Editorial Office:  
1, Akademicheskaya Str., room 119, 220072, Minsk, Republic of Belarus.  
Tel.: +375 17 272-19-19; e-mail: himvesti@mail.ru  
Website: vestichem.belnauka.by*

---

PROCEEDING OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS.

Chemical series, 2020, vol. 56, no. 4.

*Printed in Russian, Belarusian and English languages*

---

Editor *Ya. V. Roshchina*  
Computer imposition *Y. A. Aheichyk*

It is sent of the press 12.11.2020. Appearance 26.11.2020. Format 60×84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Offset paper.  
The press digital. Printed pages 14,88. Publisher's signatures 16,4. Circulation 58 copies. Order 199.  
Price: individual subscription – 12,26 byn., departmental subscription – 29,23 byn.

Publisher and printing execution:

Republican unitary enterprise "Publishing House "Belaruskaya Navuka".  
Certificate on the state registration of the publisher, manufacturer, distributor of printing editions  
no. 1/18 dated August 2, 2013. License for the press no. 02330/455 dated December 30, 2013.  
Address: F. Scorina Str., 40, 220141, Minsk, Republic of Belarus.

© RUE "Publishing House "Belaruskaya Navuka",  
Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series, 2020

## ЗМЕСТ

### ФІЗІЧНАЯ ХІМІЯ

- Лазнев К. В., Агабеков В. Е.** Микросферы из сшитого глутаральдегидом поливинилового спирта для иммуномагнитной сепарации клеток ..... 391
- Шумская Е. Е., Рогачев А. А., Агабеков В. Е., Довыденко Е. М., Петкевич А. В., Корольков И. В., Козловский А. Л., Здоровец М. В., Бундюкова В. Д., Якимчук Д. В., Каныков Е. Ю.** Нанотрубки со структурой типа «магнитное ядро–оболочка из благородного металла» ..... 399

### НЕАРГАНІЧНАЯ ХІМІЯ

- Воробьева Т. Н., Врублевская О. Н., Кудачко А. А., Галуза М. Г., Кобец А. В., Петрова А. А., Аль-Нахар Г.** Получение порошковых сплавов со структурой частиц ядро–оболочка безэлектролизным осаждением из растворов ..... 408

### КАЛОЇДНАЯ ХІМІЯ

- Глазов И. Е., Малаховский П. О., Крутько В. К., Мусская О. Н., Кулак А. И.** Электрокинетические свойства гелей фосфатов кальция ..... 419
- Воробьева Е. В.** Физико-химические и солюбилизующие свойства водорастворимых комплексов на основе полиакриламида и поликислот ..... 429
- Рева О. В., Назарович А. Н., Богданова В. В., Врублевский А. В.** Влияние природы органических растворителей на стабильность и активирующую способность коллоидных растворов SnCl<sub>2</sub> ..... 434

### АРГАНІЧНАЯ ХІМІЯ

- Акишина Е. А., Казак Д. В., Дикусар Е. А., Алексеев Р. С., Бумагин Н. А., Поткин В. И.** Синтез производных акридина, бисакридина и хинолина с 1,2-азольными, пиридиновыми и ферроценовыми фрагментами .... 445

### БІЯАРГАНІЧНАЯ ХІМІЯ

- Щур В. В., Жолнерович А. И., Буренкова Ю. П., Янцевич А. В., Усанов С. А.** Стабильность 5'-диметокситритильной защитной группы синтетического олигонуклеотида в условиях полимеразной цепной реакции .... 457
- Пустюльга Е. С., Грибовская О. В., Ермола Е. М., Голубович В. П.** Тестирование экспериментальных образцов сорбентов на основе ароматических пептидов ..... 465

### ХІМІЯ ВЫСОКАМАЛЕКУЛЯРНЫХ ЗЛУЧЭННЯЎ

- Савицкая Т. А., Цыганкова Н. Г., Макаревич С. Е., Гриншпан Д. Д., Ивашкевич О. А.** Термические свойства композиционных волокон состава целлюлоза–хитозан ..... 473

### ТЭХНІЧНАЯ ХІМІЯ І ХІМІЧНАЯ ТЭХНАЛОГІЯ

- Кошевар В. Д., Шкадрцова В. Г., Бусел Д. А.** Комплексное антикоррозионное покрытие на основе водно-дисперсионных грунтовок и лака для защиты металлопродукции ..... 482

### АГЛЯДЫ

- Литвинко Н. М.** Многоцелевые биореакторы на основе фосфолиполиза ..... 494

## CONTENTS

### PHYSICAL CHEMISTRY

- Laznev K. V., Agabekov V. E.** Microspheres made of polyvinyl alcohol crosslinked with glutaraldehyde for immunomagnetic cell separation ..... 391
- Shumskaya E. E., Rogachev A. A., Agabekov V. E., Dovydenko E. M., Petkevich A. V., Korolkov I. V., Kozlovskiy A. L., Zdorovets M. V., Bundyukova V. D., Yakimchuk D. V., Kaniukov E. Yu.** Nanotubes with a structure of the «magnetic core–noble metal shell» type..... 399

### INORGANIC CHEMISTRY

- Vorobyova T. N., Vrublevskaya O. N., Kudaka A. A., Galuza M. G., Kobets A. V., Petrova A. A., Al-Nakhar G.** Electroless deposition of powdery alloys with core–shell particles structure from solutions ..... 408

### COLLOIDAL CHEMISTRY

- Glazov I. E., Malakhovsky P. O., Krut'ko V. K., Musskaya O. N., Kulak A. I.** Electrokinetic properties of colloid calcium phosphate..... 419
- Vorobieva E. V.** Physico-chemical and solubilizing properties of water-soluble complexes based on polyacrylamide and polyacids ..... 429
- Reva O. V., Nazarovich A. N., Bogdanova V. V., Vrublevsky A. V.** Influence of the organic solvents nature on the stability and activating ability of  $\text{SnCl}_2$  colloidal solutions ..... 434

### ORGANIC CHEMISTRY

- Akishina E. A., Kazak D. V., Dikusar E. A., Alekseev R. S., Bumagin N. A., Potkin V. I.** Synthesis of acridine, bisacridine and quinoline derivatives with 1,2-azolic, pyridine and ferrocene fragments ..... 445

### BIOORGANIC CHEMISTRY

- Shchur V. V., Zholnerovich A. I., Burankova Y. P., Yantsevich A. V., Usanov S. A.** 5'- Dimethoxytrityl protection group of synthetic oligonucleotide stability in polymerase chain reaction..... 457
- Pustsylvka Y. S., Gribovskaya O. V., Ermola E. M., Golubovich V. P.** Testing of experimental samples of sorbents based on aromatic peptides ..... 465

### POLYMER CHEMISTRY

- Savitskaya T. A., Tsygankova N. G., Makarevich S. E., Grinshpan D. D., Ivashkevich O. A.** Thermal properties of cellulose–chitosan composite fibers ..... 473

### TECHNICAL CHEMISTRY AND CHEMICAL ENGINEERING

- Koshevar V. D., Shkadretsova V. G., Busel D. A.** Integrated anticorrosive coating for the protection of metal products based on water-dispersion primers and varnishes..... 482

### REVIEWS

- Litvinko N. M.** Multi-purpose bioreactors based on phospholipolysis ..... 494

**ФІЗИЧНАЯ ХІМІЯ**  
**PHYSICAL CHEMISTRY**

УДК 544.778.3+66.084.8+621.318.134+66.095.39  
<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-391-398>

Поступила в редакцию 05.08.2020  
Received 05.08.2020

**К. В. Лазнев, В. Е. Агабеков**

*Институт химии новых материалов Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь*

**МИКРОСФЕРЫ ИЗ СШИТОГО ГЛУТАРАЛЬДЕГИДОМ ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА  
ДЛЯ ИММУНОМАГНИТНОЙ СЕПАРАЦИИ КЛЕТОК**

**Аннотация.** Установлено, что эмульгируемость водных растворов NaCl и CaCl<sub>2</sub> в изооктане с добавками Span 85 и Tween 85 зависит от концентрации солей и от природы катиона, при этом Ca<sup>2+</sup> эффективнее стабилизирует эмульсию, чем Na<sup>+</sup>. При смешивании растворов 275 г/л глутаральдегида и 1М CaCl<sub>2</sub> в воде и 2,8 %<sub>m</sub> Span 85 и 1,5 %<sub>m</sub> Tween 85 в изооктане с последующим ультразвуковым диспергированием смеси получена эмульсия с мутностью ≤20 ЕМФ, которая была применена в качестве сшивающего агента для формирования микросфер из взвешенных в изооктане микрокапель магнитных жидкостей, содержащих поливиниловый спирт и наночастицы магнетита. Синтезированные магнитные микросферы модифицированы авидином и использованы для иммуномагнитной сепарации клеток.

**Ключевые слова:** микросферы, эмульсии, поливиниловый спирт, глутаральдегид, иммуномагнитная сепарация

**Для цитирования.** Лазнев, К. В. Микросферы из сшитого глутаральдегидом поливинилового спирта для иммуномагнитной сепарации клеток / К. В. Лазнев, В. Е. Агабеков // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. хим. наук. – 2020. – Т. 56, № 4. – С. 391–398. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-391-398>

**K. V. Laznev, V. E. Agabekov**

*Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Science of Belarus, Minsk, Belarus*

**MICROSPHERES MADE OF POLYVINYL ALCOHOL CROSSLINKED WITH GLUTARALDEHYDE  
FOR IMMUNOMAGNETIC CELL SEPARATION**

**Abstract.** Emulsification of water solutions of NaCl and CaCl<sub>2</sub> in iso-octane with Span 85 and Tween 85 additives was found to depend on the salt content and the cation nature, Ca<sup>2+</sup> being more effective stabilizer than Na<sup>+</sup>. When the solutions of 275 g/l glutaraldehyde with 1M CaCl<sub>2</sub> in water and 2.8 %<sub>m</sub> Span 85 with 1.5 %<sub>m</sub> Tween 85 in iso-octane were mixed and sonicated, the transparent emulsion (turbidity ≤20 FNU) was acquired. It was used as a crosslinking agent to synthesize microspheres from magnetic fluids containing polyvinyl alcohol and magnetite nanoparticles dispersed as microdroplets in iso-octane. The microspheres were modified with avidin and used for immunomagnetic separation of cells.

**Keywords:** microspheres, emulsions, polyvinyl alcohol, glutaraldehyde, immunomagnetic separation

**For citation.** Laznev K. V., Agabekov V. E. Microspheres made of polyvinyl alcohol crosslinked with glutaraldehyde for immunomagnetic cell separation. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*, 2020, vol. 56, no. 4, pp. 391–398 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-391-398>.

**Введение.** Иммуномагнитная сепарация (ИМС) широко применяется в медицине, биологии и биотехнологии, в частности, для разделения клеток с различным антигенным составом поверхности (фенотипом). С помощью ИМС обнаруживают циркулирующие опухолевые клетки в крови [1], разделяют популяции лейкоцитов [2], получают культуры стволовых клеток, а также очищают трансплантируемый материал от лейкоцитов для регенеративной медицины и тканевой инженерии [1, 2]. Производительность процедуры ИМС достигает более 10<sup>10</sup> клеток в час, а чистота выделенных популяций составляет более 95 % [1].

ИМС основана на селективном связывании магнитных частиц (МЧ) с целевыми объектами (объектами-мишенями), которыми могут быть биологические молекулы, клетки, органеллы, микроорганизмы, вирусы [1–3]. Селективность обеспечивается аффинным межмолекулярным взаимодействием, обычно между антителом на поверхности МЧ и антигеном мишени [1–3]. После инкубации МЧ вместе со связавшими их объектами улавливаются магнитом, а супернатант удаляется [3].

Для ИМС чаще применяются композитные МЧ размером от 50 нм [2, 3], а также магнитные микросферы (ММС) размером от долей микрона до 10 мкм [1–3], которые содержат магнитные наночастицы в полимерной матрице, покрытой оболочкой из гидрофильных нейтральных полимеров, таких как полиэтиленгликоль (ПЭГ) [2], поливиниловый спирт (ПВС), декстран. Поверхность ММС для иммуномагнитной сепарации модифицирована аффинными биомолекулами [1–3].

Требованием к магнитным наночастицам, применяемым в составе микросфер для ИМС, является суперпарамагнетизм, т. е. высокая магнитная восприимчивость и отсутствие заметной остаточной намагниченности. Такими свойствами обладают, в частности, магнетит  $\text{FeO}\cdot\text{Fe}_2\text{O}_3$  и маггемит  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$  в форме наночастиц размером до 15 нм [4].

В качестве полимерной матрицы используют полистирол [2–4], полиакриламид [4], полиметакрилаты [4], целлюлозу [2, 3], агарозу [2, 3], альгиновую кислоту [4–6], ПВС [2] и другие полимеры [4]. Одним из способов получения микросфер является желирование глутаральдегидом микрокапель растворов хитозана и/или ПВС в эмульсиях [7, 8]. Глутаральдегид эффективно сшивает полиамины и некоторые полиспирты, такие как ПВС [9, 10]. Для инактивации непрореагировавших при сшивке карбонильных групп применяют боргидрид натрия [9]. В случае сшитых полиаминов боргидрид обеспечивает также восстановление оснований Шиффа до аминов, в результате чего полимерная матрица становится более устойчивой к гидролизу [9]. Образующаяся в реакции борная кислота служит дополнительным сшивающим агентом по отношению к ПВС [11]. В неполярную дисперсионную среду глутаральдегид обычно вносят в виде раствора в толуоле [7, 8, 12]. В качестве дисперсионной среды для получения эмульсий водных растворов полимеров применяется, в частности, раствор Span 85 и Tween 85 в изооктане [5, 6].

Гидрофильная оболочка необходима для предотвращения агрегации микросфер в водной среде и для минимизации неспецифического связывания их с биологическими объектами [2]. Для ковалентной иммобилизации лигандов, ответственных за селективность связывания, в состав оболочки вводятся реакционно активные группы: карбоксильные, аминные, тиольные или эпоксидные [9]. Количество заряженных групп не должно быть избыточным во избежание потери оболочкой способности блокировать неспецифическую адгезию клеток, причем карбоксильные группы меньше способствуют адгезии, чем аминокгруппы [15].

В качестве аффинных молекул на поверхности ММС, как правило, иммобилизуют антитела, либо связывающие биотин белки (авидин, стрептавидин), которые обеспечивают иммобилизацию биотинилированных антител [1, 3]. Применение вторичных антител или биотинсвязывающих белков позволяет использовать одни и те же ММС для сепарации клеток с разным антигенным составом поверхности.

Распространенным способом иммобилизации белков на поверхности полимера, содержащего карбоксильные группы, является ее обработка N-замещенными карбодиимидами, например 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимидом (EDC). Получаемые при этом активные интермедиаты реагируют с аминами белков [1, 9]. Для стабилизации интермедиатов применяют N-гидроксисукцинимид (NHS), это позволяет осуществить иммобилизацию в две стадии: активация частиц и их инкубация в растворе белка после отмывки от EDC и NHS [9]. При этом EDC не реагирует с карбоксильными группами белка и не вызывает кластеризации его молекул, как это происходит при одностадийной иммобилизации, когда белок и EDC присутствуют в среде одновременно [9].

Цель данной работы – получение микросфер на основе сшитого глутаральдегидом ПВС, содержащих наночастицы магнетита и модифицированных авидином для иммуномагнитной сепарации клеток.

Для этого необходимо было изучить влияние концентрации солей в водных растворах, содержащих глутаральдегид, на их диспергируемость в изооктане с добавками Span 85 и Tween 85. Ранее нами были разработаны методики получения суперпарамагнитных наночастиц магнетита [16], магнитных жидкостей, содержащих магнетит и гидрофильные полимеры [17], эмульсий растворов гидрофильных полимеров с узким распределением микрокапель по размеру [18], а также изучено влияние состава оболочки ММС на их неспецифическое связывание с лейкоцитами [19].

**Экспериментальная часть.** Массовое соотношение Span 85 и Tween 85 в дисперсионной среде составляло 1,9:1,0 [5, 6], а содержание Span 85 от 1,4 до 2,8 %<sub>m</sub>. Для эмульгирования водных растворов солей и глутаральдегида применяли погружной ультразвуковой диспергатор (22 кГц, 100 Вт). Мутность оценивали через 2 мин после приготовления эмульсий по боковому светорассеянию на спектрофлуориметре Solar CM 2203 (Беларусь) или визуально, сравнивая со стандартом 20 единиц мутности формазина (ЕМФ).

Суперпарамагнитные наночастицы магнетита, имеющие средний размер 10–15 нм, и поливинилспиртовые ММС получали согласно методике [16]. Микросферы покрывали слоем ПВС [19]. Использовали ПВС, динамическая вязкость 4 %-ного водного раствора которого составляет 10–12 мПа·с, а массовая доля ацетатных групп – 1,1–1,9 %. ММС обрабатывали раствором 40 г/л перекиси водорода в дистиллированной воде или 10 %<sub>v</sub> уксусной кислоте. Завершающим этапом синтеза микросфер были два цикла обработки  $\text{NaBH}_4$  10 мг/мл в буфере  $\text{NaCl}$  0,5М,  $\text{NaP}_i$  0,2М, рН 9, 20 мин при 60 °С, после первого цикла ММС обрабатывали УЗ 22 кГц 50 Вт в течение 15 с. Зета-потенциал ММС определяли на приборе Malvern ZetaSizer Nano-ZS (Великобритания).

Влияние условий обработки микросфер реактивами EDC и NHS на иммобилизацию авидина изучали на коммерческих (Magnosphere<sup>TM</sup> 300 Carboxyl) и поливинилспиртовых микросферах. Иммобилизацию проводили двумя способами: одностадийным, когда микросферы обрабатывали раствором EDC 20 г/л и авидина 250 мг/л в 0,1 М (рН 6) буфере 2-(N-морфолино)этансульфоновой кислоты (MES) в течение 2,5 ч; двухстадийным, при котором микросферы обрабатывали раствором EDC 20 г/л и NHS 10 г/л в MES-буфере в течение 15 мин, дважды отмывали, инкубировали 2,5 ч в MES-буфере, содержащем 250 мг/л авидина.

После инкубации с авидином микросферы трижды отмывали 0,15М (рН 7,4) фосфатно-солевым буфером (ФСБ) с добавкой 5 г/л бычьего сывороточного альбумина (БСА) и обрабатывали раствором биотин-4-флуоресцеина 1 мг/л в ФСБ для флуоресцентного мечения иммобилизованного авидина. Флуоресценцию метки исследовали в камере Горяева на оптическом микроскопе «Планар Микро МБ» [16], сравнивая с флуоресценцией микросфер, не модифицированных авидином и обработанных таким же раствором биотин-4-флуоресцеина. Яркость изображений микросфер на микрофотографиях количественно определяли с помощью программного обеспечения ImageJ [20]. Статистическую обработку данных проводили в Microsoft Excel.

Магнитную сепарацию лимфоцитов CD8<sup>+</sup> из суспензии мононуклеаров периферической крови (МПК) осуществляли в сепарационной среде, которая представляла собой ФСБ с добавками 5,0 г/л БСА и 2,0 мМ этилендиаминтетраацетата натрия. ММС инкубировали 15 мин с биотинилированными антителами анти-CD8, взятыми в количестве 2,00 или 6,25, или 12,50 мкг на 10<sup>9</sup> микросфер, после чего трижды отмывали. ММС, «нагруженные» анти-CD8, смешивали с клетками в соотношении 10:1, инкубировали 20 мин, осторожно перемешивая каждые 5 мин, и осаждали на магните. В исходной суспензии и супернатантах клетки окрашивали мечеными фикоэритрином антителами CD8 и на проточном цитофлуориметре Beckman Coulter FC500 (США) исследовали их распределение по размеру и интенсивности флуоресценции фикоэритрина, различая популяции с низкой, средней (интенсивность флуоресценции  $\geq 1 \cdot 10^3$  у.е.) и высокой (интенсивность флуоресценции  $\geq 2 \cdot 10^4$  у.е.) экспрессией CD8.

Жизнеспособность клеток определяли по окрашиванию ядер флуорохромами Hoechst-33342 и йодистый пропидий. Специфичность сепарации рассчитывали как отношение количества клеток CD8<sup>+</sup> к общему количеству клеток в выделенной суспензии. Выход целевой популяции определяли как соотношение количеств CD8<sup>+</sup> в выделенной суспензии и в исходной суспензии. Удаление целевой популяции из 1-го супернатанта вычисляли путем деления разности между долями CD8<sup>+</sup> в исходной суспензии и в 1-м супернатанте на долю CD8<sup>+</sup> в исходной суспензии.

**Результаты и их обсуждение.** Эмульгируемость водных растворов  $\text{CaCl}_2$  в изооктане с добавками Span 85 и Tween 85 при ультразвуковой обработке зависит от концентраций соли и ПАВ. Условия получения прозрачных эмульсий (<20 ЕМФ), стабильных в течение  $\geq 2$  мин, представлены в таблице.

**Условия получения прозрачных эмульсий (<20 ЕМФ) водных растворов  $\text{CaCl}_2$  в изооктане с добавками Span 85 и Tween 85**

**The conditions necessary to acquire transparent emulsions (< 20 FNU) of  $\text{CaCl}_2$  water solutions in iso-octane with Span 85 and Tween 85 additives**

$\text{CaCl}_2$ , М	Tween 85, % <sub>m</sub>	Span 85, % <sub>m</sub>	Минимальное объемное соотношение вода : изооктан
0,25	1,5	2,8	1 : 40
0,5	1,5	2,8	1 : 24
1	1,5	2,8	1 : 15
1	0,75	1,4	1 : 21

Прозрачную эмульсию водного раствора хлорида кальция в изооктане с добавками Span 85 и Tween 85 удастся получить уже при концентрации  $\text{CaCl}_2$  0,1 М. Однако она мутнеет менее чем за минуту. Это свидетельствует о том, что электролиты влияют преимущественно на стабильность эмульсий, а не на дробление микрокапель (которое зависит от поверхностного натяжения на границе раздела фаз).

Одним из механизмов влияния электролитов на стабильность слоя ПАВ на границе раздела полярной и неполярной фаз является уменьшение гидратации полярных групп сурфактантов, приводящее к высаливанию амфифильных молекул из раствора [21]. Однако нами установлено, что дисперсность водных растворов солей в изооктане с добавками Span 85 и Tween 85 зависит не только от ионной силы эмульгируемого раствора, но и от природы катиона. Об этом свидетельствует, что наименьшее соотношение водной и изооктановой фаз, при котором образуется прозрачная эмульсия раствора соли в изооктане с добавками Span 85 2,8 %<sub>m</sub> и Tween 85 1,5 %<sub>m</sub>, составляет (приблизительно) 1:15 для 1М раствора  $\text{CaCl}_2$ , 1:30 для 1М NaCl и 1:20 для 2М NaCl (в котором концентрация  $\text{Cl}^-$  такая же как в 1М  $\text{CaCl}_2$ ).

Не исключено, что механизмом стабилизации ионами, особенно двухвалентными катионами, эмульсий водных растворов солей в изооктане с добавками Span 85 и Tween 85 является формирование обратных мицелл, в том числе заряженных [22], слой которых стабилизирует микрокапли аналогично слою твердых частиц в эмульсиях Пикеринга [4].

Раствор 275 г/л глутаральдегида и 1М  $\text{CaCl}_2$  удается диспергировать до прозрачной эмульсии (<20 ЕМФ) в изооктане с добавками 1,5 %<sub>m</sub> Tween 85 и 2,8 %<sub>m</sub> Span 85 при соотношении водной и изооктановой фаз  $\leq 1:12$ . Отсутствие видимой опалесценции свидетельствует о том, что порядок размера капель водной фазы – несколько десятков нм [23]. При этом концентрация глутаральдегида в эмульсии достигает 21,2 г/л. Широко применяемый метод внесения глутаральдегида в виде раствора в толуоле не позволяет получать концентрации такого порядка [7, 8, 12]. Вносимое количество толуола составляет не более 19 % итогового объема неполярной фазы [7], что с учетом концентрации насыщенного раствора ГА в толуоле 33 г/л [12] соответствует конечной концентрации ГА не более 6,3 г/л.

Поливинилспиртовые микросферы, полученные эмульсионным способом при желировании глутаральдегидом микрокапель магнитной жидкости, содержащей 50 г/л ПВС и наночастицы магнетита, имели средний размер 3,3–5,1 мкм, индекс полидисперсности 0,08–0,10. Дзета-потенциал микросфер, обработанных перекисью водорода и боргидридом натрия, составлял от –3,35 до + 3,71 мВ.

Интенсивность флуоресценции (за вычетом контроля) меченных биотин-4-флуоресцеином микросфер после иммобилизации авидина двухстадийным способом на  $90,0 \pm 2,0$  % больше, чем после иммобилизации одностадийным. В дальнейшем применялся двухстадийный способ.

На микросферах, обработанных перекисью водорода в 10 %<sub>v</sub> уксусной кислоте (рН 2) и модифицированных авидином по двухстадийному способу, интенсивность флуоресценции (за вычетом

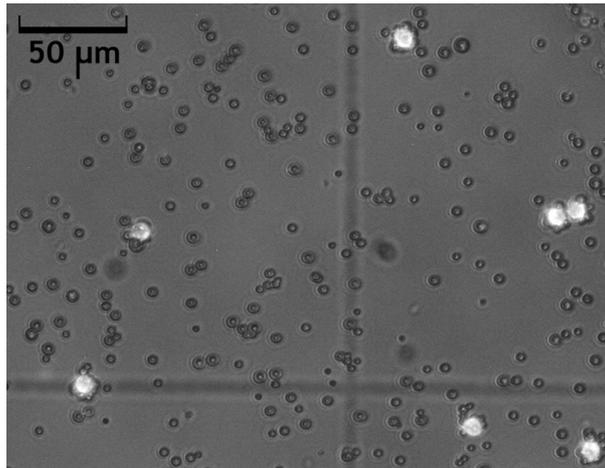


Рис. 1. Микрофотография ресуспендированного осадка после магнитной сепарации.  
Клетки окрашены флуоресцентными антителами анти-CD8

Fig. 1. Microphotograph of the resuspended sediment after magnetic separation.  
Cells are labeled with fluorescent anti-CD8 antibodies

контроля) биотин-4-флуоресцеина на  $102,0 \pm 15,0$  % больше, чем на микросферах, модифицированных авидином без предварительной обработки  $H_2O_2$ . По-видимому, это объясняется существенным увеличением количества карбоксильных групп на поверхности микросфер за счет конверсии карбонильных групп. При сравнении обработки микросфер перекисью водорода при pH 2 (в 10 %<sub>v</sub> уксусной кислоте) и pH 5–6 установлено, что кислотность практически не влияет на последующую иммобилизацию авидина. Микросферы, несущие биотинилированные антитела, формируют вокруг клеток CD8<sup>+</sup> характерные розетки (рис. 1).

ММС, обработанные 2,0 мкг анти-CD8 на  $10^9$  микросфер, извлекают из суспензии мононуклеаров только клетки с высокой экспрессией антигена (CD8<sup>high</sup>), а обработанные 6,25 мкг анти-CD8 на  $10^9$  микросфер – также клетки с низкой экспрессией CD8 (рис. 2). Во втором случае специфичность сепарации составляла  $94,2 \pm 4,5$  %, выход CD8<sup>+</sup> –  $84,8 \pm 11,0$  %, удаление CD8<sup>+</sup> из 1-го супернатанта –  $96,5 \pm 3,6$  %, жизнеспособность клеток в осадке –  $97,9 \pm 2,3$  %. При сепарации микросферами, «нагруженными» из расчета 12,5 мкг анти-CD8 на  $10^9$  ММС, жизнеспособность клеток в осадке была  $89,0 \pm 3,6$  %. При сепарации CD8<sup>+</sup> из суспензии МНК с помощью коммерческих микросфер MagCelect<sup>TM</sup> Streptavidin Ferrofluid специфичность составляла  $93,0 \pm 2,0$  %.

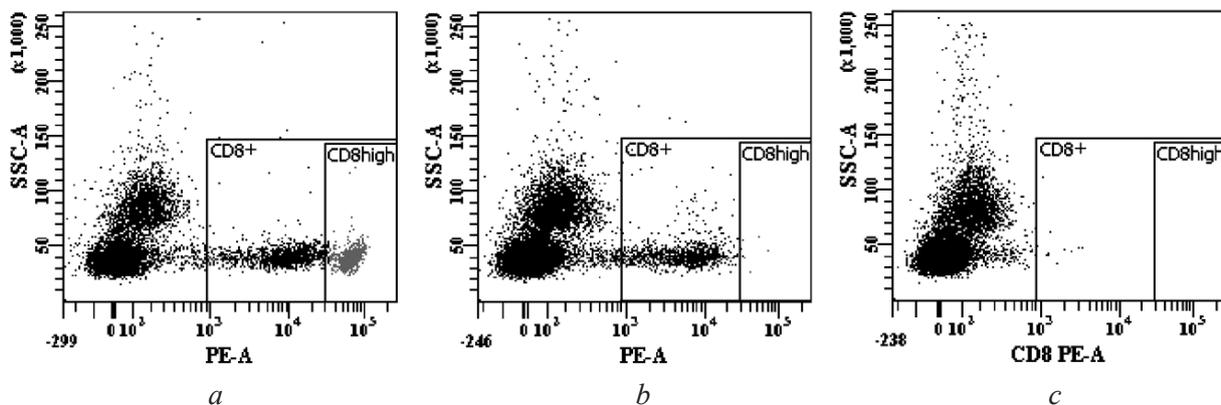


Рис. 2. Данные проточной цитофлуориметрии: *a* – исходной суспензии МНК; *b* – супернатанта после магнитной сепарации (2,0 мкг анти-CD8 на  $10^9$  микросфер); *c* – супернатанта после магнитной сепарации (6,25 мкг анти-CD8 на  $10^9$  микросфер)

Fig. 2. Flow cytometry data: *a* – genuine sample; *b* – supernatant after magnetic separation (2.0 μg of anti-CD8 per  $10^9$  microspheres); *c* – supernatant after magnetic separation (6.25 μg of anti-CD8 per  $10^9$  microspheres)

**Заклучение.** Получены микросферы на основе сшитого глутаральдегидом ПВС, содержащие наночастицы магнетита. Присутствие 1М CaCl<sub>2</sub> в растворе глутаральдегида, диспергируемом в изооктане с добавками Span 85 2,8 %<sub>м</sub> и Tween 85 1,5 %<sub>м</sub>, позволяет получать практически прозрачные эмульсии (мутность ≤20 ЕМФ) с содержанием глутаральдегида до 21,2 г/л, что многократно превышает концентрации, достигаемые путем внесения в изооктан насыщенного раствора глутаральдегида в толуоле. Стабильность прозрачных эмульсий в среде изооктан/Tween 85/Span 85 зависит от концентрации электролитов в эмульгируемом растворе и от природы катиона: Ca<sup>2+</sup> более эффективный стабилизатор, чем Na<sup>+</sup>. Конъюгированные с авидином с помощью EDC и NHS поливинилспиртовые микросферы пригодны для магнитной сепарации клеток, обеспечивая специфичность, сопоставимую с коммерческими микросферами. При двухстадийном способе сепарации с применением микросфер, различающихся поверхностной плотностью иммобилизации антител, возможно разделение популяций клеток с высокой и низкой экспрессией одного и того же антигена.

### Список использованных источников

1. Plouffe, B. D. Fundamentals and application of magnetic particles in cell isolation and enrichment / B. D. Plouffe, S. K. Murthy, L. H. Lewis // *Rep. Prog. Phys.* – 2015. – Vol. 78, N 1. – Article 016601. <https://doi.org/10.1088/0034-4885/78/1/016601>
2. Safarikova, M. The application of magnetic techniques in biosciences / M. Safarikova, I. Safarik // *Magnetic and Electrical Separation.* – 2001. – Vol. 10, N. 4. – P. 223–252. <https://doi.org/10.1155/2001/57434>
3. Safarik, I. Magnetic techniques for the isolation and purification of proteins and peptides / I. Safarik, M. Safarikova // *Biomagn. Res. Technol.* – 2004. – Vol. 2, N. 1. – Article 7. <https://doi.org/10.1186/1477-044X-2-7>
4. Magnetic polymer beads: recent trends and developments in synthetic design and applications / O. Philippova [et al.] // *European Polymer Journal.* – 2011. – Vol. 47, N. 4. – P. 542–559. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2010.11.006>
5. Synthesis, characterization, and application of composite alginate microspheres with magnetic and fluorescent functionalities / J. Liu [et al.] // *Journal of Applied Polymer Science.* – 2009. – Vol. 113, N. 6. – P. 4042–4051. <https://doi.org/10.1002/app.30487>
6. Brown, J. Q. Encapsulation of glucose oxidase and an oxygen-quenched fluorophore in polyelectrolyte-coated calcium alginate microspheres as optical glucose sensor systems / J. Q. Brown, R. Srivastava, M. J. McShane // *Biosensors and Bioelectronics.* – 2005. – Vol. 21, N. 1. – P. 212–216. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2004.08.020>
7. Formulation and evaluation of glutaraldehyde-crosslinked chitosan microparticles for the delivery of ibuprofen / K. C. Ofokansi [et al.] // *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* February. – 2013. – Vol. 12, N 1. – P. 19–25. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v12i1.4>
8. Campos, E. An improved method for preparing glutaraldehyde cross-linked chitosan–poly(vinyl alcohol) microparticles / E. Campos, P. Coimbra, M. H. Gil // *Polym. Bull.* – 2013. – Vol. 70, N. 2. – P. 549–561. <https://doi.org/10.1007/s00289-012-0853-4>
9. Hermanson, G. T. *Bioconjugate techniques* / G. T. Hermanson. – 2nd edition. – Elsevier, 2008. – 1202 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370501-3.X0001-X>
10. FTIR spectroscopy characterization of poly (vinyl alcohol) hydrogel with different hydrolysis degree and chemically crosslinked with glutaraldehyde / H. S. Mansur [et al.] // *Materials Science and Engineering: C.* – 2008. – Vol. 28, N 4. – P. 539–548. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2007.10.088>
11. Complex of polyvinyl alcohol with boric acid: Structure and use / Yu. Prosanov [et al.] // *Materialstoday communications.* – 2018. – Vol. 14. – P. 77–81. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2017.12.012>
12. Characterization and release kinetics of red ginger oleoresin encapsulation based on the effect of glutaraldehyde concentration as crosslinking agent / Jayanudin [et al.] // *Res. J. Chem. Environ.* – 2019. – Vol. 23, N 3. – P. 15–25.
13. Salmaso, S. Stealth properties to improve therapeutic efficacy of drug nanocarriers / S. Salmaso, P. Caliceti // *J. Drug Deliv.* – 2013. – Vol. 2013. – Article 374252. <https://doi.org/10.1155/2013/374252>
14. A biotechnological perspective on the application of iron oxide magnetic colloids modified with polysaccharides / A. M. G. C. Dias [et al.] // *Biotechnology Advances.* – 2011. – Vol. 29, N. 1. – P. 142–155. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.10.003>
15. Self-assembled monolayers with different terminating groups as model substrates for cell adhesion studies / N. Faucheux [et al.] // *Biomaterials.* – 2004. – Vol. 25, N. 14. – P. 2721–2730.
16. Поливинилспиртовые магнитные микросферы, содержащие 2-аминопиримидин-бис-этен-бис-диалкилфениламины в качестве флуоресцентных индикаторов pH / К. В. Лазнев [и др.] // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси.* – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 563–568. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-563-568>
17. Лазнев, К. В. Получение и свойства магнитных микросфер на основе гидрофильных полимеров / К. В. Лазнев, Е. Е. Шумская, В. Е. Агабеков // *Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. хім. навук.* – 2020. – Т. 56, № 2. – С. 135–142. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-2-135-142>
18. Кутузов, М. Д. Влияние параметров эмульгирования на размер капель и полидисперсность эмульсии раствора высокомолекулярного хитозана / М. Д.Кутузов, К. В. Лазнев, М. Ю. Рощина // *Молодежь в науке–2016: материалы XIII междунар. науч. конф. молодых ученых.* – Минск. 2016. – Т. 2. – С. 388–393.

19. Лазнев, К. В. Связывание гелевых магнитных микросфер с мононуклеарными клетками крови / К. В. Лазнев, В. Е. Агабеков // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2016. – Т. 60, № 2. – С. 67–72.
20. Image J: Image processing and analysis in Java [Electronic resource]. – Mode of access: <https://imagej.nih.gov/ij>. – Date of access: 31.07.2020.
21. Lu, D. Nonideality in mixed monolayers of sorbitan oleates is enhanced by elevated ionic strength / D. Lu, D. J. Burgess, D. G. Rhodes // *Langmuir*. – 2000. – Vol. 16, N. 26. – P. 10329–10333. <https://doi.org/10.1021/la001058u>
22. Regulation of charged reverse micelles on particle charging in nonpolar media / H. Cao [et al.] // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2013. – Vol. 15, N. 29. – P. 12227–12234. <https://doi.org/10.1039/C3CP51212F>
23. CO<sub>2</sub>-responsive TX-100 emulsion for selective synthesis of 1D or 3D gold / J. Zhang [et al.] // *Soft Matter*. – 2010. – Vol. 6, N. 24. – P. 6200–6205. <https://doi.org/10.1039/c0sm00063a>

## References

1. Plouffe B. D., Murthy S. K., Lewis L. H. Fundamentals and application of magnetic particles in cell isolation and enrichment: a review. *Reports on Progress in Physics*, 2015, vol. 78, no. 1, p. 016601. <https://doi.org/10.1088/0034-4885/78/1/016601>
2. Safarikova M., Safarik I. The application of magnetic techniques in biosciences. *Magnetic and Electrical Separation*, 2001, vol. 10, no. 4, pp. 223–252. <https://doi.org/10.1155/2001/57434>
3. Safarik I., Safarikova M. Magnetic techniques for the isolation and purification of proteins and peptides. *BioMagnetic Research and Technology*, 2004, vol. 2, no. 1, article 7. <https://doi.org/10.1186/1477-044X-2-7>
4. Philippova O., Barabanova A., Molchanov V., Khokhlov A. Magnetic polymer beads: recent trends and developments in synthetic design and applications. *European Polymer Journal*, 2011, vol. 47, no. 4, pp. 542–559. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2010.11.006>
5. Liu J., Zhang Y., Yang T. Ge Y., Zhang S., Chen Z., Ning G. Synthesis, characterization, and application of composite alginate microspheres with magnetic and fluorescent functionalities. *Journal of Applied Polymer Science*, 2009, vol. 113, no. 6, pp. 4042–4051. <https://doi.org/10.1002/app.30487>
6. Brown J.Q., Srivastava R., McShane M.J. Encapsulation of glucose oxidase and an oxygen-quenched fluorophore in polyelectrolyte-coated calcium alginate microspheres as optical glucose sensor systems. *Biosensors and Bioelectronics*, 2005, vol. 21, no. 1, pp. 212–216. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2004.08.020>
7. Ofokansi K. C., Kenekwaku F. C., Isah A. B., Okigbo E. L. Formulation and evaluation of glutaraldehyde-crosslinked chitosan microparticles for the delivery of ibuprofen. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research February*, 2013, vol. 12, no. 1, pp. 19–25. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v12i1.4>
8. Campos E., Coimbra P., Gil M. H. An improved method for preparing glutaraldehyde cross-linked chitosan–poly(vinyl alcohol) microparticles. *Polymer Bulletin*, 2013, vol. 70, no. 2, pp. 549–561. <https://doi.org/10.1007/s00289-012-0853-4>
9. Hermanson G.T. *Bioconjugate techniques*. 2nd ed. Elsevier, 2008. 1202 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370501-3.X0001-X>
10. Mansur H. S., Sadahira C. M., Souza A. N., Mansur A. A. P. FTIR spectroscopy characterization of poly (vinyl alcohol) hydrogel with different hydrolysis degree and chemically crosslinked with glutaraldehyde. *Materials Science and Engineering: C*, 2008, vol. 28 no. 4, pp. 539–548. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2007.10.088>
11. Prosanov I. Yu., Abdulrahman S. T., Thomas S., Bulina N. V., Gerasimov K. B. Complex of polyvinyl alcohol with boric acid: structure and use. *Materials today communications*, 2018, vol. 14, pp. 77–81. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2017.12.012>
12. Jayanudin, Fahrurrozi M., Wirawan S. K., Rochmadi. Characterization and release kinetics of red ginger oleoresin encapsulation based on the effect of glutaraldehyde concentration as crosslinking agent. *Research Journal of Chemistry and Environment*, 2019, vol. 23, no. 3, pp. 15–25.
13. Salmaso S., Caliceti P. Stealth properties to improve therapeutic efficacy of drug nanocarriers. *Journal of Drug Delivery*, 2013, vol. 2013, article 374252. <https://doi.org/10.1155/2013/374252>
14. Dias A. M. G. C., Hussain A., Marcos A. S., Roque A. C. A. A biotechnological perspective on the application of iron oxide magnetic colloids modified with polysaccharides. *Biotechnology Advances*, 2011, vol. 29, no. 1, pp. 142–155. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.10.003>
15. Fauchoux N., Schweiss R., Lutzow K., Werner C., Groth T. Self-assembled monolayers with different terminating groups as model substrates for cell adhesion studie. *Biomaterials*, 2004, vol. 25, no., 14, p. 2721–2730.
16. Laznev K. V., Ignatovich Zh. V., Kukhta I. N., Agabekov V. E. Polyvinyl alcohol magnetic microspheres containing 2-aminopyrimidin-bis(ethene)-bis(dialkylphenylamine) compounds as fluorescent pH indicators. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 563–568 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-563-568>
17. Laznev K. V., Shumskaya Ye.Y., Agabekov V. E. Synthesis and properties of magnetic microspheres based on magnetite and hydrophilic polymers. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*, 2020, vol. 56, no. 2, pp. 135–142 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-2-135-142>
18. Kutuzov M. D., Laznev K. V., Roschina M. U. Influence of emulsification parameters on droplet size and polydispersity of emulsion of high molecular weight chitosan solution. *Molodezh' v nauke–2016: materialy XIII mezhdunar. nauch. konf. molodykh uchennykh* [Youth in Science. Proc. 13th. Int. Conf. of Young Scientists]. Minsk, 2016, vol. 2, pp. 388–393 (in Russian).

19. Laznev K. V., Agabekov V. E. Binding of magnetic gel microspheres to blood mononuclear cells. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2016, vol. 60, no 2, pp. 67–72 (in Russian).

20. *Image J: Image processing and analysis in Java*. Available at: <https://imagej.nih.gov/ij/> (accessed 25 February 2020).

21. Lu D., Burgess D. J., Rhodes D. G. Nonideality in mixed monolayers of sorbitan oleates is enhanced by elevated ionic strength. *Langmuir*, 2000, vol. 16, no. 26, pp. 10329–10333. <https://doi.org/10.1021/la001058u>

22. Cao H., Lu N., Ding B., Qi M. Regulation of charged reverse micelles on particle charging in nonpolar media. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2013, vol. 15, no. 29, pp. 12227–12234. <https://doi.org/10.1039/C3CP51212F>

23. Zhang J., Zhao Y., Li J., Yang G., Han B., Wu Zh., Li Zh. CO<sub>2</sub>-responsive TX-100 emulsion for selective synthesis of 1D or 3D gold. *Soft Matter*, 2010, vol. 6, no. 24, pp. 6200–6205. <https://doi.org/10.1039/c0sm00063a>

### Информация об авторах

*Лазнев Константин Владимирович* – науч. сотрудник. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [kvlaznev@mail.ru](mailto:kvlaznev@mail.ru)

*Агабеков Владимир Енокович* – академик, д-р хим. наук, профессор, директор Института химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [ichnm@ichnm.basnet.by](mailto:ichnm@ichnm.basnet.by)

### Information about the authors

*Konstantin V. Laznev* – Researcher. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skaryna Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [kvlaznev@mail.ru](mailto:kvlaznev@mail.ru)

*Vladimir Ye. Agabekov* – Academician, D. Sc. (Chemistry), Professor, Director of the Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skaryna Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [ichnm@ichnm.basnet.by](mailto:ichnm@ichnm.basnet.by)

ISSN 1561-8331 (Print)  
ISSN 2524-2342 (Online)  
УДК 361.3.06; 621.382  
<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-399-407>

Поступила в редакцию 28.09.2020  
Received 28.09.2020

Е. Е. Шумская<sup>1</sup>, А. А. Рогачев<sup>1</sup>, В. Е. Агабеков<sup>1</sup>, Е. М. Довыденко<sup>1</sup>, А. В. Петкевич<sup>1</sup>,  
И. В. Корольков<sup>2</sup>, А. Л. Козловский<sup>2</sup>, М. В. Здоровец<sup>3</sup>, В. Д. Бундюкова<sup>4</sup>,  
Д. В. Якимчук<sup>4</sup>, Е. Ю. Каниуков<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Институт химии новых материалов Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Астанинский филиал института ядерной физики, Нур-Султан, Казахстан

<sup>3</sup>Евразийский национальный университет им. Л. Н. Гумилева, Нур-Султан, Казахстан

<sup>4</sup>Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по материаловедению,  
Минск, Беларусь

<sup>5</sup>Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Москва, Россия

### НАНОТРУБКИ СО СТРУКТУРОЙ ТИПА «МАГНИТНОЕ ЯДРО–ОБОЛОЧКА ИЗ БЛАГОРОДНОГО МЕТАЛЛА»

**Аннотация.** С использованием простого двухстадийного метода, включающего электрохимический синтез Ni нанотрубок в порах ПЭТФ-мембран и их покрытие золотом или платиной химическим методом, синтезированы нанотрубки со структурой типа «магнитное ядро–оболочка из благородного металла». Морфология покрытия представляет собой тонкие постоянные пленки с наростами различной формы. Рентгеноструктурный анализ выявил отдельные фазы никеля (ядро) и благородного металла (покрытие). Магнитные свойства покрытых нанотрубок существенно не отличаются от свойств исходных нанотрубок. Метод позволяет синтезировать одномерные наноструктуры типа «магнитное ядро–оболочка из благородного металла» для применения при детектировании химических и биологических соединений, в качестве магнитных носителей при доставке лекарств и генов, а также могут быть использованы в качестве многоциклических катализаторов на магнитном носителе.

**Ключевые слова:** шаблонный синтез, нанотрубки, магнитные свойства, плазмонные покрытия, платина, золото

**Для цитирования.** Нанотрубки со структурой типа «магнитное ядро–оболочка из благородного металла» / Е. Е. Шумская [и др.] // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2020. – Т. 56, № 4. – С. 399–407. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-399-407>

Е. Е. Shumskaya<sup>1</sup>, А. А. Rogachev<sup>1</sup>, V. E. Agabekov<sup>1</sup>, E. M. Dovydenko<sup>1</sup>, A. V. Petkevich<sup>1</sup>, I. V. Korolkov<sup>2</sup>,  
A. L. Kozlovskiy<sup>2</sup>, M. V. Zdorovets<sup>3</sup>, V. D. Bundyukova<sup>4</sup>, D. V. Yakimchuk<sup>4</sup>, E. Yu. Kaniukov<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Science of Belarus, Minsk, Belarus

<sup>2</sup>Astana branch of the Institute of Nuclear Physics, Nur-Sultan, Republic of Kazakhstan

<sup>3</sup>L. N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan,

<sup>4</sup>Scientific and Practical Materials Research Center of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

<sup>5</sup>Research Technological University «MISiS», Moscow, Russia

### NANOTUBES WITH A STRUCTURE OF THE «MAGNETIC CORE–NOBLE METAL SHELL» TYPE

**Abstract.** Using a simple two-stage method including the electrochemical synthesis of Ni nanotubes in the pores of PET membranes and their coating with gold or platinum, nanotubes with a structure of the «magnetic core – noble metal shell» type have been synthesized. The morphology of the coating is a thin continuous film with growths of various shapes. X-ray diffraction analysis estimated separate phases of nickel (core) and noble metal (coating). The magnetic properties of coated nanotubes do not differ significantly from the properties of the initial nanotubes. The method allows one to synthesize structures such as one-dimensional nanostructures of the «magnetic core – noble metal shell» type for use in the detection of chemical and biological compounds, as magnetic carriers for the delivery of drugs and genes, which can also be used as multicyclic catalysts on a magnetic carrier.

**Keywords:** template synthesis, nanotubes, magnetic properties, plasmonic coatings, platinum, gold

**For citation.** Shumskaya E. E., Rogachev A. A., Agabekov V. E., Dovydenko E. M., Petkevich A. V., Korolkov I. V., Kozlovskiy A. L., Zdorovets M. V., Bundyukova V. D., Yakimchuk D. V., Kaniukov E. Yu. Nanotubes with a structure of the «magnetic core–noble metal shell» type. *Vestsi Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*, 2020, vol. 56, no. 4, pp. 399–407. (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-399-407>

**Введение.** Металлические наноструктуры (НС) широко изучаются благодаря их уникальным оптическим, электромагнитным и каталитическим свойствам. Большое количество работ посвящено синтезу, определению структурных, электрических и магнитных свойств, созданию сложной структуры массивов нанопроволок (НП) и нанотрубок (НТ) [1], в том числе и многослойных [2, 3], моделированию физических свойств [4], а также использованию одиночных НТ/НП и их массивов для нанoeлектронных устройств [5], для катализа [6], магнитной записи высокой плотности [7] и в биоприложениях [8, 9]. НТ/НП могут быть синтезированы методом шаблонного синтеза, при этом наиболее эффективным способом является электроосаждение, позволяющее контролировать структуру, элементный и фазовый составы путем варьирования условий осаждения [7, 10, 11].

Для использования НС в различных рабочих условиях (широкий диапазон pH, биологические объекты) в качестве оптических элементов, магнитных сенсоров, контрастных жидкостей, систем доставки лекарств и катализаторов [12–15] требуется покрытие, способное защитить НС от деградации. Наиболее химически стойкими и биологически безопасными материалами для покрытий считаются благородные металлы: золото и платина [16, 17], которые могут обеспечить новые полезные свойства и снизить токсикологический эффект металлического ядра. Кроме того, покрытия из благородных металлов позволяют использовать композитные НС для приложений *in vivo* и *in vitro*. Для формирования золотой или платиновой оболочки вокруг металлических НС рассматривают два основных метода: (1) прямое осаждение на поверхность и (2) не прямое осаждение через «медиаторный» слой.

Прямое осаждение благородных металлов можно проводить из водного раствора или из органической фазы. Для золота самым распространенным методом является осаждение Au из хлорида добавлением цитрата натрия [18]. Опосредованный метод имеет поэтапный подход, когда на первом этапе происходит создание «медиаторного» слоя на поверхности магнитных НС, а затем осуществляется осаждение золота на его поверхность. Покрытиям НС платиной в литературе уделено недостаточно внимания. В этом случае обычно рассматривается соосаждение с образованием твердого раствора компонентов [19].

Стоит отметить, что Ni@Au и Ni@Pt НТ за счет своей нетривиальной морфологии, магнитной природы и поверхности из благородного металла могут получить ряд новых интересных направлений для применения в катализе, при детектировании химических и биологических соединений, а также в качестве магнитных носителей при доставке лекарств и генов.

Учитывая недостаточное количество исследований в области получения и исследования НТ со структурой типа «магнитное ядро–оболочка из благородного металла», наша работа посвящена получению Ni@Au и Ni@Pt НТ двухстадийным методом, включающим электроосаждение магнитного металла в поры шаблонов и формирование покрытия из благородного металла, таких как золото и платина, на поверхности высвобожденных из шаблона НТ, а также комплексное исследование их морфологии, структуры, магнитных характеристик.

**Экспериментальная часть.** Синтез НТ «магнитное ядро–оболочка из благородного металла» проводился в две стадии (рис. 1): сначала были синтезированы Ni НТ в порах ионно-трековых мембран электрохимическим методом, а затем на поверхности НТ создавалась оболочка из благородного металла за счет восстановления золота или платины на никеле.

В качестве шаблонов использовали трековые мембраны на основе полиэтилентерефталата (ПЭТФ) толщиной 12 мкм (диаметр пор 380 нм, плотность  $4 \cdot 10^7 \text{ см}^{-2}$ ) [20–23]. Электрохимическое осаждение проводили при напряжении 1,75 В из электролита  $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (100 г/л),  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (45 г/л) при комнатной температуре.

Золотое покрытие на поверхности Ni НТ формировалось осаждением из 0,01 М водного раствора хлорида золота и 1 % плавиковой кислоты [24] при 25 °С в течение 30 с. Платиновое покрытие на поверхности Ni НТ формировалось также осаждением из 0,01 М водного раствора гидрохлорида платины и 1 % плавиковой кислоты при 25 °С в течение 30 с. После реакции образцы промывали 3 раза слабым раствором гидроксида натрия и водой.

Определение структурных параметров проводили с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ, Hitachi TM3030), энергодисперсионного рентгеновского анализа (ЭДА, Bruker

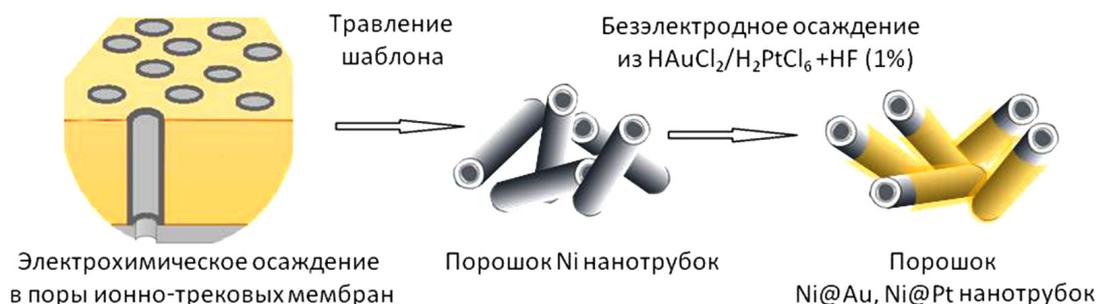


Рис. 1. Схема получения нанотрубок типа «магнитное ядро–оболочка из благородного металла»

Fig. 1. Scheme of the production of the «magnetic core–noble metal shell» type nanotubes

XFlash MIN SVE), рентгеноструктурного анализа (РФА, Bruker D8 ADVANCE) с использованием излучения  $\text{Cu K}_\alpha$ , просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ, JEOL JEM-100). Изучение диаметров пор и внутренних диаметров находящихся в ПЭТФ-шаблонах НТ велось манометрическим методом определения газопроницаемости [20], основанном на измерении изменения давления газа в замкнутой камере при давлении в интервале от 8 до 20 кПа с шагом 4 кПа.

Значения основных магнитных параметров определялись на основании данных вибромагнитометра универсальной измерительной системы «Liquid Helium Free High Field Measurement System (Cryogenic LTD)». Индукционным методом проводились измерения наведенной электродвижущей силы индукции в сигнальных катушках с намагниченным образцом, колеблющимся с определенной частотой в диапазоне магнитного поля  $B = \pm 2$  Тл при комнатной температуре.

**Результаты и их обсуждение.** Синтезированные НС представляют собой полые трубки (вставка к рис. 2, а) длиной  $8 \pm 0,2$  мкм и внешним диаметром, соответствующим диаметру пор  $380 \pm 20$  нм (процесс электроосаждения был остановлен до начала фазы формирования «крышек» [25]). Внутренние диаметры никелевых НТ составляли  $180 \pm 20$  нм, соответствующая толщина стенок – примерно  $95 \pm 20$  нм. Определение элементного состава методом ЭДА показало, что НТ состоят из чистого никеля и не содержат примесей.

Второй этап получения НТ типа «магнитное ядро–оболочка из благородного металла» проводился за счет восстановления благородного металла на поверхности Ni по реакции замещения. Пошаговые механизмы образования наноструктур Au и Pt [26] на поверхности Ni НТ показаны в следующих уравнениях:



Анализ СЭМ-изображений Ni@Au (рис. 2, с) и Ni@Pt НТ (рис. 2, д) указывает на изменение морфологии поверхности НТ после проведения осаждения благородного металла. Видно, что на поверхности в обоих случаях образуется гранулированная пленка, однако провести анализ

размера отдельных гранул не представляется возможным. Уточнение морфологических особенностей поверхности проводилось посредством ПЭМ (рис. 3).

ПЭМ-изображение Ni@Au НТ свидетельствует, что при химическом восстановлении золота на поверхности Ni НТ происходит образование гранулированных наростов сложной геометрии и размерами до 15 нм, которые покрывают всю поверхность тонкой пленкой. Из анализа ПЭМ-изображения Ni@Pt указывает, что образование платинового покрытия происходит с образованием сферических наростов со средними размерами до 100 нм. Структурные параметры исследуемых НТ были вычислены по РФА-спектрам (рис. 2, *d* и 2, *f*) по методике, изложенной в [25], и приведены в таблице.

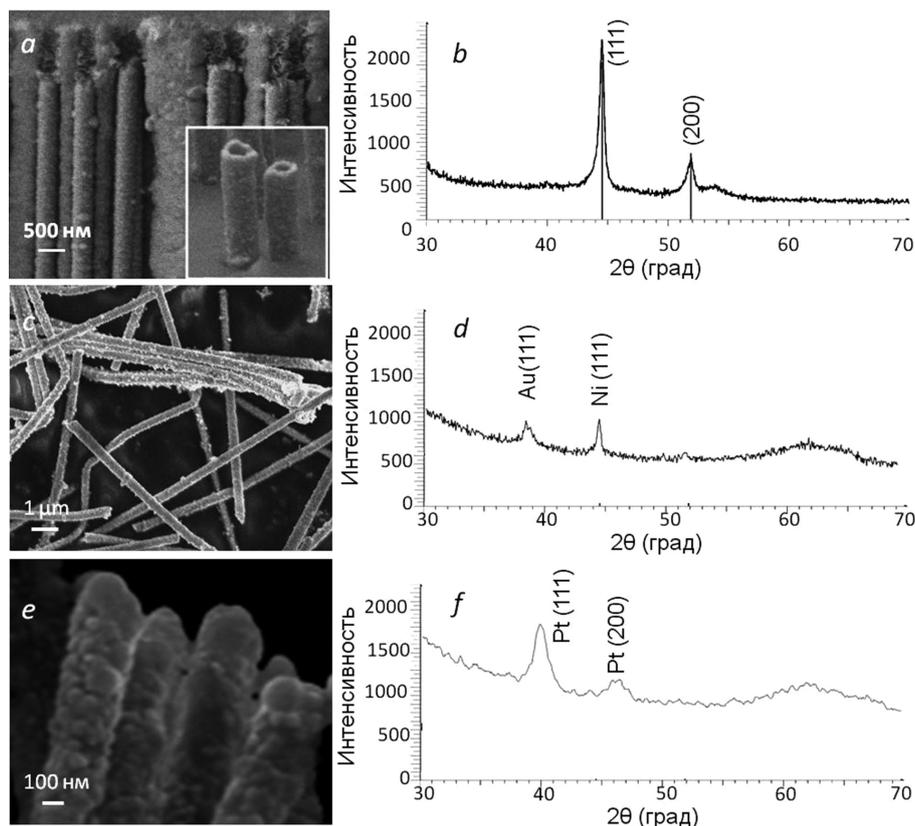


Рис. 2. Типичное СЭМ-изображение массива никелевых нанотрубок в полимерном шаблоне (*a*) и РФА-спектр Ni нанотрубок (*b*), Ni@Au нанотрубки (*c*) и их РФА-спектры: Ni (*b*), Ni@Au (*d*), Ni@Pt (*f*)

Fig. 2. Typical SEM image of an array of nickel nanotubes in a polymer template (*a*) and XRD spectrum of Ni nanotubes (*b*), Ni@Au nanotubes (*c*) and their XRD spectra: Ni (*b*), Ni@Au (*d*), Ni@Pt (*f*)

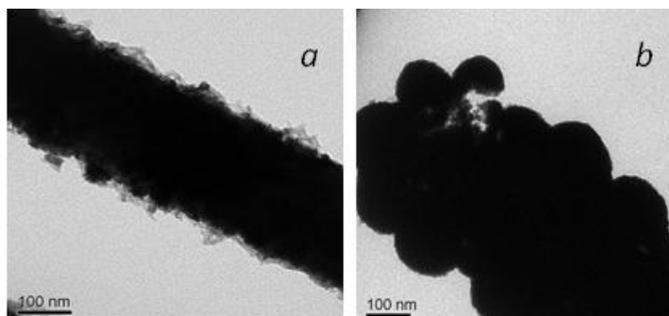


Рис. 3. ПЭМ-изображения Ni@Au (*a*) и Ni@Pt (*b*) нанотрубок

Fig. 3. TEM images of Ni@Au (*a*) and Ni@Pt (*b*) nanotubes

**Структурныя параметры нанотрубок Ni, Ni@Au і Ni@Pt**  
**Structural parameters of Ni, Ni@Au and Ni@Pt nanotubes**

Показатель	Фаза	(hkl)	$2\theta^\circ$	$d, \text{Å}$	$L, \text{нм}$	$a, \text{Å}$	FWHM
Ni	Ni-Cubic Fm-3m(225)	111	44,599	2,03005	17,33	3,51760	0,550
		200	51,827	1,76264	15,61		0,629
		220	76,500	1,24424	17,67		0,636
Ni@Au	Ni-Cubic Fm-3m(225)	111	44,586	2,03061	26,36	3,51980	0,362
	Au-Cubic Fm-3m(225)	111	38,420	2,34109	12,29	4,06261	0,761
Ni@Pt	Ni-Cubic Fm-3m(225)	111	44,599	2,03005	17,33	3,52380	0,550
	Pt-Cubic Fm-3m(225)	111	40,221	2,24036	9,16	3,88868	1,027

Никелевые НТ имеют преимущественное направление роста (111), что также подтверждается большим соотношением пиков (111) на рентгеновских дифракционных спектрах. На рентгенограмме, записанной при углах дифракции  $2\theta < 35^\circ$  и  $2\theta = 53^\circ$ , присутствуют пики, характерные для пленки ПЭТФ [27]. На рентгенограмме присутствуют уширенные пики, характерные для дифракции наноразмерных объектов. Исследования рентгеновских спектров показывают, что НТ имеют гранецентрированную кубическую (ГЦК) структуру. Параметр решетки  $a$  составляет  $3,5176 \pm 0,0007 \text{ Å}$ , а средний размер кристаллитов –  $17,5 \pm 1,1 \text{ нм}$ .

У Ni@Au НТ на дифрактограмме образцов наблюдаются малоинтенсивные пики, характерные для фазы ГЦК-Ni с параметром элементарной ячейки  $a = 3,5198 \text{ Å}$  и фазы ГЦК-Au с параметром  $a = 4,0626 \text{ Å}$ , отличным от эталонного значения ( $a = 4,0780 \text{ Å}$ ) (PDF # 040784). Ni@Pt НТ имеют ГЦК-фазу Ni с параметром элементарной ячейки  $a = 3,52380 \text{ Å}$  и фазы ГЦК-Pt с параметром  $a = 3,88868 \text{ Å}$ , отличным от эталонного значения ( $a = 3,92400 \text{ Å}$ ) (PDF # 03-065-2868). Для определения равномерности покрытия было проведено ЭДА-картирование поверхности Ni@Au и Ni@Pt НТ (рис. 4).

Результаты ЭДА-картирования показали, что атомное содержание Au и Ni в структуре составляет 18 и 82 % соответственно; атомное содержание Pt и Ni в структуре – 46 и 54 % соответственно. Прочие элементы на ЭДА-спектрах наблюдались в следовых количествах. Отсутствие солей и включений также подтверждается методом рентгеноструктурного анализа (рис. 2,  $d$  и  $f$ ).

Основные магнитные параметры и их изменения в результате нанесения покрытий из благородных металлов определялись посредством анализа петлей гистерезиса для выделенных при

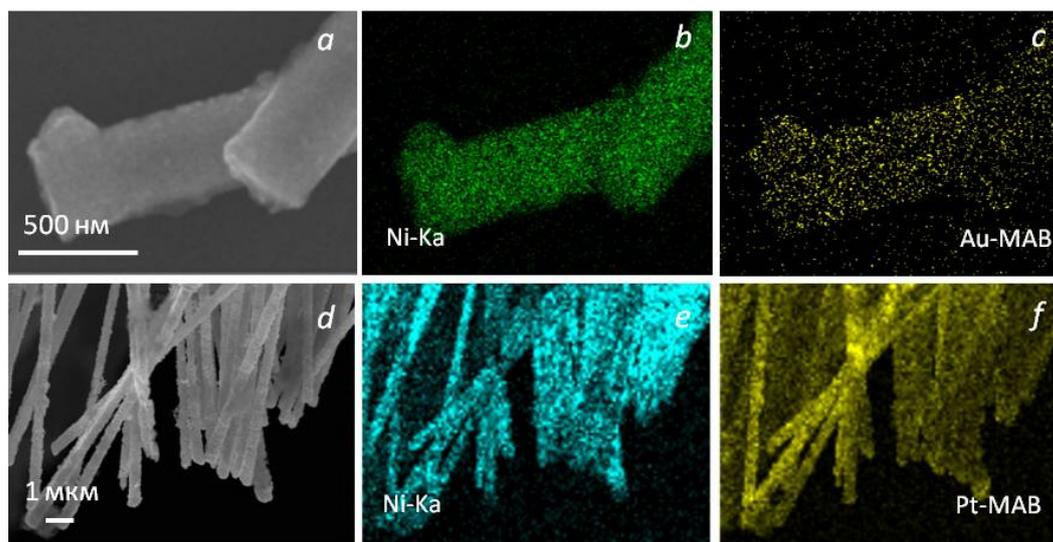


Рис. 4. СЭМ-изображения Ni@Au (a) и Ni@Pt нанотрубок (d); ЭДА-карты в режиме детектирования никеля (b, e), золота (c) и платины (f)

Fig. 4. SEM images of Ni@Au (a) and Ni@Pt nanotubes (d); EDA mapping in the mode of nickel (b, e), gold (c) and platinum (f) detecting

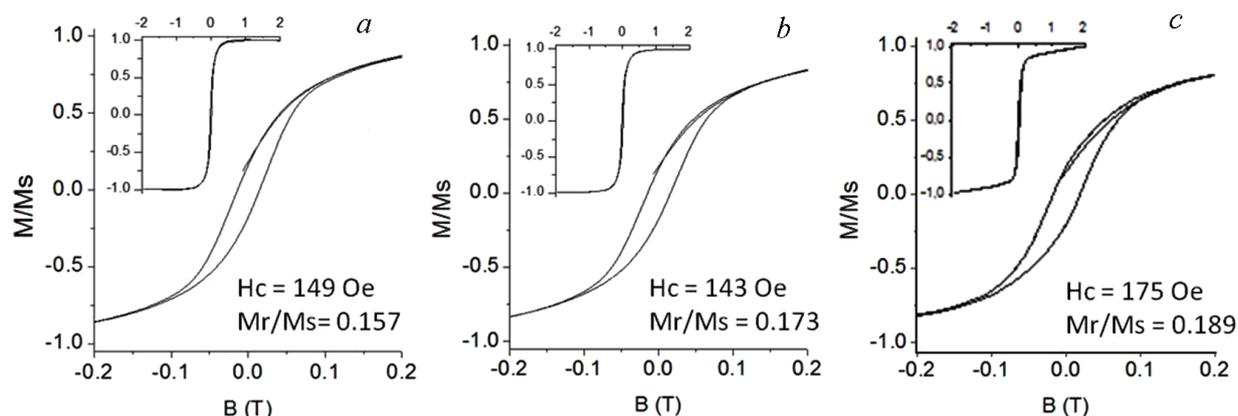


Рис. 5. Петли гистерезиса нанотрубок Ni (a), Ni@Au (b) и Ni@Pt (c) в виде порошка

Fig. 5. Hysteresis loops of Ni (a), Ni@Au (b), and Ni@Pt (c) nanotubes in the form of a powder

страивании полимерной мембраны порошков Ni, Ni@Au и Ni@Pt НТ. Петли гистерезиса приведены на рис. 5.

Петли гистерезиса характерны для ферромагнитных материалов и хорошо согласуются с ранее полученными результатами [17]. Магнитные свойства – коэрцитивность и квадратичность петель гистерезиса для образцов НТ Ni и Ni@Au, Ni@Pt несколько различаются. И если петли для чистых Ni НТ и НТ, покрытых золотом, практически идентичны, незначительно отличаясь только в значении квадратичности (рис. 5, a и b и значения на них), то для покрытых платиной НТ наблюдается значительный парамагнитный вклад (вставка к рис. 5, c). Отличие в поведении магнитных петель Ni@Pt НТ от других объектов исследования связано с большим количеством парамагнитной платины, количество которой достигает 46 %, согласно ЭДА-исследованиям. Более интересным видится увеличение коэрцитивности Ni@Pt НТ относительно чистых Ni НТ. Такое изменение может быть связано как с образованием интерметаллических соединений  $Ni_xPt_{1-x}$  на интерфейсе никелевая НТ-платиновое покрытие, так и с изменением магнитного состояния поверхности Ni за счет покрытия их платиной.

**Заключение.** Магнитные нанотрубки типа «ядро–оболочка» длиной  $8 \pm 0,2$  мкм и диаметром  $380 \pm 20$  нм были синтезированы простым двухстадийным методом, включающим электрохимическое осаждение нанотрубок Ni в порах ионно-трековых шаблонов и их покрытие слоем наноструктурированного золота или платины посредством восстановления благородного металла на поверхности никеля. Порошки никелевых, позолоченных и покрытых платиной нанотрубок были охарактеризованы методами СЭМ, ПЭМ, ЭДА, РФА и вибрационной магнитометрии. Показано, что слой золота представляет собой плотно осажденные наночастицы золота в кристаллической форме со сформированными неровностями на поверхности Ni с характеристическими размерами до 15 нм. Слой платины состоит из полусферических наростов кристаллической платины размерами до 100 нм, образующих плотный слой по всей поверхности нанотрубки. Магнитное поведение полученных наноструктур типа «магнитное ядро–оболочка» имеет схожий с исходными нанотрубками характер. Некоторое различие в магнитных характеристиках обуславливается наличием парамагнитного покрытия на поверхности никелевых наноструктур. Полученные нанотрубки со структурой типа «магнитное ядро–оболочка из благородного металла» имеют потенциал для применения при детектировании химических и биологических соединений, в качестве магнитных носителей при доставке лекарств и генов, а также могут быть использованы в качестве многоциклических катализаторов на магнитном носителе.

#### Список использованных источников

1. Ferromagnetic Nanotubes in Pores of Track Membranes for the Flexible Electronic Elements / E. Y. Kaniukov [et al.] // Devices Methods Meas. – 2017. – Vol. 8, N. 3. – P. 214–221. <https://doi.org/10.21122/2220-9506-2017-8-3-214-221>
2. Magnetostrictive Fe-Ga Nanowires for actuation and sensing applications / A. B. Flatau [et al.]. – Elsevier Ltd., 2020. – P. 737–776. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102832-2.00025-6>

3. Microscopy investigation of conical and layered nanowires / D. Cherkasov [et al.] // IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng. – 2019. – Vol. 699. – P. 012005. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/699/1/012005>.
4. Signal Enhancement for Ferromagnetic Resonance Measurement of Magnetic Nanowire array / Y. Zhang [et al.] // 2019 IEEE International Symposium on Antennas and Propagation and USNC-URSI Radio Science Meeting. – 2019. – P. 1305–1306. <https://doi.org/10.1109/apusncursinrsm.2019.8889102>.
5. Guo, C. F. Flexible transparent conductors based on metal nanowire networks / C. F. Guo, Z. Ren // Mater. Today. – 2014. – Vol. 18, N. 3. – P. 143–154. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2014.08.018>
6. Smart Nanotubes for Bioseparations and Biocatalysis / D. T. Mitchell [et al.] // J. Am. Chem. Soc. – 2002. – Vol. 124, N. 40. – P. 11864–11865. <https://doi.org/10.1021/ja027247b>
7. Towards smooth and pure iron nanowires grown by electrodeposition in self-organized alumina membranes / V. Haehnel [et al.] // Acta Mater. – 2010. – Vol. 58, N. 7. – P. 2330–2337. <https://doi.org/10.1016/j.actamat.2009.12.019>
8. Salem, A. K. Multifunctional nanorods for gene delivery / A. K. Salem, P. C. Searson, K. W. Leong // Nat. Mater. – 2003. – Vol. 2, N. 10. – P. 668–671. <https://doi.org/10.1038/nmat974>
9. Template synthesized nanotubes for biomedical delivery applications / H. Hillebrenner [et al.] // Nanomedicine (Lond). – 2006. – Vol. 1, N. 1. – P. 39–50. <https://doi.org/10.2217/17435889.1.1.39>.
10. Magnetic properties of Co nanopillar arrays prepared from alumina templates. / L. G. Vivas [et al.] // Nanotechnology. – 2013. – Vol. 24, N. 10. – P. 105703. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/24/10/105703>
11. Nanomaterials: A membrane-based synthetic approach / C. R. Martin // Science. – 1994. – Vol. 266, N. 5193. – P. 1961–1966. <https://doi.org/10.1126/science.266.5193.1961>
12. Zhao, X. Recent progress in hydrogen storage alloys for nickel/metal hydride secondary batteries / X. Zhao, L. Ma // Int. J. Hydrogen Energy. – 2009. – Vol. 34, N. 11. – P. 4788–4796. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.03.023>
13. Murphy, J. J. Organic chemistry: Light opens pathways for nickel catalysis / J. J. Murphy, P. Melchiorre // Nature. – 2015. – Vol. 524, N. 7565. – P. 297–298. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2018.09.010>
14. Effectiveness of the magnetostatic shielding by the cylindrical shells / S. S. Grabchikov [et al.] // J. Magn. Magn. Mater. – 2016. – Vol. 398. – P. 49–53. <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2015.08.122>
15. Targeted cargo delivery using a rotating nickel nanowire / L. Zhang [et al.] // Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med. – 2012. – Vol. 8, N. 7. – P. 1074–1080. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2012.03.002>
16. Gold coated magnetic nanoparticles: From preparation to surface modification for analytical and biomedical applications / S. Moraes Silva [et al.] // Chem. Commun. – 2016. – Vol. 52, N. 48. – P. 7528–7540. <https://doi.org/10.1039/c6cc03225g>
17. Evolution of morphology, structure, and magnetic parameters of Ni nanotubes with growth in pores of a PET template / A. Shumskaya [et al.] // J. Magn. Magn. Mater. – 2020. – Vol. 497. – P. 165913. <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2019.165913>
18. Gold-Coated Iron Oxide Nanoparticles as a contrast Agent in Magnetic Resonance Imaging / T. Ahmad [et al.] // J. Nanosci. Nanotechnol. – 2012. – Vol. 12, N. 7. – P. 5132–5137. <https://doi.org/10.1166/jnn.2012.6368>
19. Differential Surface Elemental Distribution Leads to Significantly Enhanced Stability of PtNi-Based ORR Catalysts / L. Cao [et al.] // Matter. – 2019. – Vol. 1, N. 6. – P. 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.matt.2019.07.015>
20. Evolution of the polyethylene terephthalate track membranes parameters at the etching process / E. Y. Kaniukov [et al.] // J. Contemp. Phys. (Armenian Acad. Sci). – 2017. – Vol. 52, N. 2. – P. 155–160. <https://doi.org/10.3103/S1068337217020098>
21. Применение трековых мембран в процессах прямого и обратного осмоса / А. Л. Козловский [и др.] // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. фіз.-тэхн. навук. – 2017. – № 1. – P. 45–51.
22. Enhancing hydrophilicity and water permeability of PET track-etched membranes by advanced oxidation process / I. V. Korolkov [et al.] // Nucl. Instruments Methods Phys. Res. B. – 2015. – Vol. 365. – P. 651–655. <https://doi.org/10.1016/j.nimb.2015.10.031>
23. Radiation induced deposition of copper nanoparticles inside the nanochannels of poly(acrylic acid)-grafted poly(ethylene terephthalate) track-etched membranes / I. V. Korolkov [et al.] // Radiat. Phys. Chem. – 2017. – Vol. 130. – P. 480–487. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2016.10.006>
24. Gold nanoflowers grown in a porous Si / SiO<sub>2</sub> matrix: the fabrication process and plasmonic properties / L. A. Osminikina [et al.] // Appl. Surf. Sci. – 2019. – Vol. 507. – P. 144989. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.144989>
25. Correlation between structural and magnetic properties of FeNi nanotubes with different lengths / A. E. Shumskaya [et al.] // J. Alloys Compd. – 2019. – Vol. 810. – P. 151874. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2019.151874>
26. Electrochemistry Communications Conformal deposition of Pt on titania nanotubes to produce a bio-electrode for neuro-stimulating applications / Y. Wu [et al.] // Electrochem. commun. – 2018. – Vol. 88. – P. 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2018.01.019>
27. Tunable synthesis of copper nanotubes / E. Kaniukov [et al.] // IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng. – 2016. – Vol. 110. – P. 012013. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/110/1/012013>

## References

1. Kaniukov E. Y., Shumskaya E. E., Kutuzau M. D., Borgekov D. B., Kenzhina I. E., Kozlovskiy A. L., Zdorovets M. V. Ferromagnetic Nanotubes in Pores of Track Membranes for the Flexible Electronic Elements. *Devices and Methods of Measurements*, 2017, vol. 8, no. 3, pp. 214–221. <https://doi.org/10.21122/2220-9506-2017-8-3-214-221>
2. Flatau A. B., Stadler B. J. H., Park J., Sai K., Reddy M., Downey P. R., Mudivarthi C., Order M. Van. *Magnetostrictive Fe-Ga Nanowires for actuation and sensing applications*, 2nd ed. Elsevier Ltd., 2020, pp. 737–776. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102832-2.00025-6>

3. Cherkasov D., Panov D., Doludenko I., Kanevskiy V., Muslimov A., Zagorskiy D., Biziaev D., Bukharaev A. Microscopy investigation of conical and layered nanowires. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 2019, vol. 699, p. 012005. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/699/1/012005>
4. Zhang Y., Um J., Stadler B., Franklin R. Signal Enhancement for Ferromagnetic Resonance Measurement of Magnetic Nanowire array. *2019 IEEE International Symposium on Antennas and Propagation and USNC-URSI Radio Science Meeting*, 2019, pp. 1305–1306. <https://doi.org/10.1109/apusncursinrsm.2019.8889102>
5. Guo C. F., Ren Z. Flexible transparent conductors based on metal nanowire networks. *Materials Today*, 2014, vol. 18, no. 3, pp. 143–154. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2014.08.018>
6. Mitchell D. T., Lee S. B., Trofin L., Li N., Nevanen T. K., Söderlund H., Martin C. R. Smart Nanotubes for Bioseparations and Biocatalysis. *Journal of the American Chemical Society*, 2002, vol. 124, no. 40, pp. 11864–11865. <https://doi.org/10.1021/ja027247b>
7. Haehnel V., Fähler S., Schaaf P., Miglierini M., Mickel C., Schultz L. and Schlörb H. Towards smooth and pure iron nanowires grown by electrodeposition in self-organized alumina membranes. *Acta Materialia*, 2010, vol. 58, no. 7, pp. 2330–2337. <https://doi.org/10.1016/j.actamat.2009.12.019>
8. Salem A. K., Searson P. C., Leong K. W. Multifunctional nanorods for gene delivery. *Nature Materials*, 2003, vol. 2, no. 10, pp. 668–671. <https://doi.org/10.1038/nmat974>
9. Hillebrenner H., Buyukserin F., Stewart J. D., Martin C. R. Template synthesized nanotubes for biomedical delivery applications. *Nanomedicine (Lond)*, 2006, vol. 1, no. 1, pp. 39–50. <https://doi.org/10.2217/17435889.1.1.39>
10. Vivas L. G., Ivanov Y. P., Trabada D. G., Proenca M. P., Chubykalo-Fesenko O., Vázquez M. Magnetic properties of Co nanopillar arrays prepared from alumina templates. *Nanotechnology*, 2013, vol. 24, no. 10, p. 105703. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/24/10/105703>
11. Martin C. R. Nanomaterials: A membrane-based synthetic approach. *Science*, 1994, vol. 266, no. 5193, pp. 1961–1966. <https://doi.org/10.1126/science.266.5193.196112>
12. Zhao X., Ma L. Recent progress in hydrogen storage alloys for nickel/metal hydride secondary batteries. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2009, vol. 34, no. 11, pp. 4788–4796. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.03.023>
13. Murphy J. J. and Melchiorre P. Organic chemistry: Light opens pathways for nickel catalysis. *Nature*, 2015, vol. 524, no. 7565, pp. 297–298. <https://doi.org/10.1038/nature15200>
14. Grabchikov S. S., Trukhanov A. V., Trukhanov S. V., Kazakevich I. S., Solobay A. A., Erofeenko V. T., Vasilenkov N. A., Volkova O. S., Shakin A. Effectiveness of the magnetostatic shielding by the cylindrical shells. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2016, vol. 398, pp. 49–53. <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2015.08.122>
15. Zhang L., Petit T., Peyer K. E., Nelson B. J. Targeted cargo delivery using a rotating nickel nanowire. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2012, vol. 8, no. 7, pp. 1074–1080. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2012.03.002>
16. Moraes Silva S., Tavallaie R., Sandiford L., Tilley R. D., Gooding J. J. Gold coated magnetic nanoparticles: From preparation to surface modification for analytical and biomedical applications. *Chemical Communications*, 2016, vol. 52, no. 48, pp. 7528–7540. <https://doi.org/10.1039/c6cc03225g>
17. Shumskaya A., Bundyukova V., Kozlovskiy A., Zdorovets M., Kadyrzhanov K., Kalkabay G., Kaniukov E. Evolution of morphology, structure, and magnetic parameters of Ni nanotubes with growth in pores of a PET template. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2020, vol. 497, p. 165913. <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2019.165913>
18. Ahmad T., Bae H., Rhee I., Chang Y., Jin S.-U., Hong S. Gold-Coated Iron Oxide Nanoparticles as a contrast Agent in Magnetic Resonance Imaging. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2012, vol. 12, no. 7, pp. 5132–5137. <https://doi.org/10.1166/jnn.2012.6368>
19. Cao L., Zhao Z., Cao L., Zhao Z., Liu Z., Gao W., Dai S., Gha J., Xue W. Differential Surface Elemental Distribution Leads to Significantly Enhanced Stability of PtNi-Based ORR Catalysts. *Matter*, 2019, vol. 1, no. 6, pp. 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.matt.2019.07.015>
20. Kaniukov E. Y., Shumskaya E. E., Yakimchuk D. V., Kozlovskiy A. L., Ibragimova M. A., Zdorovets M. V. Evolution of the polyethylene terephthalate track membranes parameters at the etching process. *Journal of Contemporary Physics (Armenian Academy of Sciences)*, 2017, vol. 52, no. 2, pp. 155–160. <https://doi.org/10.3103/S1068337217020098>
21. Kozlovskii A., Borgekov K., Zdorovets M., Arkhangelsky E., Shumskaya A., Kanukov E. Application of track membranes in processes of direct and reverse osmosis. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya fizika-technichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Physical-technical series*, 2017, no. 1, pp. 45–51 (in Russian).
22. Korolkov I. V., Mashentseva A. A., Güven O., Zdorovets M. V., Taltenov A. A. Enhancing hydrophilicity and water permeability of PET track-etched membranes by advanced oxidation process. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 2015, vol. 365, pp. 651–655. <https://doi.org/10.1016/j.nimb.2015.10.031>
23. Korolkov I. V., Güven O., Mashentseva A. A., Atıcı A. B., Gorin Y. G., Zdorovets M. V., Taltenov A. A. Radiation induced deposition of copper nanoparticles inside the nanochannels of poly(acrylic acid)-grafted poly(ethylene terephthalate) track-etched membranes. *Radiation Physics and Chemistry*, 2017, vol. 130, pp. 480–487. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2016.10.006>
24. Osminkina L. A., Žukovskaja O., Agafilushkina S. N., Stranik O., Gonchar K. A., Yakimchuk D., Chermoshentsev D. A., Dyakov S. A., Nikolay A., Weber K., Popp J., May D. C. and Sivakov V. Gold nanoflowers grown in a porous Si / SiO<sub>2</sub> matrix: the fabrication process and plasmonic properties. *Applied Surface Science*, 2019, vol. 507, p. 144989. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.144989>

25. Shumskaya A. E., Kozlovskiy A. L., Zdorovets M. V., Evstigneeva S. A., Trukhanov A. V., Trukhanov S. V., Vinnik D. A., Kaniukov E. Y., Panina L. V. Correlation between structural and magnetic properties of FeNi nanotubes with different lengths. *Journal of Alloys and Compounds*, 2019, vol. 810, p. 151874. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2019.151874>

26. Wu Y., Chung T., Huang J., Wu P., Chen P., Lee J., Chan T. Electrochemistry Communications Conformal deposition of Pt on titania nanotubes to produce a bio-electrode for neuro-stimulating applications. *Electrochemistry Communications*, 2018, vol. 88, pp. 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2018.01.019>

27. Kaniukov E., Kozlovsky A., Shlimas D., Yakimchuk D., Zdorovets M., Kadyrzhanov K. Tunable synthesis of copper nanotubes. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 2016, vol. 110, p. 012013. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/110/1/012013>

### Информация об авторах

*Шумская Елена Евгеньевна* – науч. сотрудник. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [Lunka7@mail.ru](mailto:Lunka7@mail.ru)

*Рогачев Александр Александрович* – д-р техн. наук, профессор, директор Института химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [rogachev78@mail.ru](mailto:rogachev78@mail.ru)

*Агабеков Владимир Енокович* – академик, д-р хим. наук, профессор. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [agabekov@ichnm.by](mailto:agabekov@ichnm.by)

*Довыденко Егор Михайлович* – мл. науч. сотрудник. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [dovydenko.e93@mail.ru](mailto:dovydenko.e93@mail.ru)

*Петкевич Анна Васильевна* – мл. науч. сотрудник. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [m\\_a\\_w1987@mail.ru](mailto:m_a_w1987@mail.ru)

*Корольков Илья Владимирович* – канд. техн. наук, зав. лаб. Астанинский филиал Институт ядерной физики (пр. Абылай хана, 2/1, 010008, Астана, Республика Казахстан). E-mail: [korolkovelf@gmail.com](mailto:korolkovelf@gmail.com)

*Козловский Артем Леонидович* – канд. техн. наук, зав. лаб. Астанинский филиал Институт ядерной физики (пр. Абылай хана, 2/1, 010008, Астана, Республика Казахстан). E-mail: [artem88sddt@mail.ru](mailto:artem88sddt@mail.ru)

*Здоровец Максим Викторович* – канд. физ.-мат. наук, руководитель лаб. инженерного профиля, Евразийский национальный университет им. Л. Н. Гумилева (пр. Абылай хана, 2/1, 010008, Астана, Республика Казахстан). E-mail: [mzdorovets@gmail.com](mailto:mzdorovets@gmail.com)

*Бундюкова Виктория Дмитриевна* – мл. науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [victoria.bundyukova@gmail.com](mailto:victoria.bundyukova@gmail.com)

*Якимчук Дмитрий Владимирович* – ст. науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [dim2yakim@gmail.com](mailto:dim2yakim@gmail.com)

*Канюков Егор Юрьевич* – ст. науч. сотрудник. Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС» (Ленинский пр-т, 4, 119049, Москва, Российская Федерация). E-mail: [ka.egor@mail.ru](mailto:ka.egor@mail.ru)

### Information about of authors

*Alena E. Shumskaya* – Researcher. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Science of Belarus (36, F. Skoryna Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [Lunka7@mail.ru](mailto:Lunka7@mail.ru)

*Alexandr A. Rogachev* – D. Sc. (Engineering), Professor, Director of The Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Science of Belarus (36, F. Skoryna Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [rogachev78@mail.ru](mailto:rogachev78@mail.ru)

*Vladimir E. Agabekov* – Academician, D. Sc. (Chemistry), Professor. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Science of Belarus (36, F. Skoryna Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [agabekov@ichnm.by](mailto:agabekov@ichnm.by)

*Egor M. Dovydenko* – Junior Researcher. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Science of Belarus (36, F. Skoryna Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [dovydenko.e93@mail.ru](mailto:dovydenko.e93@mail.ru)

*Anna V. Petkevich* – Junior Researcher. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Science of Belarus (36, F. Skoryna Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [m\\_a\\_w1987@mail.ru](mailto:m_a_w1987@mail.ru)

*Ilya V. Korolkov* – Ph. D. (Engineering), Head of the Laboratory. Astana branch of the Institute of Nuclear Physics (2/1, Abylaikhan Ave., 010008, Astana, Republic of Kazakhstan). E-mail: [korolkovelf@gmail.com](mailto:korolkovelf@gmail.com)

*Artem L. Kozlovskiy* – Ph. D. (Engineering), Acting Head of the Laboratory. Astana branch of the Institute of Nuclear Physics (2/1, Abylaikhan Ave., 010008, Astana, Republic of Kazakhstan). E-mail: [artem88sddt@mail.ru](mailto:artem88sddt@mail.ru)

*Maxim V. Zdorovets* – Ph. D. (Physics and Mathematics), Head of the Laboratory, L. N. Gumilyov Eurasian National University (2/1, Abylaikhan Ave., 010008, Astana, Republic of Kazakhstan). E-mail: [mzdorovets@gmail.com](mailto:mzdorovets@gmail.com)

*Victoria D. Bundyukova* – Junior Researcher, Scientific and Practical Materials Research Center of the National Academy of Sciences of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [victoria.bundyukova@gmail.com](mailto:victoria.bundyukova@gmail.com)

*Dmitry V. Yakimchuk* – Leading Researcher, Scientific and Practical Materials Research Center of the National Academy of Sciences of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [dim2yakim@gmail.com](mailto:dim2yakim@gmail.com)

*Egor Yu. Kaniukov* – Senior Researcher, National Research Technological University «MISiS» (4, Leninsky Prospect, 119049, Moscow, Russian Federation). E-mail: [ka.egor@mail.ru](mailto:ka.egor@mail.ru)

**НЕОРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ**  
**INORGANIC CHEMISTRY**УДК 546.47+546.56-121+546.562+564.742+546.571+546.722+546.812  
<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-408-418>Поступила в редакцию 21.07.2020  
Received 21.07.2020**Т. Н. Воробьева<sup>1</sup>, О. Н. Врублевская<sup>2</sup>, А. А. Кудак<sup>1</sup>, М. Г. Галуза<sup>2</sup>, А. В. Кобец<sup>2</sup>,  
А. А. Петрова<sup>1</sup>, Г. Аль-Нахар<sup>1</sup>**<sup>1</sup>*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*<sup>2</sup>*НИИ физико-химических проблем Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь***ПОЛУЧЕНИЕ ПОРОШКОВЫХ СПЛАВОВ СО СТРУКТУРОЙ ЧАСТИЦ  
ЯДРО–ОБОЛОЧКА БЕЗЭЛЕКТРОЛИЗНЫМ ОСАЖДЕНИЕМ ИЗ РАСТВОРОВ**

**Аннотация.** Разработаны методы получения порошков двойных и тройных сплавов металлов (Cu–Sn, Cu–Zn, Ni–Cu–Zn, Ni–Sn–Zn, Cu–Fe, Ni–Cu–Fe, Ni–Cu, Ni–Cu–Al) со структурой частиц ядро–оболочка с использованием процессов либо контактного вытеснения (КВ) из растворов ионов меди, никеля, олова порошками олова, цинка, железа, либо химического осаждения (ХО) никеля из гипофосфитных растворов на смеси порошков меди и алюминия. Для каждой из изученных систем выявлены возможные соотношения металлов в порошковых продуктах. Определено, что долю металлов в порошках можно регулировать, варьируя длительность КВ или ХО, соотношение количеств реагентов, pH и концентрацию растворов. Выявлена возможность совместного восстановления ионов никеля(II) и олова(II) порошком цинка или меди(II) и никеля(II) порошком железа с образованием тройных сплавов. Показано, что при протекании КВ происходит низкотемпературное образование интерметаллических фаз (системы Cu–Sn, Ni–Sn–Zn) и твердых растворов (системы Ni–Cu–Zn, Cu–Fe, Ni–Cu–Fe). В процессе ХО никеля из растворов частицы исходных порошков покрываются рыхлыми или более-менее герметичными оболочками. При КВ в зависимости от природы металлов и длительности процесса образуются сферические частицы, компактные агрегаты в форме розеток или дендриты. Порошки, получаемые методами КВ и ХО, могут быть использованы для изготовления изделий конструкционного и инструментального (Cu–Sn, Cu–Zn, Ni–Cu–Zn, Ni–Sn–Zn, Cu–Fe, Ni–Cu, Ni–Cu–Al), антифрикционного (Ni–Cu–Fe, Ni–Cu) и электротехнического (Ni–Cu, Ni–Cu–Zn) назначения, а также в качестве твердых припоев (Cu–Zn, Ni–Sn–Zn).

**Ключевые слова:** контактное вытеснение, химическое осаждение, порошок, сплав, порошковая металлургия**Для цитирования.** Получение порошковых сплавов со структурой частиц ядро–оболочка безэлектролизным осаждением из растворов / Т. Н. Воробьева [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. хим. наук. – 2020. – Т. 56, № 4. – С. 408–418. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-408-418>**T. N. Vorobyova<sup>1</sup>, O. N. Vrublevskaya<sup>2</sup>, A. A. Kudaka<sup>1</sup>, M. G. Galuza<sup>2</sup>, A. V. Kobets<sup>2</sup>, A. A. Petrova<sup>1</sup>, G. Al-Nakhar<sup>1</sup>**<sup>1</sup>*Belarusian State University, Minsk, Belarus*<sup>2</sup>*Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University, Minsk, Belarus***ELECTROLESS DEPOSITION OF POWDERY ALLOYS WITH CORE–SHELL PARTICLES STRUCTURE  
FROM SOLUTIONS**

**Abstract.** Methods of binary and ternary powdery alloys (Cu–Sn, Cu–Zn, Ni–Cu–Zn, Ni–Sn–Zn, Cu–Fe, Ni–Cu–Fe, Ni–Cu, Ni–Cu–Al) preparation with core–shell particles structure have been developed using the processes either of copper, nickel, tin ions cementation from solutions with tin, zinc, iron powders or nickel chemical deposition from hypophosphite solutions on the mixtures of copper and aluminum powders. Metals quota in the powdery products can be controlled by varying the duration of cementation or chemical deposition, the ratio of reagents quantities, pH and concentration of solutions. The possibility of simultaneous reduction of nickel(II) and tin(II) ions with zinc powder or copper(II) and nickel(II) ions with iron powder with the formation of ternary alloys has been revealed. Low-temperature formation of intermetallic phases in Cu–Sn, Ni–Sn–Zn systems and solid solutions in Ni–Cu–Zn, Cu–Fe, Ni–Cu–Fe systems has been shown to occur during the cementation. The particles of the initial powders (Al, Cu) are coated with loose and more or less sealed shells during nickel chemical reduction from solutions. Spherical particles, flower-type compact aggregates or dendrites, depending on the nature of metals and processes duration, are formed during the cementation. The powders obtained by cementation and

chemical deposition from solutions can be used in the manufacture of products for structural and instrumental (Cu–Sn, Cu–Zn, Ni–Cu–Zn, Ni–Sn–Zn, Cu–Fe, Ni–Cu, Ni–Cu–Al), antifriction (Ni–Cu–Fe, Ni–Cu) and electrical (Ni–Cu, Ni–Cu–Zn) applications, as well as solders (Cu–Zn, Ni–Sn–Zn).

**Keywords:** cementation, chemical deposition, powder, alloy, powder metallurgy

**For citation.** Vorobyova T. N., Vrublevskaya O. N., Kudaka A. A., Galuza M. G., Kobets A. V., Petrova A. A., Al-Nakhar G. Electroless deposition of powdery alloys with core–shell particles structure from solutions. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*, 2020, vol. 56, no. 4, pp. 408–418 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-408-418>

**Введение.** Порошковая металлургия (ПМ) – область науки и техники, охватывающая методы изготовления порошков металлов, сплавов, композиционных материалов и изделий из них без операций расплавления. При производстве изделий методами ПМ порошок металла или смесь порошков металлов и неметаллов помещают в форму, прессуют и спекают при температурах существенно ниже температур плавления основных компонентов. Эти методы обеспечивают получение изделий сложной формы с точными требуемыми размерами. В сравнении с металлургическими технологиями методы ПМ менее энерго- и материалозатратны, позволяют исключить операции механических обработок готовых изделий и соответственно потери металлов при этих обработках. Более того, методами ПМ производят пористые проницаемые материалы для фильтров, самосмазывающиеся антифрикционные изделия, изделия из тугоплавких металлов, сплавов и их композитов с неметаллами, которые крайне трудно или невозможно изготовить традиционными методами [1–5].

Порошковые материалы в зависимости от их состава применяют для изготовления изделий различного назначения [1, 2, 4]. Так, изделия конструкционного и инструментального назначения изготавливают либо из порошковых сталей, в состав которых наряду с железом входят добавки углерода и меди, либо из порошковых бронз или латуней, включающих помимо меди около 10 мас.% олова или 30 мас.% цинка, а также сплавы алюминия, меди, магния, титана и др. Эти порошки используют в станкостроении (зубчатые колеса, шатуны двигателей), приборостроении и автомобилестроении (дверные замки, фильтры, втулки, дверные электромоторы, режущие и электроинструменты), изготовлении предметов медицинского назначения (хирургические инструменты, имплантаты), бытовой техники и др. [4, 6].

Для продукции антифрикционного назначения востребованы порошки меди с добавками графита (до 5 мас.%), олова (до 10 мас.%) или же порошки железа (45–65 мас.%) с добавками меди (10–25 мас.%), иногда (до нескольких процентов) – олова и/или никеля. Из таких порошков изготавливают фрикционные диски, предохранительные муфты, подшипники скольжения, узлы трения, поршни, тормоза и другие изделия триботехники [4, 7].

Для изготовления деталей электротехнического назначения наиболее часто используют бронзографитовые порошки, содержащие 2–5 мас.% графита и 70–80 мас.% меди, остальное – олово, железо, никель [8]. Их применяют, например, в скользящих контактах электродвигателей, электрогенераторов, потенциометров.

При изготовлении изделий инструментального назначения в качестве высокотемпературных припоев востребованы порошки сплавов Cu–Zn, Ni–Sn, Zn–Ni–Sn [3, 9].

Порошки на основе металлов и сплавов получают механическим диспергированием металлургических заготовок, распылением расплавов; различными физическими методами (например, термическим испарением в вакууме или в атмосфере инертного газа под воздействием индукционного, лазерного, ионно-лучевого, электронно-лучевого нагрева), химическими методами высокотемпературного восстановления металлов из оксидов и солей, термического разложения соединений металлов (например, карбониллов). Возможно также получение металлических порошков электрохимическим восстановлением, которое проводят из растворов солей металлов с низкой концентрацией и при высокой плотности тока [3, 5].

Главным недостатком всех перечисленных методов является сравнительно высокая стоимость металлических порошков, что в основном обусловлено необходимостью дорогостоящего оборудования для их получения. На сегодняшний день порошки металлов практически в полном объеме как в Беларуси, так и в России закупают за рубежом, при этом потребность в порошковых материалах растет ежегодно [1–5].

Более простым, экономичным и энергосберегающим методом получения металлических порошков является восстановление металлов из растворов их солей безэлектролизными методами – контактным вытеснением (КВ) [10, 11] или химическим осаждением (ХО) [12]. Процессы КВ могут иметь другое важное практическое применение: они позволяют извлекать металлы из отработанных электролитов гальванических производств, используя для этого дешевое сырье – отходы металлообрабатывающей промышленности (порошки, пыль, стружки из железа, цинка, алюминия). Чтобы получать пригодный для использования продукт, необходимо управлять кинетикой процессов КВ, располагать информацией о влиянии разных факторов на соотношение металлов в получаемых порошках, их фазовый состав, размеры и морфологию поверхности частиц.

Особый научный и практический интерес представляет тот факт, что используя процессы восстановления из растворов ионов металлов на частицах металлических порошков-прекурсоров, возможно получение структур типа ядро–оболочка, а также формирование интерметаллических фаз и твердых растворов непосредственно в процессе синтеза порошков [11, 13–15].

Цель данной работы – разработка методов получения порошков бинарных и тройных сплавов металлов со структурой частиц ядро–оболочка с использованием реакций КВ и ХО, а также определение влияния условий протекания процессов на соотношение металлов в порошках, их фазовый состав и морфологию частиц.

В данной работе обобщены результаты проводимых в последние годы на химическом факультете и в НИИ физико-химических проблем Белорусского государственного университета исследований состава и структуры металлических порошков, получаемых методами КВ ионов меди(II), никеля(II), олова(II) из растворов с использованием в качестве металлов-цементаторов порошков железа, цинка или олова, а также ХО никеля на порошке меди.

**Экспериментальная часть.** Для получения порошков сплавов металлов безэлектролизными методами (КВ или ХО) в качестве исходных реагентов использовали высокодисперсные порошки меди, олова, цинка, алюминия (содержание основного металла не менее 99,0 мас.%) и железа (97,0 мас.%) с размерами частиц от 1 до 10 мкм. Порошки погружали при перемешивании в растворы солей восстанавливаемых металлов, составы которых, а также условия проведения реакций представлены в табл. 1. Изученным системам исходный порошок металла–осаждаемый металл в таблице присвоены номера.

Таблица 1. Составы растворов и условия синтеза порошков

Table 1. Solutions compositions and conditions of powders synthesis

Номер системы	Исходный порошок	Осаждаемый металл	Состав раствора, моль/дм <sup>3</sup>		Условия синтеза
1	Sn	Cu	CuSO <sub>4</sub>	0,03–0,06	pH < 2,0, T = 20 °C, t = 0,5–20 мин
2	Zn	Cu	CuSO <sub>4</sub>	0,06–1,25	pH 6,0, T = 18–22 °C, t = 1 мин
3	Zn	Cu, Ni	CuSO <sub>4</sub> (стадия 1)	0,40	pH 1,6–3,0, T = 50 °C, t = 0,5–10 мин
			NiSO <sub>4</sub> (стадия 2)	0,05	pH 1,6, T = 50, °C t = 5 мин
4	Zn	Ni, Sn	NiCl <sub>2</sub>	0,84	pH 4,2, T = 50 °C, t = 0,5–60 мин
			SnCl <sub>2</sub>	0,18	
5	Fe	Cu	CuSO <sub>4</sub>	0,13–0,50	pH 2,3, T = 18–55 °C, t = 5–20 мин
6	Fe	Cu, Ni	CuSO <sub>4</sub>	0,13	pH 2,3, T = 18–22 °C, t = 5–10 мин
			NiSO <sub>4</sub>	0,50	
7	Cu	Ni	NiCl <sub>2</sub>	0,08	pH 9,2, T = 65–80 °C, t = 10–30 мин
			NaH <sub>2</sub> PO <sub>2</sub>	0,23	
			NH <sub>3</sub> ·H <sub>2</sub> O	0,47	
8	Al, Cu (по 50 мас.%)	Ni	Ni(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	0,12	pH 6,2, T = 60 °C, t = 15–60 мин
			NaH <sub>2</sub> PO <sub>2</sub>	0,42	
			NH <sub>4</sub> Cl	0,02	

При проведении безэлектролизного осаждения варьировали длительность процесса ( $t$ ), концентрацию солей, pH и температуру растворов ( $T$ ), а в случае КВ – мольное ( $n$ ) соотношение металла-цементатора и ионов восстанавливаемого металла (т. е. массу порошка цементатора и объем раствора). Например, при получении порошков Ni–Sn–Zn (табл. 1, система 4) концентрация в растворе хлорида олова(II) была примерно в 5 раз меньше, чем хлорида никеля(II); в раствор добавляли фторид-ионы. Это позволяло сблизить величину электродных потенциалов металлов и тем самым управлять скоростью реакции и соотношением металлов в продукте КВ.

Полученные порошки отделяли от растворов, промывали и сушили до постоянной массы. В случае систем 1–6 (табл. 1) восстановление ионов меди(II), никеля(II), олова(II) порошками олова, цинка, железа протекало по механизму КВ; в случае систем 7 и 8 ионы никеля(II) восстанавливались гипофосфит-ионами.

Содержание ионов металлов в растворах на разных стадиях КВ анализировали методами спектрофотометрии (УФ-ВИД спектрофотометр Halo VIS-20) и рентгенофлуоресцентного анализа (спектрометр Elvax Light SDD). Долю металлов в порошках определяли теми же методами, анализируя растворы, полученные при полном растворении порошков в смеси соляной кислоты и пероксида водорода, а также методом энергодисперсионного рентгеновского микроанализа (приставка Rontec к сканирующему электронному микроскопу LEO 1420). Размеры и форму частиц порошков изучали с помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) LEO 1420. Фазовый состав порошков определяли с использованием дифрактометра ДРОН-3.0.

**Результаты и их обсуждение.** Порошки Cu–Sn, перспективные для изделий конструкционного и инструментального назначения, а также для изготовления паяльных паст, получены восстановлением ионов меди(II) порошком олова из раствора  $\text{CuSO}_4$  (табл. 1, система 1). Подкисление раствора необходимо для предотвращения гидролиза соединений металлов. Выявлено, что процесс КВ замедляется после 3–5 мин и практически прекращается к 10–20 мин (рис. 1).

Долю меди в порошках можно варьировать от 65 до 92 ат.%, задавая нужную длительность процесса КВ. Обнаружено, что порошковые продукты содержат фазы индивидуальных металлов, а также интерметаллидов  $\delta\text{-Cu}_{41}\text{Sn}_{11}$  и  $\xi\text{-Cu}_{10}\text{Sn}_3$  (табл. 2).

При протекании КВ в течение 1 мин на поверхности округлых зерен олова размером от 1 до 10 мкм (рис. 2, а) появляется множество частиц меди величиной 50–750 нм. В течение 5 мин вокруг зерен олова формируется сплошная оболочка частиц меди, имеющих размер 300–1000 нм (рис. 2, б). Нередко эта оболочка пустая внутри.

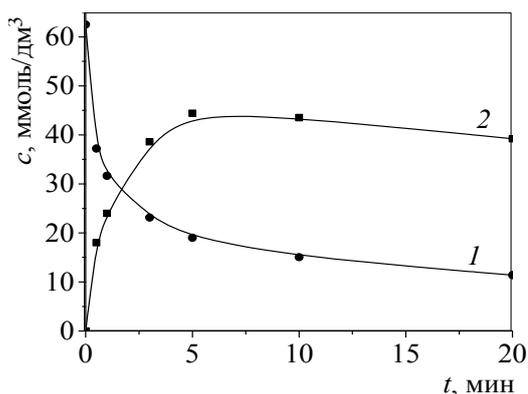


Рис. 1. Зависимость концентрации ионов  $\text{Cu}^{2+}$  (1) и  $\text{Sn}^{2+}$  (2) от длительности КВ ( $T = 20\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $n(\text{Sn}) : n(\text{Cu}^{2+}) = 1 : 1$ )

Fig. 1. Dependence of  $\text{Cu}^{2+}$  (1) and  $\text{Sn}^{2+}$  (2) ions concentration on the cementation duration ( $T = 20\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $n(\text{Sn}) : n(\text{Cu}^{2+}) = 1 : 1$ )

Таблица 2. Элементный и фазовый состав полученных порошков

Table 2. Elemental and phase composition of the powders obtained

Номер системы	Полученный порошок	Доля металлов в порошке, ат.%	Фазовый состав порошка
1	Cu–Sn	65–92 Cu, 35–8 Sn	Cu, $\beta\text{-Sn}$ , $\delta\text{-Cu}_{41}\text{Sn}_{11}$ , $\xi\text{-Cu}_{10}\text{Sn}_3$ , следы CuO
2	Cu–Zn	3–84 Cu, 97–16 Zn	Cu, Zn, следы CuO и ZnO
3	Ni–Cu–Zn	1–8 Ni, 69–98 Cu, 2–24 Zn	Твердые растворы Cu в Zn и Zn в Cu, $\text{Cu}_5\text{Zn}_8$ , $\text{NiZn}_3$ , следы CuO
4	Ni–Sn–Zn	42–47 Ni, 43–32 Sn, 15–21 Zn	Ni, $\beta\text{-Sn}$ , $\text{NiZn}_3$ , $\text{Ni}_3\text{Sn}_4$ , $\text{Ni}_{3+x}\text{Sn}_4\text{Zn}$ , $\text{Ni}_3\text{Sn}$
5	Cu–Fe	83–97 Cu, 17–3 Fe	Cu, Fe, твердый раствор Cu в Fe
6	Ni–Cu–Fe	30 Ni, 60 Cu, 10 Fe	Cu, Fe, твердые растворы Cu в Fe и Ni в Fe
7	Ni–Cu	95–98 Cu, 5–2 Ni	Cu, примесь CuO
8	Cu–Ni–Al	6 Ni, 90 Cu, 4 Al	Cu, Ni, следы CuO и Al

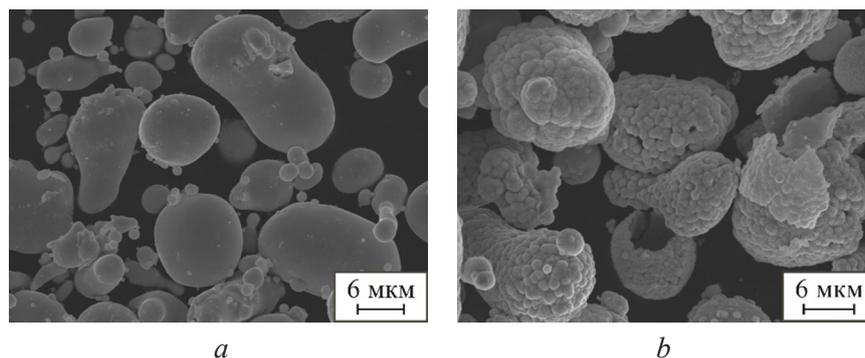


Рис. 2. СЭМ-изображения частиц порошков: *a* – Sn; *b* – Cu–Sn ( $t = 5$  мин;  $n(\text{Sn}) : n(\text{Cu}^{2+}) = 1 : 1$ )

Fig. 2. SEM images of particles in powders: *a* – Sn; *b* – Cu–Sn ( $t = 5$  min;  $n(\text{Sn}) : n(\text{Cu}^{2+}) = 1 : 1$ )

*Порошки Cu–Zn*, востребованные для деталей конструкционного и инструментального назначения, а также для получения твердых припоев, получены методом КВ ионов  $\text{Cu}^{2+}$  порошком цинка (табл. 1, система 2). Выявлено, что этот процесс протекает очень быстро и уже после 1 мин содержание металлов в порошках и их ионов в растворах практически перестает изменяться. Варьирование концентрации  $\text{CuSO}_4$  и длительности процесса КВ позволяет получать порошки с содержанием цинка от 3 до 95 ат.%. Остаточная концентрация ионов  $\text{Cu}^{2+}$  в результате проведения КВ может быть уменьшена до  $1,0 \cdot 10^{-4}$  моль/дм<sup>3</sup>, что свидетельствует о возможности достаточно полного извлечения ионов металла из раствора и перспективности использования КВ для извлечения меди из отработанных электролитов меднения с получением ценного порошкового продукта.

Порошки Cu–Zn включают кристаллические фазы меди, цинка, а также примесные количества оксидов металлов (табл. 2). В результате их прогрева в течение 2 ч при 400 °C появляется фаза интерметаллида  $\text{Cu}_5\text{Zn}_8$ . Важно подчеркнуть, что при прогреве в тех же условиях смеси порошков чистых меди и цинка указанный интерметаллид не образуется.

Исходный порошок цинка до погружения в раствор сульфата меди состоит из сферических зерен размером 0,2–4,5 мкм (рис. 3, *a*). В процессе КВ на их поверхности появляются частицы меди размером 60–1000 нм. Их количество постепенно возрастает, и при содержании меди в порошке около 97 ат.% они образуют рыхлую хлопьевидную оболочку вокруг зерен цинка, иногда полую внутри (рис. 3, *b* и *c*). Продукт содержит также отдельные частицы меди в виде хлопьев.

*Порошки Ni–Cu–Zn* перспективны не только как конструкционные материалы с повышенной коррозионной стойкостью, но и для изготовления электроконтактов или токопроводящих дорожек. В последнем случае важно, чтобы никель покрывал частицы меди оболочкой, защищающей от коррозии, но существенно не снижающей электропроводность меди, а доля цинка была невелика. Такие порошки получены двухстадийным синтезом (табл. 1, система 3). На первой стадии проводится КВ меди(II) из раствора  $\text{CuSO}_4$  порошком цинка; на второй полученный порошок

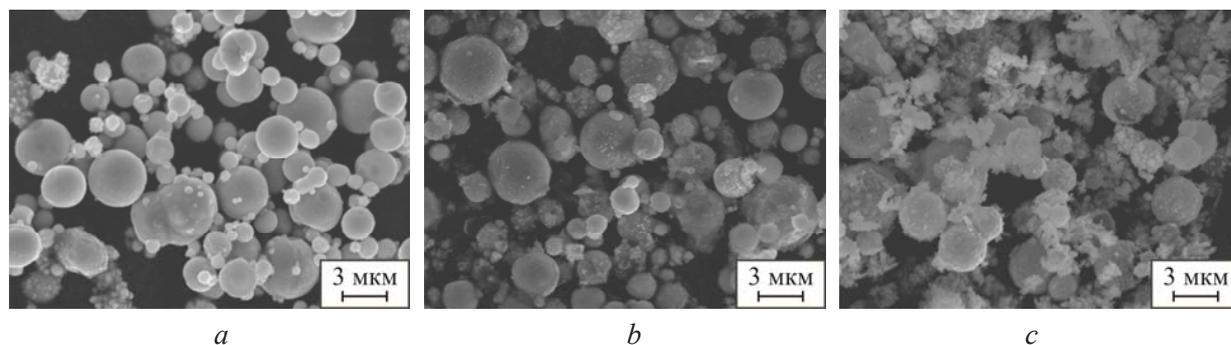


Рис. 3. СЭМ-изображения частиц в порошках: Zn (*a*); Cu–Zn с содержанием цинка 95 ат.% (*b*) и 2 ат.% (*c*)

Fig. 3. SEM images of particles in powders: *a* – Zn; *b* – Cu–Zn (95 at.% Zn); *c* – Cu–Zn (2 at.% Zn)

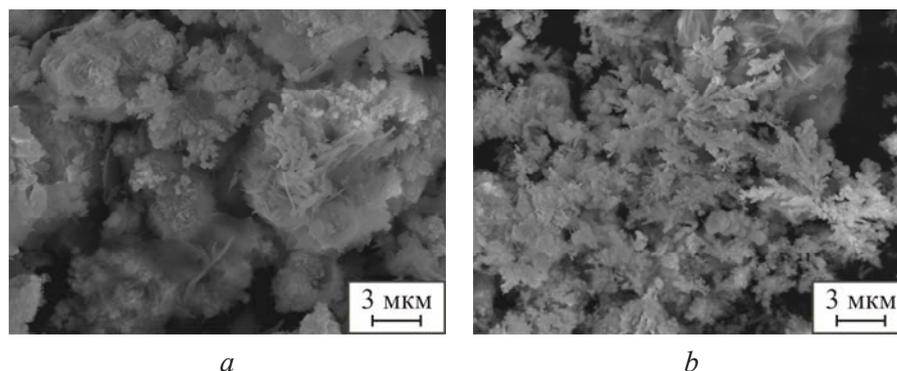


Рис. 4. СЭМ-изображения частиц порошка Ni–Cu–Zn, содержащего: *a* – 2 ат.% никеля и 20 ат.% цинка; *b* – 8 ат.% никеля и 15 ат.% цинка

Fig. 4. SEM images of particles in Ni–Cu–Zn powder containing: *a* – 2 at.% of nickel and 20 at.% of zinc; *b* – 8 at.% of nickel and 13 at.% of zinc

Cu–Zn обрабатывается в течение 5 мин в растворе сульфата никеля. Функцию восстановителя металлов на обеих стадиях выполняет цинк.

Установлено, что наибольшее содержание никеля в порошках (от 5 до 8 ат.%) достигается при использовании кислых растворов (рН 1,6) и длительности КВ от 30 с до 5 мин. Доля меди при этом составляет 77–98 ат.% и возрастает при увеличении длительности процесса и рН растворов. Отметим, что при использовании на первой стадии синтеза двукратного избытка порошка цинка доля этого металла в конечном продукте может достигать 14–24 ат.%.

В процессе получения порошков Ni–Cu–Zn происходит образование преимущественно твердых растворов на основе меди и цинка, а также интерметаллидов  $\text{Cu}_5\text{Zn}_8$  и  $\text{NiZn}_3$  (табл. 2). Порошки состоят из округлых или палочкообразных частиц с размерами около 1 мкм, образующих рыхлые разветвленные агрегаты (рис. 4, *a*), иногда в форме дендритов (рис. 4, *b*), что важно при использовании в качестве электротехнических материалов.

*Порошки Ni–Sn–Zn*, пригодные для наплавки покрытий и в качестве припоев, получены совместным восстановлением никеля(II) и олова(II) порошком цинка из раствора при соотношении реагентов  $n(\text{Zn}) : n(\text{Ni}^{2+}) : n(\text{Sn}^{2+}) = 1 : 1 : 0,2$  (табл. 1, система 4). Определено, что процесс КВ протекает очень быстро и уже после 0,5 мин пребывания порошка цинка в растворе, нагретом до 50 °С, состав порошкового продукта мало меняется. Продукт КВ содержит 42–47 ат.% никеля, 15–21 ат.% цинка, 43–32 ат.% олова (табл. 2).

Порошки Ni–Sn–Zn содержат кристаллические фазы индивидуальных металлов (Ni,  $\beta$ -Sn), бинарных интерметаллидов ( $\text{Ni}_3\text{Sn}_4$ ,  $\text{Ni}_3\text{Sn}$ ,  $\text{NiZn}_3$ ) и тройного интерметаллида  $\text{Ni}_{3+x}\text{Sn}_4\text{Zn}$  (рис. 5, *a*), который в литературе условно обозначается  $\tau_1$  [16, 17]. Для сравнения отметим, что при получении порошков Ni–Sn–Zn в две стадии аналогично способу, описанному для порошков Ni–Cu–Zn (табл. 1, система 3), интерметаллид  $\tau_1$  в порошковых продуктах не обнаруживается [18]. Он образуется лишь при прогреве порошков выше 200 °С [19].

Порошки Ni–Sn–Zn состоят из зерен цинка, покрытых оболочкой из кристаллов металлов, осаждаемых в виде многостажной структуры. В процессе КВ оболочка разрастается, зерна объединяются в агломераты размером до 40–50 мкм, которые в свою очередь срастаются друг с другом с образованием структур типа розеток, именуемых в зарубежной литературе «*flower-type*» (рис. 5, *b*).

*Порошки Cu–Fe*, востребованные как материалы конструкционного назначения, получены обработкой порошка железа в растворах сульфата меди при  $n(\text{Fe}) : n(\text{Cu}^{2+}) = 1 : 1$  (табл. 1, система 5). Анализ растворов КВ показал, что за 5 мин протекания процесса при 18 °С концентрация ионов  $\text{Cu}^{2+}$  быстро уменьшается от 0,50 до 0,32–0,38 моль/дм<sup>3</sup> в зависимости от рН раствора. Далее процесс сильно замедляется и к 15–20 мин практически прекращается; остаточная концентрация ионов меди в растворе составляет 0,27–0,34 моль/дм<sup>3</sup> (минимальна при рН 2,3). При 55 °С реакция завершается за 3 мин, а остаточная концентрация ионов  $\text{Cu}^{2+}$  в растворе составляет 0,04 моль/дм<sup>3</sup>.

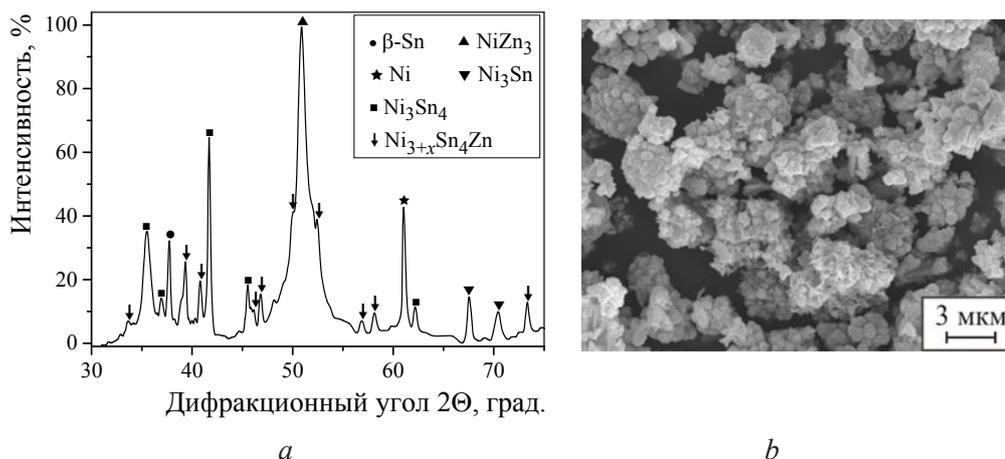


Рис. 5. Рентгенограмма (а) и СЭМ-изображение частиц (b) порошка Ni–Sn–Zn, полученного при  $t = 30$  мин

Fig. 5. X-ray diffraction pattern (a) and SEM image of particles (b) in Ni–Sn–Zn powder obtained for  $t = 30$  min

В зависимости от температуры и pH раствора можно получать порошки с содержанием железа от 3 до 17 ат.%. Порошки с более высоким содержанием этого металла можно получать, уменьшая длительность процесса КВ. В порошковых продуктах присутствуют кристаллические фазы железа и меди и твердые растворы меди в железе (табл. 2). Частицы исходного порошка железа имеют округлую форму и средний размер около 0,6 мкм. В результате осаждения меди их размер увеличивается до 1 мкм и частицы порошка приобретают форму рыхлых сферолитов, имеющих средний размер около 1 мкм.

Порошки Ni–Cu–Fe, перспективные для изготовления изделий антифрикционного назначения, получены обработкой порошка железа в растворе, содержащем сульфаты меди и никеля при соотношении реагирующих компонентов  $n(\text{Fe}) : n(\text{Cu}^{2+}) : n(\text{Ni}^{2+}) = 5 : 1 : 4$  (табл. 1, система 6). Определено, что процесс КВ к 10 мин при 18–22 °С практически прекращается. При этих условиях порошковый продукт содержит 14 ат.% Fe, 84 ат.% Cu и 2 ат.% Ni. Задавая меньшее время протекания КВ, долю железа можно существенно увеличивать и получать порошок для изделий конструкционного назначения. В состав порошков входят кристаллические фазы железа и меди, а также твердые растворы меди или никеля в железе (табл. 2).

На начальных стадиях совместного восстановления ионов меди(II) и никеля(II) зерна железа обрастают тончайшими палочкообразными кристаллами из восстанавливаемого металла, а их поверхность становится пористой (рис. 6, а). На более поздних стадиях образуются сферолиты в форме розеток (рис. 6, b).

Порошки Ni–Cu получены химическим восстановлением ионов никеля гипофосфит-ионами на частицах порошка меди (табл. 1, система 7). Отметим, что медь не катализирует окисление

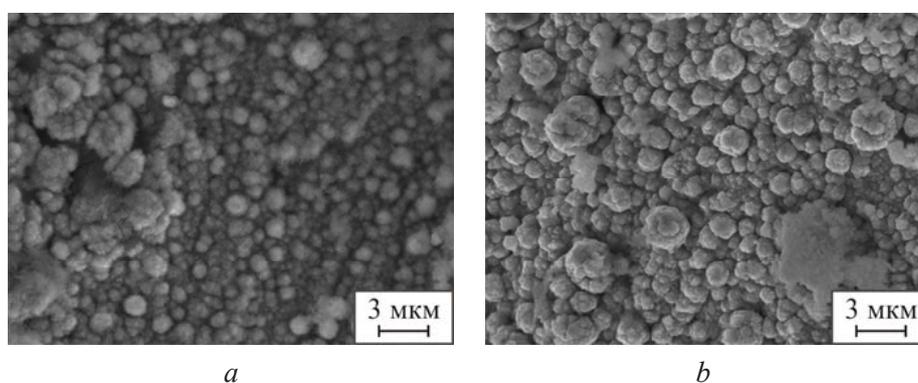


Рис. 6. СЭМ-изображения частиц порошка Ni–Cu–Fe, полученного при длительности КВ 1 мин (а) и 5 мин (b)

Fig. 6. SEM images of particles in Ni–Cu–Fe powder obtained at cementation duration of 1 min (a) and 5 min (b)

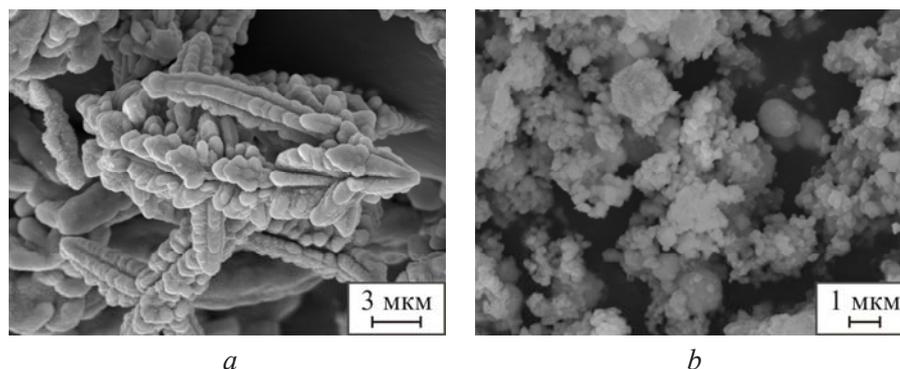


Рис. 7. СЭМ-изображения частиц порошков: *a* – Cu; *b* – Cu–Ni ( $T = 75\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $t = 5\text{ мин}$ )

Fig. 7. SEM images of particles in powders: *a* – Cu; *b* – Cu–Ni ( $T = 75\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $t = 5\text{ min}$ )

гипофосфит-ионов и соответственно процесс химического восстановления никеля [12]. Для инициирования восстановления никеля(II) подобраны состав раствора, температура и соотношение массы порошка к объему раствора, при которых никель(II) восстанавливается на поверхности частиц порошка. Предполагается, что введение в раствор порошка с большой площадью поверхности обеспечивает ускорение обычно медленно протекающего процесса самопроизвольного образования наночастиц никеля в объеме раствора. Эти частицы, адсорбируясь на поверхности зерен порошка меди, обеспечивают дальнейшее восстановление никеля(II). Важно отметить, что раствор при этом не разлагается и процесс осаждения никеля на частицах меди можно прекратить на любой его стадии.

В зависимости от длительности ХО и температуры раствора никелирования ( $65\text{--}80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) содержание никеля в порошках варьируется в пределах 2–5 ат.%. Результаты фазового анализа показывают, что в состав порошков входят кристаллическая медь и примесь CuO, а кристаллический никель не обнаружен.

По данным СЭМ исследования в процессе осаждения никеля из раствора происходит заметное увеличение размеров наиболее мелких частиц порошка меди (рис. 7, *a*). Так, частицы меди размером 150–300 нм исчезают и вместо них появляются частицы диаметром 0,5–1,0 мкм, не характерные для порошка меди. Они покрывают в виде рыхлой оболочки более крупные зерна меди размером 2–5 мкм (рис. 7, *b*).

Получаемые порошки Ni–Cu могут представлять интерес для изготовления изделий конструкционного, инструментального и триботехнического назначения, а также в качестве наполнителей токопроводящих паст и клеев, поскольку состоят из частиц меди, защищенных от коррозии оболочкой из никеля.

Факт более высокой устойчивости к коррозии подтвержден результатами испытаний порошков в растворах серной кислоты и хлорида натрия. Так, накопление ионов меди в 0,05 М растворе  $\text{H}_2\text{SO}_4$  при обработке в нем порошка Ni–Cu практически прекращается через двое суток испытаний, в то время как исходный порошок меди продолжает растворяться при испытаниях до 2 недель и более. Концентрация ионов меди в данной коррозионной среде уже к моменту прекращения растворения порошка Ni–Cu (вторые сутки) на 30 % меньше, чем при испытаниях порошка меди.

При выдерживании порошка Ni–Cu в 1 М растворе NaCl ионы меди в коррозионной среде не обнаружены даже после 2 недель испытаний. В то же время появление голубой окраски, характерной для ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , наблюдается уже через 20 мин после погружения в этот раствор исходного порошка меди. Негерметичность оболочки из никеля вокруг частиц порошка меди, по-видимому, является не существенным фактором для защиты от коррозии, поскольку доминирует электрохимический механизм катодной поляризации меди никелем.

Порошки Ni–Cu–Al, востребованные для изготовления изделий конструкционного и инструментального назначения, получены химическим осаждением никеля из слабокислого гипофосфитного раствора никелирования на смесь порошков меди и алюминия, взятых в массовом соот-

ношении 1 : 1 (табл. 1, система 8). В данном случае окисление гипофосфит-ионов катализирует никель, осаждаемый на частицах как алюминия, так и меди по механизму КВ. В случае порошка меди процесс КВ инициируется по механизму внутреннего электролиза (контактом с алюминием, который более электроотрицателен, чем медь и никель).

Алюминий в данной системе расходуется не только на процесс КВ, но и на окисление ионами водорода в слабокислом растворе, интенсифицируемое контактом с более электроположительными металлами. В результате частицы алюминия практически исчезают, а образующиеся частицы микронных размеров срастаются в дендриты и разветвленные агрегаты протяженностью до 20 мкм. Получаемые порошки включают медь, никель и алюминий (90; 6 и 4 ат.% соответственно; см. табл. 2).

**Заключение.** Показано, что с использованием безэлектролизного восстановления (КВ или ХО) ионов металлов из растворов на частицах порошков олова, цинка, железа, алюминия можно получать порошки двойных и тройных сплавов металлов (Cu–Sn, Cu–Zn, Ni–Cu–Zn, Ni–Sn–Zn, Cu–Fe, Ni–Cu–Fe, Ni–Cu, Ni–Cu–Al) со структурой частиц ядро–оболочка. Определено, что долю металлов в порошках можно регулировать в широких пределах, варьируя длительность процессов КВ или ХО, соотношение количеств реагентов, pH и концентрацию растворов. Показано, что при протекании процессов КВ из растворов происходит низкотемпературное образование сплавов, в состав которых помимо индивидуальных металлов входят интерметаллические фазы (системы Cu–Sn, Ni–Sn–Zn) и твердые растворы (системы Ni–Cu–Zn, Cu–Fe, Ni–Cu–Fe). Формируемые при осаждении металлов на частицах исходного порошка оболочки могут быть рыхлыми, пористыми или довольно герметичными. Частицы порошкового продукта в зависимости от природы металлов и длительности КВ и ХО имеют форму сфер, розеток, дендритов. Элементный, фазовый состав и структура порошков, получаемых безэлектролизным восстановлением ионов металлов из растворов, свидетельствуют о возможности их использования для изготовления изделий конструкционного и инструментального (Cu–Sn, Cu–Zn, Ni–Cu–Zn, Ni–Sn–Zn, Cu–Fe, Ni–Cu, Ni–Cu–Al), антифрикционного (Ni–Cu–Fe, Ni–Cu) назначения, в качестве наполнителей электропроводящих клеев и паст (Ni–Cu, Ni–Cu–Zn), а также твердых припоев (Cu–Zn, Ni–Sn–Zn).

### Список использованных источников

1. Порошковая металлургия. Материалы, технология, свойства, области применения / И. М. Федорченко (отв. ред.) [и др.]. – Киев: Наук. думка, 1985. – 624 с.
2. Порошковая металлургия в Беларуси: вызовы времени: сб. науч. ст. / редкол.: А. Ф. Ильющенко (гл. ред.) [и др.]. – Минск: Беларус. навука, 2017. – 531 с.
3. Neikov, O. D. Handbook of non-ferrous metal powders. Technologies and applications / O. D. Neikov, S. S. Naboychenko, N. A. Yefimov; ed. by O. D. Neikov. – 2nd ed. – Amsterdam: Elsevier, 2019. – 995 p. <https://doi.org/10.1016/C2014-0-03938-X>
4. Ультрадисперсные и наноразмерные порошки: создание, строение, производство и применение / под ред. В. М. Бузника. – Томск: Изд-во НТЛ, 2009. – 192 с.
5. Винников, В. П. Методы получения нанодисперсных порошков / В. П. Винников, М. Б. Генералов. – Санкт-Петербург: Профессия, 2016. – 235 с.
6. Арзамасов, Б. Н. Справочник по конструкционным материалам / Б. Н. Арзамасов [и др.]; под ред. Б. Н. Арзамасова, Т. В. Соловьевой. – М.: Изд-во МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2005. – 640 с.
7. Бабец, Н. В. Улучшение антифрикционных свойств композиционных порошковых материалов на основе железа / Н. В. Бабец, Б. Н. Васильев, М. А. Исмаилов // Металлург. – 2012. – № 6. – С. 68–70.
8. Спеченные материалы для электротехники и электроники: справочник / под ред. Г. Г. Гнесина. – М.: Металлургия, 1981. – 344 с.
9. Chang, J. Phase equilibria in the Sn–Ni–Zn ternary system: isothermal sections at 200 °C, 500 °C, and 800 °C / J. Chang, S.-K. Seo, H. M. Lee // J. Electron. Mater. – 2010. – Vol. 39, N. 12. – P. 2643–2652. <https://doi.org/10.1007/s11664-010-1313-2>
10. Алкацев, М. И. Процессы цементации в цветной металлургии / М. И. Алкацев. – М.: Металлургия, 1981. – 116 с.
11. Vrublevskaya, O. N. Synthesis of powders and coatings of tin and its alloys with a controlled composition and structure by cementation from solutions / O. N. Vrublevskaya [et al.] // Advances in Chemistry Research / ed. J. C. Taylor. – New York: Nova Science Publishers, 2019. – Vol. 52., Chapter 4. – P. 133–251.
12. Свиридов, В. В. Химическое осаждение металлов из водных растворов / В. В. Свиридов [и др.]; под ред. В. В. Свиридова. – Минск: Университетское, 1987. – 270 с.

13. Воробьева, Т. Н. Получение наноструктурных порошков и пленок Au–Sn с использованием реакций контактного вытеснения / Т. Н. Воробьева [и др.] // Вестник БГУ. Сер. 2. Химия. Биология. География. – 2014. – № 3. – С. 3–9.
14. Воробьева, Т. Н. Процессы сплавообразования при совместном осаждении металлов из растворов / Т. Н. Воробьева // Химия новых материалов и биологически активных веществ; под общей ред. Д. В. Свиридова. – Минск: Издательский центр БГУ, 2016. – С. 53–76.
15. Vorobyova, T. N. Chemical synthesis of Cu–Sn powder by tin(II) cementation with copper in aqueous solution / Vorobyova T. N. [et al.] // Surfaces and Interfaces. – 2016. – Vol. 4. – P. 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2016.07.009>
16. Schmetterer, C. The crystal structures of  $Ni_{3+x}Sn_4Zn$  and  $Ni_{6+x}Sn_8Zn$  and their structural relations to  $Ni_{3+x}Sn_4$ , NiSn and  $Ni_{5-\delta}ZnSn_4$  / C. Schmetterer [et al.] // J. Solid State Chem. – 2016. – Vol. 238. – P. 139–146. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2016.02.001>
17. Gandova, V. Phase equilibria in the Sn–Zn–Ni system / V. Gandova [et al.] // Int. J. Mat. Res. – 2011. – Vol. 102, N. 3. – P. 257–268. <https://doi.org/10.3139/146.110481>
18. Кудак, А. А. Получение порошковых сплавов Ni–Zn и Ni–Zn–Sn из растворов методом контактного вытеснения / А. А. Кудак, Т. Н. Воробьева // Свиридовские чтения: сб. ст. / редкол.: Т. Н. Воробьева [и др.]. – Минск, 2018. – Вып. 14. – С. 19–33.
19. Kudaka, A. A. Phase transformations at heating of Sn–Ni–Zn powders obtained by cementation from solutions / A. A. Kudaka, T. N. Vorobyova // Material Science. Non-Equilibrium Phase Transformations. – 2019. – Vol. 5, Iss. 3. – P. 99–101.

## References

1. Fedorchenko I. M., Frantsevich I. N., Radomysel'skii I. D. [et al.]. *Powder metallurgy. Materials, technology, properties, applications*. Kiev, Naukova dumka Publ., 1985. 624 pp. (in Russian).
2. Il'yushchenko A. F., Savich V. V., Skorokhod V. V., Vityaz' P. A., Smirnov, G. V., Fedosyuk V. M. [et al.]. *Poroshkovaya metallurgiya v Belarusi: vyzovy vremeni: sbornik nauchnykh statei [Powder metallurgy in Belarus: challenges of time. Collection of scientific articles]*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2017. 532 p. (in Russian).
3. Neikov O. D., Naboychenko S. S., Yefimov N. A. *Handbook of non-ferrous metal powders. Technologies and applications*. 2nd ed. Amsterdam, Elsevier, 2019. 995 p. <https://doi.org/10.1016/C2014-0-03938-X>
4. Buznik V. M. (ed.) *Ultrafine and nanosized powders: development, structure, production and application*. Tomsk, NTL Publ., 2009. 192 p. (in Russian).
5. Vinnikov V. P., Generalov M. B. *Methods of nanodispersed powder production*. St. Petersburg: Professia Publ., 2016. 235 p. (in Russian).
6. Arzamasov B. N., Solovyova T. V. (eds.). *Handbook on structural materials*. Moscow, MGTU im. N. E. Bauman Publ., 2005. 640 p. (in Russian).
7. Babets N. V., Vasiliev B. N., Ismailov M. A. Improving the antifriction properties of iron-based composite powdery materials. *Metallurg = Metallurgist*, 2012, no. 6, pp. 68–70. (in Russian).
8. Gnesin G. G. (ed.) *Spechennye materialy dlya elektrotekhniki i elektroniki: spravochnik [Sintered materials for electrotechnology and electronics]*. Moscow, Metallurgiya Publ, 1981. 344 p. (in Russian).
9. Chang J., Seo S.-K., Lee H. M. Phase equilibria in the Sn–Ni–Zn ternary system: isothermal sections at 200 °C, 500 °C, and 800 °C. *Journal of Electronic Materials*, 2010, vol. 39, no. 12, pp. 2643–2652. <https://doi.org/10.1007/s11664-010-1313-2>
10. Alkatsev M. I. *Cementation processes in non-ferrous metallurgy*. Moscow, Metallurgiya Publ., 1981. 116 p. (in Russian).
11. Vrublevskaya O. N., Vorobyova T. N., Galuza M. G., Shikun M. A., Kudaka A. A., Venhliinskaya E. E. Synthesis of powders and coatings of tin and its alloys with a controlled composition and structure by cementation from solutions. *Advances in Chemistry Research*, New York, Nova Science Publishers, 2019, vol. 52, chapter 4, pp. 133–251.
12. Sviridov V. V., Vorobyova T. N., Gaevskaya T. V., Stepanova L. I. *Chemical deposition of metals from aqueous solutions*. Minsk, Universitetskoe Publ., 1987. 270 p. (in Russian).
13. Vorobyova T. N., Malanova H. M., Vrublevskaya O. N., Grigoreva O. Yu. Obtaining of nanostructural Au–Sn powders and films using cementation reactions. *Vestnik Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 2. Khimiya. Biologiya. Geografia = Bulletin of the Belarusian State University. Series 2. Chemistry. Biology. Geography*, 2014, no. 4, pp. 9–17 (in Russian).
14. Vorobyova T. N. Processes of alloys formation upon the simultaneous deposition of metals from solutions. *Khimiya novykh materialov i biologicheskii aktivnykh veshchestv [Chemistry of new materials and bioactive substances]*. Minsk, BSU Publ., 2016, pp. 53–76 (in Russian).
15. Vorobyova T. N., Vrublevskaya O. N., Galuza M. G., Glibin V. P. Chemical synthesis of Cu–Sn powder by tin(II) cementation with copper in aqueous solution. *Surfaces and Interfaces*, 2016, vol. 4, pp. 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2016.07.009>
16. Schmetterer C., Effenberger H. S., Rajamohan D., Flandorfer H. The crystal structures of  $Ni_{3+x}Sn_4Zn$  and  $Ni_{6+x}Sn_8Zn$  and their structural relations to  $Ni_{3+x}Sn_4$ , NiSn and  $Ni_{5-\delta}ZnSn_4$ . *Journal of Solid State Chemistry*, 2016, vol. 238, pp. 139–146. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2016.02.001>
17. Gandova V., Soares D., Lilova K., Tedenac J.-C., Vassilev G. P. Phase equilibria in the Sn–Zn–Ni system. *International Journal of Materials Research*, 2011, vol. 102, no. 3, pp. 257–268. <https://doi.org/10.3139/146.110481>
18. Kudaka A. A., Vorobyova T. N. Preparation of Ni–Zn and Ni–Zn–Sn powdery alloys from solutions by cementation. *Sviridovskie chteniya: Sb. st. [Sviridov Readings. A collection of Papers]*. Minsk, BSU, 2018, iss. 14, pp. 19–33 (in Russian).
19. Kudaka A. A., Vorobyova T. N. Phase transformations at heating of Sn–Ni–Zn powders obtained by cementation from solutions. *Material Science. Non-Equilibrium Phase Transformations*, 2019, vol. 5, iss. 3. pp. 99–101.

### Информация об авторах

*Воробьева Татьяна Николаевна* – д-р хим. наук, профессор. Белорусский государственный университет (ул. Ленинградская, 14, 220050, Минск, Республика Беларусь). Гл. науч. сотрудник. НИИ физико-химических проблем Белорусского государственного университета (ул. Ленинградская, 14, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: vorobyovatn@gmail.com

*Врублевская Ольга Николаевна* – канд. хим. наук, доцент. НИИ физико-химических проблем Белорусского государственного университета (ул. Ленинградская, 14, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: vrublevskaya.olga@gmail.com

*Кудако Антон Александрович* – аспирант. Белорусский государственный университет (ул. Ленинградская, 14, 220050, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kudako.anton@gmail.com

*Галуза Мария Геннадьевна* – мл. науч. сотрудник. НИИ физико-химических проблем Белорусского государственного университета (ул. Ленинградская, 14, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: mashandra.by@mail.ru

*Кобец Анна Вячеславовна* – науч. сотрудник. НИИ физико-химических проблем Белорусского государственного университета (ул. Ленинградская, 14, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kobetsanna@gmail.com

*Петрова Александра Алексеевна* – студент. Белорусский государственный университет (ул. Ленинградская, 14, 220050, Минск, Республика Беларусь). E-mail: sashka\_petrova\_2011@mail.ru

*Аль-Нахар Гаджер* – студент. Белорусский государственный университет (ул. Ленинградская, 14, 220050, Минск, Республика Беларусь). E-mail: egmartinov95@gmail.com

### Information about the authors

*Tatiana N. Vorobyova* – D. Sc. (Chemistry), Full Professor. Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220050, Minsk, Republic of Belarus). Chief Researcher. Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vorobyovatn@gmail.com

*Olga N. Vrublevskaya* – Ph. D. (Chemistry), Associate Professor. Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vrublevskaya.olga@gmail.com

*Anton A. Kudaka* – Postgraduate student. Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220050, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kudako.anton@gmail.com

*Maryia G. Galuza* – Junior Researcher. Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mashandra.by@mail.ru

*Anna V. Kobets* – Researcher. Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kobetsanna@gmail.com

*Aleksandra A. Petrova* – Student. Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220050, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sashka\_petrova\_2011@mail.ru

*Gadzher Al-Nakhar* – Student. Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220050, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: egmartinov95@gmail.com

**КАЛОЇДНАЯ ХІМІЯ**  
**COLLOIDAL CHEMISTRY**УДК 544.638:661.842.455  
<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-419-428>Поступила в редакцию 16.09.2020  
Received 16.09.2020**И. Е. Глазов<sup>1</sup>, П. О. Малаховский<sup>2</sup>, В. К. Крутько<sup>1</sup>, О. Н. Мусская<sup>1</sup>, А. И. Кулак<sup>1</sup>**<sup>1</sup>*Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь*<sup>2</sup>*Научно-исследовательский институт физико-химических проблем  
Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь***ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГЕЛЕЙ ФОСФАТОВ КАЛЬЦИЯ**

**Аннотация.** Электрокинетические свойства гелей фосфатов кальция – дикальцийфосфата дигидрата (брушит), трикальцийфосфата, гидроксиапатита – определяли в различных средах. Диапазон полученных значений  $\zeta$ -потенциалов от  $-29$  до  $+21$  мВ указывает на способность частиц фосфатов кальция к адсорбции как катионов ( $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ), так и анионов ( $OH^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $HPO_4^{2-}$ ). Значения  $\zeta$ -потенциалов дикальцийфосфата дигидрата смещены в положительную область на  $2-9$  мВ относительно таковых для гидроксиапатита, а  $\zeta$ -потенциалы трикальцийфосфата и гидроксиапатита отличаются незначительно на  $1-3$  мВ вследствие их апатитовой природы. В процессе созревания гидроксиапатита абсолютные значения  $\zeta$ -потенциалов частиц увеличиваются от  $+6$  до  $+22$  мВ либо от  $-19$  до  $-27$  мВ, что обусловлено уменьшением содержания  $Ca^{2+}$  в маточном растворе, а не увеличением соотношения Ca/P дисперсной фазы. Согласно полученным данным, электрокинетические свойства частиц фосфатов кальция в большей степени определяются их кристаллической структурой, и в меньшей – Ca/P соотношением.

**Ключевые слова:** электрокинетические свойства,  $\zeta$ -потенциал, гель фосфата кальция, гидроксиапатит, трикальцийфосфат, дикальцийфосфат дигидрат, созревание гидроксиапатита

**Для цитирования:** Электрокинетические свойства гелей фосфатов кальция / И. Е. Глазов [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. хим. навук. – 2020. – Т. 56, № 4. – С. 419–428. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-419-428>

**I. E. Glazov<sup>1</sup>, P. O. Malakhovsky<sup>2</sup>, V. K. Krut'ko<sup>1</sup>, O. N. Musskaya<sup>1</sup>, A. I. Kulak<sup>1</sup>**<sup>1</sup>*Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*<sup>2</sup>*Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University, Minsk, Belarus***ELECTROKINETIC PROPERTIES OF COLLOID CALCIUM PHOSPHATE**

**Abstract.** Electrokinetic properties of colloid calcium phosphates, i. e. dicalcium phosphate dihydrate (brushite), tricalcium phosphate, hydroxyapatite, have been determined in different media. Obtained  $\zeta$ -values ranging from  $-29$  to  $+21$  mV indicate the ability of calcium phosphate particles to adsorb both cations ( $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ) and anions ( $OH^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $HPO_4^{2-}$ ). Dicalcium phosphate dihydrate  $\zeta$ -potential values are positively shifted by  $2-9$  mV as compared to that of hydroxyapatite, and  $\zeta$ -potentials of tricalcium phosphate and hydroxyapatite differ slightly by  $1-3$  mV owing to its apatitic nature. During the maturation of hydroxyapatite, its absolute  $\zeta$ -potential values are gradually increased from  $+6$  to  $+22$  mV and from  $-19$  to  $-27$  mV due to the lowering of  $Ca^{2+}$  content in mother solution rather than an increase of Ca/P molar ratio of dispersed phase. According to the data obtained, the electrokinetic properties of calcium phosphate particles are rather determined by their crystal structure than by Ca/P molar ratio.

**Keywords:** electrokinetic properties,  $\zeta$ -potential, colloid calcium phosphate, hydroxyapatite, tricalcium phosphate, dicalcium phosphate dihydrate, hydroxyapatite maturation

**For citation:** Glazov I. E., Malakhovsky P. O., Krut'ko V. K., Musskaya O. N., Kulak A. I. Electrokinetic properties of colloid calcium phosphate. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*, 2020, vol. 56, no. 4, pp. 419–428 (in Russian) <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-419-428>

**Введение.** Электрокинетические явления [1] определяют процессы образования биологических структур [2], в том числе костной ткани [3], а также взаимодействие биоматериалов с физиологической средой организма [4]. Поэтому значительное внимание уделяется исследованию электрокинетических свойств природных и синтетических фосфатов кальция, особенно гидроксиапатита (ГА), который является основным компонентом минеральной составляющей костной ткани [5].

В водной среде поверхность частиц апатитов представлена слоем подвижных гидратированных ионов [6]. Принято считать, что подвижность ионов поверхностного слоя определяет такие свойства апатитов, как высокая ионная проводимость. Состав поверхностного слоя частиц апатитов отличается от такового в объеме, поскольку меняется в зависимости от величины рН и ионного состава [7] дисперсионной среды. Изменение состава поверхностного слоя может привести к непредсказуемому смещению величины  $\zeta$ -потенциала частиц апатита, причем степень такого смещения зачастую зависит от времени предварительного выдерживания в среде измерения [8]. Изменение условий синтеза и выделения фосфатов кальция приводит к изменению структуры и состава поверхностного слоя и соответственно смещению величин  $\zeta$ -потенциалов [2].

Электрокинетические свойства природных и синтетических фосфатов кальция описаны в достаточно большом числе работ [9, 10], которые характеризуются невоспроизводимостью и взаимным несоответствием, что может быть связано с высокой чувствительностью значений  $\zeta$ -потенциалов к условиям синтеза, выделения и исследования. Следовательно, конкретные экспериментальные значения  $\zeta$ -потенциалов теряют свою ценность, в отличие от динамики изменения этих значений в разных условиях. На невоспроизводимость значений  $\zeta$ -потенциалов могут влиять различные приближения, такие как приближение о равномерном распределении поверхностных зарядов [9]. Например, в кристаллической структуре ГА  $a$ -плоскость несет положительный заряд, а  $c$ -плоскость – отрицательный, что обуславливает возможность притяжения частиц ГА с одинаковым суммарным зарядом за счет взаимодействия противоположно заряженных граней. Однако при измерении  $\zeta$ -потенциалов приближение о равномерном распределении зарядов является необходимым, поскольку электрофоретические методы анализа не позволяют изучать столь тонкие уровни распределения зарядов.

Известно, что поверхность частиц апатитов может иметь как положительный [11], так и отрицательный [12, 13] заряды во всем диапазоне рН стабильности ГА [4–11], что указывает на широкий диапазон возможных положений изоэлектрической точки (ИЭТ) [14]. В отсутствие неиндифферентных ионов, способных к сорбции на поверхности частиц фосфатов кальция, положение ИЭТ совпадает с положением точки нулевого заряда (ТНЗ), когда суммарный поверхностный заряд частицы равен нулю. Как правило, положение ИЭТ определяют с использованием электрофоретического анализа, а положение ТНЗ – потенциометрическим титрованием. Для апатитов имеются данные [10] о достижении ТНЗ при рН 4,7–8,2 и при рН 12,0, что указывает на достаточно сложный характер распределения поверхностных зарядов частиц фосфатов кальция.

Цель данной работы – систематическое исследование электрокинетических свойств гелей фосфатов кальция в различных средах, а также изучение динамики электрокинетических свойств ГА в ходе созревания.

**Экспериментальная часть.** Объектами исследования являлись 5–10 мас.% гели фосфатов кальция: дикальцийфосфат дигидрат  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (ДКФД, брушит) с рН 6,9; апатитный трикальцийфосфат (ТКФ)  $\text{Ca}_9\text{HPO}_4(\text{PO}_4)_5\text{OH}$  [15] с рН 7,4; стехиометрический ГА  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  с рН 7,2; гель ГА в различные (от 30 мин до 7 сут) промежутки времени созревания с рН 11,0.

Синтезы фосфатов кальция осуществляли по известным методикам [5, 16] из растворов  $\text{CaCl}_2$  и  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  при комнатной температуре. Осаждение ДКФД проводили при рН 6 и мольном соотношении Ca/P 1,00; ТКФ – при рН 9 и Ca/P 1,50; ГА – при рН 11 и Ca/P 1,67. После смешивания растворов реакционную смесь выдерживали 30 мин при перемешивании. Гели ДКФД и ТКФ отделяли от маточного раствора на фильтре и промывали дистиллированной водой, а осадок ГА выдерживали под маточным раствором в течение 7 сут и промывали декантацией до величины рН 7,0–7,2. Для их идентификации образцы высушивали при 60 °С и термообработывали при 800 °С.

Промежуточные фазы ГА выделяли в различные моменты выдерживания геля ГА под маточным раствором в течение от 30 мин до 7 сут. Для идентификации промежуточных фаз ГА аликвоту геля отделяли на фильтре, промывали дистиллированной водой до нейтрального значения рН, затем 2–3 раза этиловым спиртом и высушивали при 400 °С для обезвоживания и стабилизации химического состава фосфатов кальция [17].

Фосфаты кальция исследовали с помощью ИК-спектроскопии на ИК-Фурье-спектрометре Tensor-27 (Bruker, Германия) в диапазоне 400–4000  $\text{cm}^{-1}$  с использованием таблеток бромида

калия. Рентгенофазовый анализ (РФА) проводили на дифрактометре ADVANCE D8 (Bruker, Германия) при  $\text{CuK}\alpha$  1,5405 Å с использованием баз данных ICDD PDF-2.

Размер частиц и величину  $\zeta$ -потенциала измеряли методом динамического рассеяния света с использованием анализатора Zetasizer Nano-ZS (Malvern, Великобритания). Гели фосфатов кальция разбавляли в  $10^{-2}$  М среде измерения в объемном соотношении 2:100 и подвергали ультразвуковой обработке в ультразвуковой ванне (ПСБ-Галс, Россия) при 35 кГц в течение 2 мин. В качестве сред измерения использовали фосфатные буферы (pH 5,7; 6,4; 7,0; 7,9); карбонатный буфер (pH 9,3); раствор  $\text{NaNO}_3$  (величину pH регулировали с помощью  $\text{HNO}_3$  и  $\text{NaOH}$  от 5,0 до 9,0); трис/уксусная кислота (pH 7,5); глюконат кальция/трис/уксусная кислота (pH 7,5); модельный раствор Simulated Body Fluid (SBF, pH 7,4). Модельный раствор SBF, имитирующий ионный состав физиологической среды организма, готовили по известной методике [18].

**Результаты исследований и их обсуждение.** Синтезированные ГА и ТКФ после высушивания (рис. 1, а, кривые 1 и 2) на ИК-спектрах имеют характеристические полосы апатита при 1090, 1040, 956  $\text{cm}^{-1}$  и 603, 565, 472  $\text{cm}^{-1}$  валентных асимметричных, валентных симметричных и деформационных колебаний  $\text{PO}_4$  [15, 19]; при 3570 и 633  $\text{cm}^{-1}$  валентных и либрационных колебаний  $\text{OH}$ . На ИК-спектре ТКФ плечо полосы при 876  $\text{cm}^{-1}$  относится к валентному колебанию  $\text{PO}(\text{H})$ . Согласно полученным данным, состав образца ТКФ после высушивания можно описать формулой апатитного ТКФ [15]. Характеристические полосы ДКФД [20] представлены на

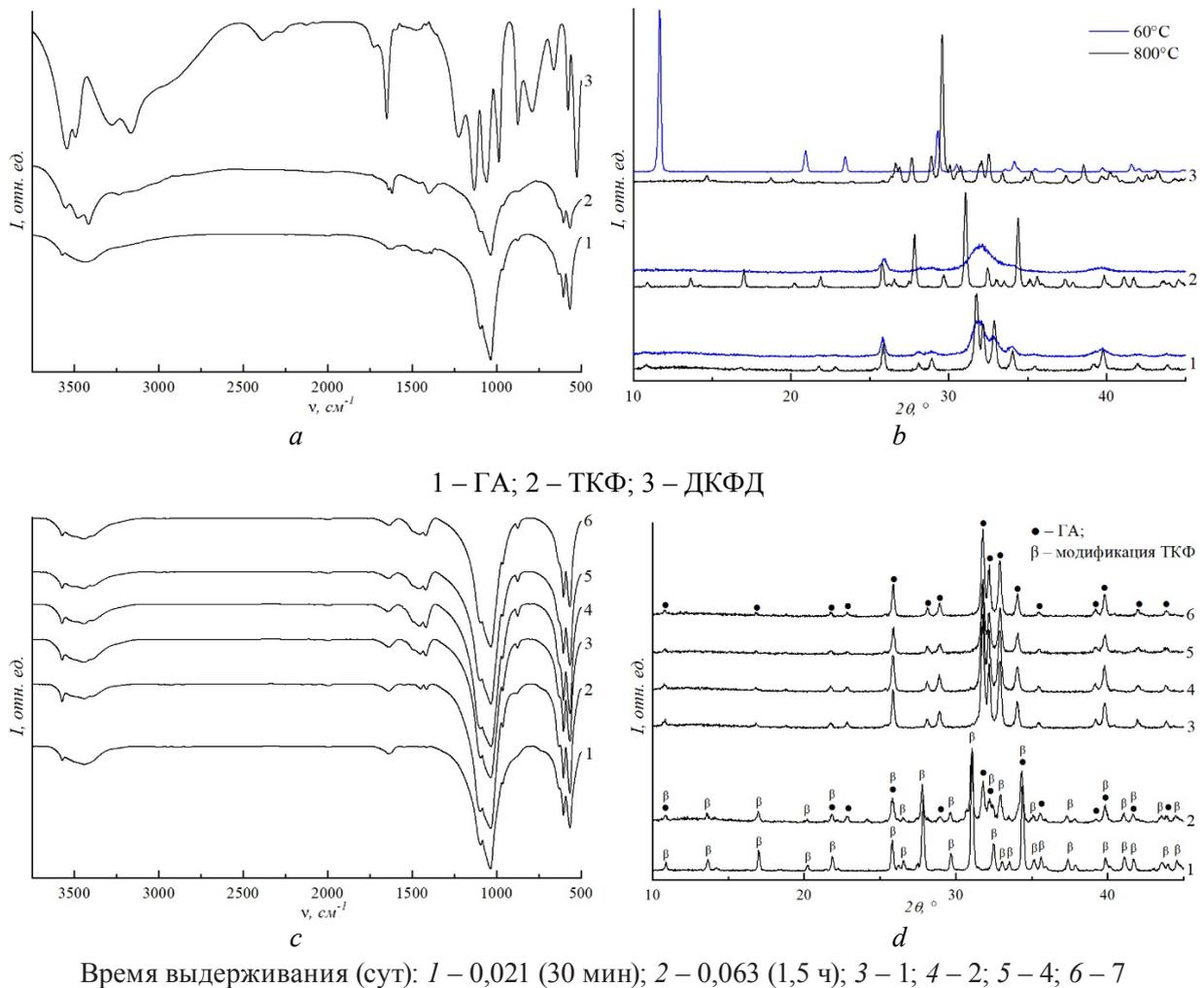


Рис. 1. ИК-спектры после 60 °С (а) и 400 °С (с) и дифрактограммы после 60 °С (b) и 800 °С (b, d) образцов фосфатов кальция (а, b) и промежуточных форм ГА (с, d)

Fig. 1. IR spectra after 60 °C (a) and 400 °C (c) and XRD patterns after 60 °C (b) and 800 °C (b, d) of the calcium phosphate samples (a, b) and hydroxyapatite intermediates (c, d)

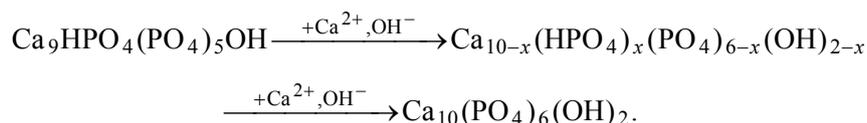
ИК-спектре (рис. 1, *a*, кривая 3) валентными и деформационными колебаниями (P)ОН при 2950 см<sup>-1</sup> (плечо) и 1222 см<sup>-1</sup>; валентными и деформационными колебаниями ОРО при 1127, 1060, 1006, 986 см<sup>-1</sup> и 665, 576, 526 см<sup>-1</sup>; валентными колебаниями РО(Н) при 876 см<sup>-1</sup>. Кристаллогидратная вода ДКФД представлена полосами валентных при 3545/3488 и 3276/3169 см<sup>-1</sup>, деформационных при 1651 см<sup>-1</sup> и либрационных при 795 см<sup>-1</sup> колебаний НОН.

По данным РФА, образцы ТКФ и ГА после высушивания представлены аморфизированным апатитом [15, 19] с размером кристаллитов 8–12 нм (рис. 1, *b*, кривые 1, 2), а дифрактограмма ДКФД содержит хорошо разрешенные рефлексы кристаллической фазы [21] с размером кристаллитов около 30 нм (рис. 1, *b*, кривая 3). Для определения мольного отношения Са/Р аморфизированных фаз и идентификации фосфатов кальция, образцы термообработывали при 800 °С в течение 5 ч [15]. После термообработки образцов происходила кристаллизация ГА [18] и превращение апатитного ТКФ в β-ТКФ Са<sub>3</sub>(РО<sub>4</sub>)<sub>2</sub> [15], а ДКФД – в β-пирофосфата кальция Са<sub>2</sub>Р<sub>2</sub>О<sub>7</sub> [22].

В процессе выдерживания ГА под маточным раствором на протяжении 7 сут отбирали аликвоты осадка и идентифицировали для установления изменения отношения Са/Р апатита. На ИК-спектрах промежуточных форм ГА (рис. 1, *c*) после прогрева при 400 °С наблюдали характеристические полосы апатита (3570, 1090, 1040, 956, 633, 603, 565, 472 см<sup>-1</sup>), что свидетельствует о преобладании апатитных фаз при созревании ГА. Установлено, что в первые сутки созревания осадка отношение Са/Р образцов отклонялось от стехиометрического (1,67), что подтверждается присутствием на ИК-спектрах полосы колебаний РОН (876 см<sup>-1</sup>) и полосы колебаний РОР (723 см<sup>-1</sup>), характерической для иона Р<sub>2</sub>О<sub>7</sub><sup>4-</sup> [23].

На дифрактограммах промежуточных форм ГА (рис. 1, *d*) после термообработки присутствовали рефлексы однофазного β-ТКФ (30 мин), смеси ГА/β-ТКФ (1,5 ч) и однофазного ГА (1–7 сут). Образование смеси ГА/β-ТКФ происходит в результате разложения нестехиометрического ГА Са<sub>10-x</sub>(НРО<sub>4</sub>)<sub>x</sub>(РО<sub>4</sub>)<sub>6-x</sub>(ОН)<sub>2-x</sub> [15], что согласуется с данными ИК-спектроскопии об отклонении отношения Са/Р апатита от стехиометрического.

Поскольку в начальный момент созревания образуется апатитный ТКФ (Са/Р 1,50), в маточном растворе остаются избыточные ионы Са<sup>2+</sup>, которые со временем способствуют увеличению отношения Са/Р в ГА. Полученные данные свидетельствуют, что процесс формирования структуры ГА сопровождается постепенным увеличением отношения Са/Р в соответствии со схемой превращений [15]:



По данным динамического рассеяния света, размер частиц геля ДКФД составляет 450–1400 нм, а после ультразвуковой обработки в течение 1 и 2 мин увеличивался до 450–3500 и 850–3100 нм соответственно. Частицы гелей апатитного ТКФ и ГА были представлены фракциями по размерам от 1000–4000 до 4000–8000 нм с преобладанием фракции мелких частиц. Размер частиц апатитов под действием ультразвука уменьшался: после 1 мин размер частиц составляет 270–2730 нм, а после 2 мин – 360–900 нм, что свидетельствует о разрушении агломератов частиц апатитов и уменьшении распределения частиц по размерам.

Установлено, что в неиндифферентных средах средние значения ζ-потенциалов фосфатов кальция принимали значения от –29 до +10 мВ (рис. 2). В фосфатном буфере и в растворе NaNO<sub>3</sub>/NaOH наблюдаемые величины имели отрицательные значения (от –29 до –8 мВ), что связано со специфической адсорбцией анионов (Н<sub>2</sub>РО<sub>4</sub><sup>-</sup>, НРО<sub>4</sub><sup>2-</sup>, ОН<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) частицами фосфатов кальция. Причем наибольшее влияние на ζ-потенциалы частиц оказывали ионы НРО<sub>4</sub><sup>2-</sup>, Н<sub>2</sub>РО<sub>4</sub><sup>-</sup>, которые входят в состав фосфатного буфера. В среде глюконат кальция/трис наблюдали положительные ζ-потенциалы частиц (около +6 мВ), что свидетельствует о выраженной способности фосфатов кальция к адсорбции катионов Са<sup>2+</sup>. Преимущественную адсорбцию катионов частицами фосфатов кальция наблюдали также в растворе SBF (от +8 до +10 мВ), который содержит большое количество различных ионов (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Са<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup>, НСО<sub>3</sub><sup>-</sup>, НРО<sub>4</sub><sup>2-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) в физиологических концентрациях. Известно, что процесс формирования минеральной составляющей костной ткани

человека – биогенного апатита (Ca/P 1,64–1,69) включает в себя промежуточное образование ДКФД и апатитного ТКФ [24]. Поэтому увеличение соотношения Ca/P при образовании биогенного апатита может быть связано с предпочтительной адсорбцией катионов частицами фосфатов кальция, которая наблюдалась экспериментально.

Значения  $\zeta$ -потенциалов ДКФД в неиндифферентных средах сдвинуты в положительную область на 2–9 мВ относительно таковых для ГА (рис. 2), что указывает на меньшую способность ДКФД к адсорбции анионов и в большую – к адсорбции катионов. В случае ТКФ отличия от ГА в различных средах носят неявный характер и разница между величинами  $\zeta$ -потенциалов невелика (1–3 мВ), что может свидетельствовать о незначительном влиянии соотношения Ca/P на электрокинетические свойства апатитов. Полученные данные могут указывать на зависимость величины  $\zeta$ -потенциалов частиц фосфатов кальция от их кристаллической структуры, которая значительно отличается у апатитов с ДКФД [25].

Предпочтительная адсорбция частицами фосфатов кальция ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$  может быть связана с образованием нерастворимого поверхностного соединения предположительно нестехиометрического ГА с  $\text{PR} \approx 85\text{--}117$  [25]. Устойчивость поверхностных соединений позволяет объяснить способность частиц фосфатов кальция к адсорбции некоторых ионов [26], однако является не единственным параметром, определяющим адсорбируемость ионов. При измерении в растворах хлоридов с pH 5–9 для порошков апатитов наблюдали отрицательные значения  $\zeta$ -потенциалов [13, 27]. В нашем случае возможность адсорбции ионов  $\text{Cl}^-$  может быть обусловлена не образованием прочных поверхностных соединений, а замещением OH-групп в решетке ГА с образованием хлорзамещенного апатита  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_{2-x}\text{Cl}_x$  [28].

Экспериментальные данные о предпочтительной адсорбции ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$  на поверхности частиц ГА подтверждаются результатами работы [2], где в качестве среды измерения использовали трис/бис-трис/HCl, традиционно используемую для работы в физиологическом диапазоне pH [29]. Однако относительно ГА выбранная система является неиндифферентной из-за содержащихся ионов  $\text{Cl}^-$ , вследствие чего возможно смещение положения ИЭТ относительно положения ТНЗ. В рамках данной работы в качестве индифферентной среды использовали среду трис/уксусная кислота с pH 7,5 (рис. 2). В случае ГА  $\zeta$ -потенциал примерно равен нулю, что указывает на достижение ТНЗ, а для ДКФД и ТКФ получены небольшие отрицательные значения (от -4 до -2 мВ), что может быть обусловлено частичной ионизацией поверхностных  $\text{HPO}_4$ -групп и присутствием остаточных ионов  $\text{Cl}^-$  в составе гелей после фильтрования. Экспериментально полученное отрицательное значение  $\zeta$ -потенциала частиц апатитного ТКФ, который по составу незначительно отличается от ГА, может определяться способом его выделения. Полученные данные согласуются с рядом исследований [30, 31], в которых методами электрофоретического анализа и потенциометрического титрования достигали ТНЗ апатитов при pH 7,3–7,6. Аналогичные экспериментальные значения  $\zeta$ -потенциалов частиц фосфатов кальция мы наблюдали при измерениях в дистиллированной воде, что может свидетельствовать в пользу индифферентности среды трис/уксусная кислота относительно фосфатов кальция.

В растворах  $\text{NaNO}_3$  с pH 5,0–9,0, значения  $\zeta$ -потенциалов частиц ГА составляли от -11 до +3 мВ (рис. 3). В данном случае потенциалопределяющими являлись не только ионы  $\text{H}^+/\text{OH}^-$ , но и  $\text{NO}_3^-$ , которые могут адсорбироваться частицами апатитов [31]. Показано, что в присутствии ионов  $\text{NO}_3^-$  положение ИЭТ частиц ГА находится в диапазоне 5–6.

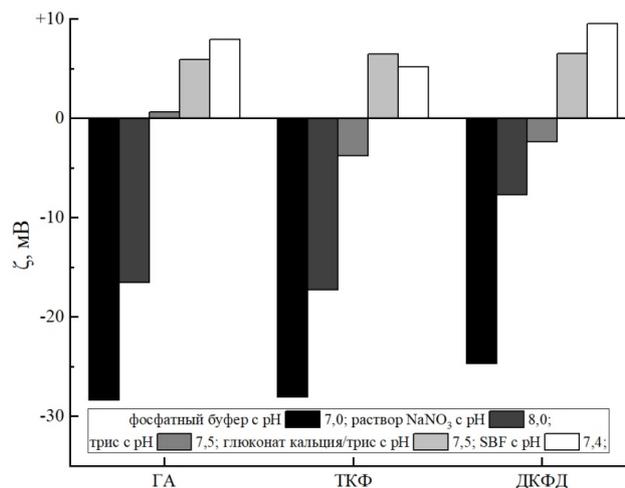


Рис. 2. Средние значения  $\zeta$ -потенциалов частиц фосфатов кальция, измеренные в различных средах с pH 7,0–8,0

Fig. 2. Average  $\zeta$ -potentials of calcium phosphate particles measured in different media with pH 7.0–8.0

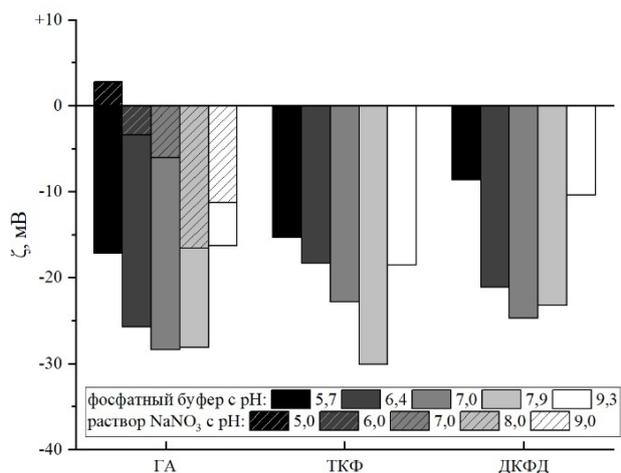


Рис. 3. Средние значения  $\zeta$ -потенциалов частиц фосфатов кальция, измеренные в растворах  $\text{NaNO}_3$  с pH 5,0–9,0 и буферных системах с pH 5,7–9,3

Fig. 3. Average  $\zeta$ -potentials of calcium phosphate particles measured in  $\text{NaNO}_3$  solutions with pH 5.0–9.0 and buffer systems with pH 5.7–9.3

относительно таковых для ГА, что подтверждает данные о сниженной способности ДКФД к адсорбции анионов  $\text{OH}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ . Для образца ТКФ величины  $\zeta$ -потенциалов при pH 5,7–7,0 смещены в положительную область (на 2–7 мВ), а при pH 7,9 и 9,3 – в отрицательную (на 2 мВ) относительно таковых для стехиометрического ГА, что может быть связано с различием способов выделения образцов.

Электрокинетические свойства промежуточных форм ГА исследовали в среде трис/уксусная кислота, а также в фосфатных и карбонатном буферах с pH 5,7–9,3 (рис. 4, а). Вследствие высокого значения pH среды формирования ГА происходило преодоление буферной емкости среды

В фосфатных и карбонатной буферных системах с pH 5,7–9,3 значения  $\zeta$ -потенциалов фосфатов кальция изменяются от –9 до –29 мВ (рис. 3), что свидетельствуют об адсорбции анионов  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{OH}^-$  на поверхности частиц. Поскольку при pH 5,7 в жидкой фазе преобладает ион  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  [33], частицы имели минимальный по абсолютной величине заряд поверхности. При большем значении pH в среде измерения повышается концентрация  $\text{HPO}_4^{2-}$ , и значения  $\zeta$ -потенциалов частиц смещались в отрицательную область. Уменьшение абсолютных значений  $\zeta$ -потенциалов частиц фосфатов кальция при переходе от фосфатного буфера с pH 7,9 к карбонатному с pH 9,3 может быть связано с заменой  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  на  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ , которые обладают меньшей способностью к адсорбции на поверхности частиц. При постоянном значении pH  $\zeta$ -потенциалы ДКФД сдвинуты в положительную область на 3–9 мВ

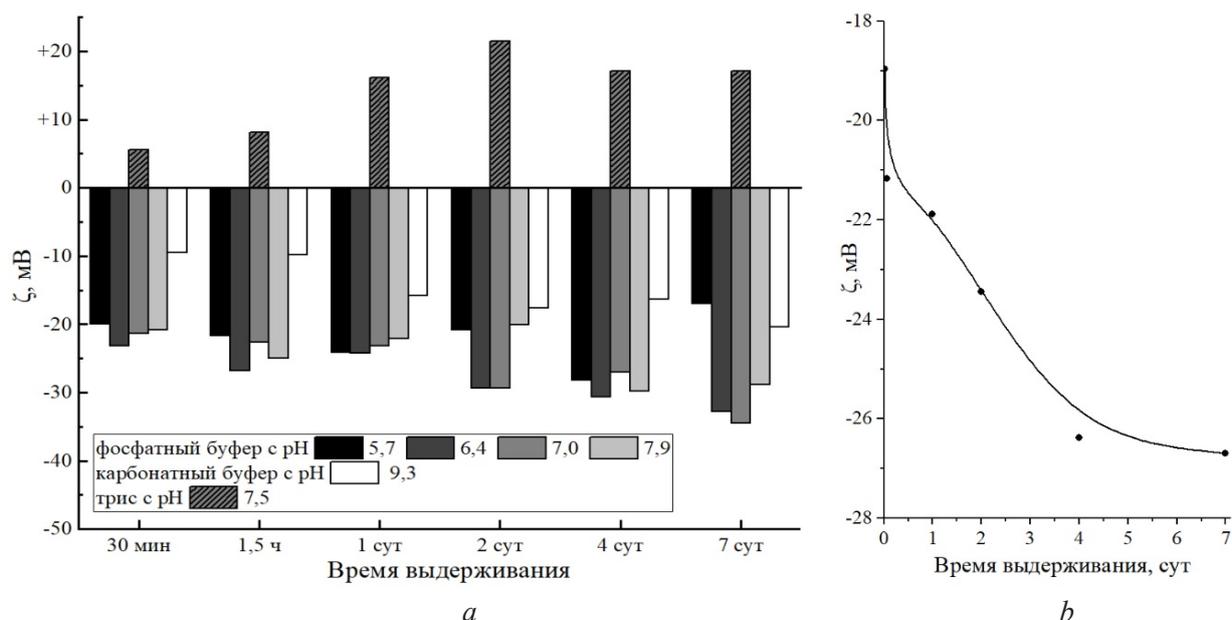


Рис. 4. Средние  $\zeta$ -потенциалы частиц промежуточных форм ГА, измеренные в различных средах (а); изменение усредненной величины  $\zeta$ -потенциалов в буферных системах с pH 5,7–9,3 в процессе созревания ГА (б)

Fig. 4. Average  $\zeta$ -potentials of particles of hydroxyapatite intermediates measured in different media (a); change in the averaged  $\zeta$ -potentials in buffer systems with pH 5.7–9.3 during hydroxyapatite maturation (b)

трис/уксусная кислота и рН среды измерения возрастал до 9,0. Помимо ионов  $\text{OH}^-$  и компонентов среды измерения, в жидкой фазе присутствовали ионы  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ , причем содержание ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{OH}^-$  уменьшалось со временем. Показано, что в среде трис/уксусная кислота значения  $\zeta$ -потенциалов составляли от +8 до +22 мВ, что в целом превышает таковые для стехиометрического ГА в среде глюконат кальция/трис (рис. 2). Сдвиг  $\zeta$ -потенциалов в положительную область может быть связан с повышенной концентрацией ионов  $\text{NH}_4^+$  у поверхности частиц ГА, что обусловлено возможностью инкорпорации  $\text{NH}_4^+$  в решетку апатита [34]. Величина  $\zeta$ -потенциала частиц промежуточных форм ГА постепенно возрастала до +20 мВ, а после 2 сут незначительно уменьшалась и на 4-е сутки достигала равновесного значения +17 мВ (рис. 4, а).

В начальный момент выдерживания осадка ГА под маточным раствором потенциалопределяющими являлись избыточные ионы  $\text{Ca}^{2+}$ , адсорбция которых на поверхности частиц фосфатов кальция более предпочтительна по отношению к адсорбции  $\text{NH}_4^+$ . В процессе созревания содержание ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в маточном растворе уменьшалось и на конечной стадии созревания (4–7 сут) потенциалопределяющими являлись ионы  $\text{NH}_4^+$ .

В неиндифферентных буферных средах с рН 5,7–9,3 (рис. 4, а) значения  $\zeta$ -потенциалов частиц промежуточных форм ГА при увеличении рН изменялись по тем же законам, что и в случае стехиометрического ГА (рис. 2, б). Вследствие преодоления буферной емкости и возрастания значения рН среды осаждения увеличивалось содержание ионов  $\text{HPO}_4^{2-}$  и  $\text{OH}^-$ . Изменение средних величин  $\zeta$ -потенциалов (рис. 4, а) носит неявный характер, что может быть связано с непостоянным во времени составом среды. Установлено, что усредненная величина  $\zeta$ -потенциалов частиц промежуточных форм ГА в буферных системах с рН 5,7–9,3 в процессе созревания смещается в отрицательную область от –19 до –27 мВ (рис. 4, б). Поскольку отношение Ca/P незначительно влияет на электрокинетические свойства апатитов, наблюдаемое увеличение абсолютных значений  $\zeta$ -потенциалов частиц может быть связано с постепенным уменьшением содержания ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в маточном растворе.

**Выводы.** Электрокинетические свойства гелей фосфатов кальция в различных средах свидетельствуют о способности фосфатов кальция к адсорбции катионов  $\text{H}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  и анионов  $\text{OH}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ . Значения  $\zeta$ -потенциалов ДКФД смещены на 3–9 мВ в положительную область относительно таковых для ГА, что обусловлено различной кристаллической структурой. Разница величин  $\zeta$ -потенциалов частиц ТКФ и ГА незначительна (1–3 мВ) из-за их апатитовой природы. В индифферентной среде положение ИЭТ стехиометрического ГА совпадает с положением ТНЗ и составляет 7,4–7,5. Согласно полученным данным, в процессе созревания ГА абсолютные значения  $\zeta$ -потенциалов частиц постепенно увеличиваются, что связано с уменьшением концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в маточном растворе. Таким образом, электрокинетические свойства частиц фосфатов кальция в большей степени определяются их кристаллической структурой и в меньшей – Ca/P соотношением.

**Благодарности.** Работа выполнена при поддержке задания 1.04 ГПНИ «Химические технологии и материалы» и проекта ГКНТ № X19ИНДГ-003.

**Acknowledgements.** The work was supported by the SPSP “Chemical technologies and materials” (Task 1.04) and the State Committee for Science and Technology of the Republic of Belarus under the Belarus-India Joint project (grant number X19INDG-003).

### Список использованных источников

1. Measurement and interpretation of electrokinetic phenomena / A. V. Delgado [et al.] // Journal of colloid and interface science. – 2007. – Vol. 309, N 2. – P. 194–224.
2. Dynamic light scattering and zeta potential of colloidal mixtures of amelogenin and hydroxyapatite in calcium and phosphate rich ionic milieus / V. Uskoković [et al.] // Archives of oral biology. – 2011. – Vol. 56, N 6. – P. 521–532. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2010.11.011>
3. Meyer, U. Principles of bone formation driven by biophysical forces in craniofacial surgery / U. Meyer, B. Kruse-Lösler, H. P. Wiesmann // British J. Oral Maxill. Surg. – 2006. – Vol. 44, N 4. – P. 289–295. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2005.06.026>
4. Surface properties of biomimetic nanocrystalline apatites; applications in biomaterials / C. Rey [et al.] // Prog. Cryst. Growth Char. Mater. – 2014. – Vol. 60. – P. 63–73. <https://doi.org/10.1016/j.pcrysgrow.2014.09.005>

5. Synthesis, identification and determination of impurities in bioactive hydroxyapatite / V. K. Tsuber [et al.] // *Pharm. Chem. J.* – 2006. – Vol. 40, N 8. – P. 455–458. <https://doi.org/10.1007/s11094-006-0151-2>
6. Adaptative physico-chemistry of bio-related calcium phosphates / S. Cazalbou [et al.] // *J. Mater. Chem.* – 2004. – Vol. 14, N 14. – P. 2148–2153. <https://doi.org/10.1039/b401318b>
7. Phase transformations, ion-exchange, adsorption, and dissolution processes in aquatic fluorapatite systems / Å. Bengtsson [et al.] // *Langmuir.* – 2009. – Vol. 25, N 4. – P. 2355–2362. <https://doi.org/10.1021/la803137u>
8. Somasundaran, P. Zeta potential of apatite in aqueous solutions and its change during equilibration / P. Somasundaran // *J. Colloid Interface Sci.* – 1968. – Vol. 27, N 4. – P. 659–666. [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(68\)90098-2](https://doi.org/10.1016/0021-9797(68)90098-2)
9. Uskoković, V. Dynamic light scattering based microelectrophoresis: main prospects and limitations / V. Uskoković // *J. Disp. Sci. Tech.* – 2012. – Vol. 33, N 12. – P. 1762–1786. <https://doi.org/10.1080/01932691.2011.625523>
10. Apatite enrichment by rare earth elements: a review of the effects of surface properties / C. L. Owens [et al.] // *Adv. Colloid Interface Sci.* – 2019. – Vol. 265. – P. 14–28. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.01.004>
11. Borisov, V. M. Method of physicochemical assessment of interaction of reagents with the surface of mineral grains in flotation / V. M. Borisov // *Khim. Prom.* – 1954. – Vol. 19. – P. 336–338.
12. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanorods in the presence of sodium citrate and its aqueous colloidal stability evaluation in neutral pH / X. Jin [et al.] // *J. Colloid Interface Sci.* – 2015. – Vol. 443. – P. 125–130. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.12.010>
13. Knowles, J. C. Characterisation of the rheological properties and zeta potential of a range of hydroxyapatite powders / J. C. Knowles, S. Callcut, G. Georgiou // *Biomaterials.* – 2000. – Vol. 21, N 13. – P. 1387–1392.
14. Isoelectric point and adsorption activity of porous g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> / B. Zhu [et al.] // *Appl. Surf. Sci.* – 2015. – Vol. 344. – P. 188–195. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(00\)00032-6](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(00)00032-6)
15. Synthesis, characterization and thermal behavior of apatitic tricalcium phosphate / A. Destainville [et al.] // *Mater. Chem. Phys.* – 2003. – Vol. 80, N 1. – P. 269–277. [https://doi.org/10.1016/s0254-0584\(02\)00466-2](https://doi.org/10.1016/s0254-0584(02)00466-2)
16. Preparation of bioactive mesoporous calcium phosphate granules / O. N. Musskaya [et al.] // *Inorg. Mater.* – 2018. – Vol. 54, N 2. – P. 117–124. <https://doi.org/10.1134/s0020168518020115>
17. Combes, C. Amorphous calcium phosphates: synthesis, properties and uses in biomaterials / C. Combes, C. Rey // *Acta Biomater.* – 2010. – Vol. 6, N 9. – P. 3362–3378. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.02.017>
18. Kokubo, T. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? / T. Kokubo, H. Takadama // *Biomater.* – 2006. – Vol. 27, N 15. – P. 2907–2915. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.017>
19. Koutsopoulos, S. Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: a review study on the analytical methods / S. Koutsopoulos // *J. Biomed. Mater. Res.* – 2002. – Vol. 62, N 4. – P. 600–612. <https://doi.org/10.1002/jbm.10280>
20. Infra-red investigation of dicalcium phosphates / I. Petrov [et al.] // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy.* – 1967. – Vol. 23, N 10. – P. 2637–2646. [https://doi.org/10.1016/0584-8539\(67\)80155-7](https://doi.org/10.1016/0584-8539(67)80155-7)
21. Tas, A. C. Chemical processing of CaHPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O: its conversion to hydroxyapatite / A. C. Tas, S. B. Bhaduri // *J. Am. Ceram. Soc.* – 2004. – Vol. 87, N 12. – P. 2195–2200. <https://doi.org/10.1111/j.1151-2916.2004.tb07490.x>
22. Corrêa, T. H. A. Calcium pyrophosphate powder derived from avian eggshell waste / T. H. A. Corrêa, J. N. F. Holanda // *Cerâmica.* – 2016. – Vol. 62, N 363. – P. 278–280. <https://doi.org/10.1590/0366-69132016623631986>
23. New data on Zn<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> phase transformations / M. A. Petrova [et al.] // *J. Sol. State Chem.* – 1995. – Vol. 119, N 2. – P. 219–223. [https://doi.org/10.1016/0022-4596\(95\)80035-n](https://doi.org/10.1016/0022-4596(95)80035-n)
24. Sakae, T. Historical review of biological apatite crystallography / T. Sakae, H. Nakada, J. P. LeGeros // *J. Hard Tiss. Biol.* – 2015. – Vol. 24, N 2. – P. 111–122. <https://doi.org/10.2485/jhtb.24.111>
25. Dorozhkin, S. V. Calcium orthophosphates (CaPO<sub>4</sub>): occurrence and properties / S. V. Dorozhkin // *Progr. Biomater.* – 2016. – Vol. 5, N 1. – P. 9–70. <https://doi.org/10.1007/s40204-015-0045-z>
26. Lide, D. R. CRC handbook of chemistry and physics: a ready-reference book of chemical and physical data / D. R. Lide – 89th ed. – Boca Raton: CRC press, 2008–2009.
27. Fahami, A. Synthesis, bioactivity and zeta potential investigations of chlorine and fluorine substituted hydroxyapatite / A. Fahami, G. W. Beal, T. Betancourt // *Mater. Sci. Eng.: C.* – 2016. – Vol. 59. – P. 78–85. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.10.002>
28. Hitmi, N. OH<sup>-</sup> reorientability in hydroxyapatites: effect of F<sup>-</sup> and Cl<sup>-</sup> / N. Hitmi, C. LaCabanne, R. A. Young // *J. Phys. Chem. Sol.* – 1988. – Vol. 49, N 5. – P. 541–550. [https://doi.org/10.1016/0022-3697\(88\)90065-0](https://doi.org/10.1016/0022-3697(88)90065-0)
29. Durst, R. A. Tris/Tris·HCl: a standard buffer for use in the physiologic pH range / R. A. Durst, B. R. Staples // *Clin. Chem.* – 1972. – Vol. 18, N 3. – P. 206–208. <https://doi.org/10.1093/clinchem/18.3.206>
30. Bell, L. C. The point of zero charge of hydroxyapatite and fluorapatite in aqueous solutions / L. C. Bell, A. M. Posner, J. P. Quirk // *J. Colloid Interface Sci.* – 1973. – Vol. 42, N 2. – P. 250–261. [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(73\)90288-9](https://doi.org/10.1016/0021-9797(73)90288-9)
31. Barros, L. A. F. Floatability of apatites and gangue minerals of an igneous phosphate ore / L. A. F. Barros, E. E. Ferreira, A. E. C. Peres // *Mineral. Eng.* – 2008. – Vol. 21, N 12–14. – P. 994–999. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2008.04.012>
32. Adsorption of Ni<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> from aqueous solutions by nanostructured microfibrillated cellulose modified with carbonated hydroxyapatite / S. Hokkanen [et al.] // *Chem. Eng. J.* – 2014. – Vol. 252. – P. 64–74. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.04.101>
33. Phosphoric acid and phosphates / K. Schrödter [et al.] // *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry.* – 2000. [https://doi.org/10.1002/14356007.a19\\_465.pub3](https://doi.org/10.1002/14356007.a19_465.pub3)
34. Vignoles, M. Occurrence of nitrogenous species in precipitated B-type carbonated hydroxyapatites / M. Vignoles, G. Bonel, R. A. Young // *Calcif. Tissue Int.* – 1987. – Vol. 40, N 2. – P. 64–70. <https://doi.org/10.1007/bf02555707>

## References

1. Delgado A. V., González-Caballero F., Hunter R. J., Koopal L. K., Lyklema J. Measurement and interpretation of electrokinetic phenomena. *Journal of colloid and interface science*, 2007, vol. 309, no. 2, pp. 194–224.
2. Uskoković V., Odsinada R., Djordjevic S., Habelitz S. Dynamic light scattering and zeta potential of colloidal mixtures of amelogenin and hydroxyapatite in calcium and phosphate rich ionic milieus. *Archives of oral biology*, 2011, vol. 56, no. 6, pp. 521–532. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2010.11.011>
3. Meyer U., Kruse-Lösler B., Wiesmann H. P. Principles of bone formation driven by biophysical forces in craniofacial surgery. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2006, vol. 44, no. 4, pp. 289–295. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2005.06.026>
4. Rey C., Combes C., Drouet C., Cazalbou S., Grossin D., Brouillet F., Sarda S. Surface properties of biomimetic nanocrystalline apatites; applications in biomaterials. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*, 2014, vol. 60, pp. 63–73. <https://doi.org/10.1016/j.pcrysgrow.2014.09.005>
5. Tsuber V. K., Lesnikovich L. A., Kulak A. I., Trofimova I. V., Petrov P. T., Trukhacheva T. V., Kovalenko Y. D., Krasil'nikova V. L. Synthesis, identification and determination of impurities in bioactive hydroxyapatite. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2006, vol. 40, no. 8, pp. 455–458. <https://doi.org/10.1007/s11094-006-0151-2>
6. Cazalbou S., Combes C., Eichert D., Rey C. Adaptive physico-chemistry of bio-related calcium phosphates, *Journal of Materials Chemistry*, 2004, vol. 14, no. 14, pp. 2148–2153. <https://doi.org/10.1039/b401318b>
7. Bengtsson Å., Shchukarev A., Persson P., Sjöberg S. Phase transformations, ion-exchange, adsorption, and dissolution processes in aquatic fluorapatite systems. *Langmuir*, 2009, vol. 25, no. 4, pp. 2355–2362. <https://doi.org/10.1021/la803137u>
8. Somasundaran P. Zeta potential of apatite in aqueous solutions and its change during equilibration, *Journal of Colloid and Interface Science*, 1968, vol. 27, no. 4, pp. 659–666. [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(68\)90098-2](https://doi.org/10.1016/0021-9797(68)90098-2)
9. Uskoković V. Dynamic light scattering based microelectrophoresis: main prospects and limitations. *Journal of dispersion science and technology*, 2012, vol. 33, no. 12, pp. 1762–1786. <https://doi.org/10.1080/01932691.2011.625523>
10. Owens C. L., Nash G. L., Hadler K., Fitzpatrick R. S., Anderson C. G., Wall F. Apatite enrichment by rare earth elements: a review of the effects of surface properties. *Advances in colloid and interface science*, 2019, vol. 265, pp. 14–28. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.01.004>
11. Zhu B., Xia P., Ho W. Isoelectric point and adsorption activity of porous g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>. *Applied Surface Science*, 2015, vol. 344, pp. 188–195.
12. Borisov V. M. Method of physicochemical assessment of interaction of reagents with the surface of mineral grains in flotation. *Khimicheskaya Promyshlennost*, 1954, vol. 19, pp. 336–338.
13. Jin X., Zhuang J., Zhang Z., Guo H., Tan J. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanorods in the presence of sodium citrate and its aqueous colloidal stability evaluation in neutral pH. *Journal of colloid and interface science*, 2015, vol. 443, pp. 125–130. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.12.010>
14. Knowles J.C., Callcut S., Georgiou G. Characterisation of the rheological properties and zeta potential of a range of hydroxyapatite powders. *Biomaterials*, 2000, vol. 21, no. 13, pp. 1387–1392. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(00\)00032-6](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(00)00032-6)
15. Destainville A., Champion E., Bernache-Assollant D., Laborde D. Synthesis, characterization and thermal behavior of apatitic tricalcium phosphate. *Materials Chemistry and Physics*, 2003, vol. 80, no. 1, pp. 269–277. [https://doi.org/10.1016/s0254-0584\(02\)00466-2](https://doi.org/10.1016/s0254-0584(02)00466-2)
16. Musskaya O. N., Kulak A. I., Krut'ko V. K., Lesnikovich Yu. A., Kazbanov V. V., Zhitkova N. S. Preparation of bioactive mesoporous calcium phosphate granules. *Inorganic Materials*, 2018, vol. 54, no. 2, pp. 117–124. <https://doi.org/10.1134/s0020168518020115>
17. Combes C., Rey C. Amorphous calcium phosphates: synthesis, properties and uses in biomaterials. *Acta biomaterialia*, 2010, vol. 6, no. 9, pp. 3362–3378. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.02.017>
18. Kokubo T., Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*, 2006, vol. 27, no. 15, pp. 2907–2915. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.017>
19. Koutsopoulos S. Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: a review study on the analytical methods. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2002, vol. 62, no. 4, pp. 600–612. <https://doi.org/10.1002/jbm.10280>
20. Petrov I., Šoptrajanov B., Fuson N., Lawson J. R. Infra-red investigation of dicalcium phosphates. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy*, 1967, vol. 23, no. 10, pp. 2637–2646. [https://doi.org/10.1016/0584-8539\(67\)80155-7](https://doi.org/10.1016/0584-8539(67)80155-7)
21. Tas A. C., Bhaduri S. B. Chemical processing of CaHPO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O: its conversion to hydroxyapatite. *Journal of American Ceramic Society*, 2004, vol. 87, no. 12, p. 2195–2200. <https://doi.org/10.1111/j.1151-2916.2004.tb07490.x>
22. Corrêa T. H. A., Holanda J. N. F. Calcium pyrophosphate powder derived from avian eggshell waste, *Cerâmica*, 2016, vol. 62, no. 363, pp. 278–280. <https://doi.org/10.1590/0366-69132016623631986>
23. Petrova M. A., Shitova V. I., Mikirticheva G. A., Popova V. F., Malshikov A. E. New data on Zn<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> phase transformations. *Journal of Solid State Chemistry*, 1995, vol. 119, no. 2, pp. 219–223. [https://doi.org/10.1016/0022-4596\(95\)80035-n](https://doi.org/10.1016/0022-4596(95)80035-n)
24. Sakae T., Nakada H., LeGeros J. P. Historical review of biological apatite crystallography. *Journal of Hard Tissue Biology*, 2015, vol. 24, no. 2, pp. 111–122. <https://doi.org/10.2485/jhtb.24.111>
25. Dorozhkin S. V. Calcium orthophosphates (CaPO<sub>4</sub>): occurrence and properties. *Progress in biomaterials*, 2016, vol. 5, no. 1, pp. 9–70. <https://doi.org/10.1007/s40204-015-0045-z>
26. Lide D. R. CRC handbook of chemistry and physics: a ready-reference book of chemical and physical data, 89<sup>th</sup> ed, CRC press, 2008–2009.

27. Fahami A., Beall G. W., Betancourt T. Synthesis, bioactivity and zeta potential investigations of chlorine and fluorine substituted hydroxyapatite. *Materials Science and Engineering: C*, 2016, vol. 59, pp. 78–85. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.10.002>
28. Hitmi N., LaCabanne C., Young R. A. OH<sup>-</sup> reorientability in hydroxyapatites: effect of F<sup>-</sup> and Cl<sup>-</sup>. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 1988, vol. 49, no. 5, pp. 541–550. [https://doi.org/10.1016/0022-3697\(88\)90065-0](https://doi.org/10.1016/0022-3697(88)90065-0)
29. Durst R. A., Staples B. R. Tris/Tris·HCl: a standard buffer for use in the physiologic pH range. *Clinical Chemistry*, 1972, vol. 18, no. 3, pp. 206–208. <https://doi.org/10.1093/clinchem/18.3.206>
30. Bell L. C., Posner A. M., Quirk J. P. The point of zero charge of hydroxyapatite and fluorapatite in aqueous solutions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1973, vol. 42, no. 2, pp. 250–261. [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(73\)90288-9](https://doi.org/10.1016/0021-9797(73)90288-9)
31. Barros L. A. F., Ferreira E. E., Peres A. E. C. Floatability of apatites and gangue minerals of an igneous phosphate ore. *Minerals Engineering*, 2008, vol. 21, no. 12–14, pp. 994–999. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2008.04.012>
32. Hokkanen S., Repo E., Westholm L. J., Lou S., Sainio T., Sillanpää M. Adsorption of Ni<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> from aqueous solutions by nanostructured microfibrillated cellulose modified with carbonated hydroxyapatite. *Chemical Engineering Journal*, 2014, vol. 252, pp. 64–74. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.04.101>
33. Schrödter K., Bettermann G., Staffel T., Wahl F., Klein T., Hofmann T. Phosphoric acid and phosphates, *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*, 2000. [https://doi.org/10.1002/14356007.a19\\_465.pub3](https://doi.org/10.1002/14356007.a19_465.pub3)
34. Vignoles M., Bonel G., Young R. A. Occurrence of nitrogenous species in precipitated B-type carbonated hydroxyapatites. *Calcifiedtissueinternational*, 1987, vol. 40, no. 2, pp. 64–70. <https://doi.org/10.1007/bf02555707>

### Информация об авторах

Глазов Илья Евгеньевич – мл. науч. сотрудник. Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: che.glazov@mail.ru

Малаховский Павел Олегович – мл. науч. сотрудник. Научно-исследовательский институт физико-химических проблем Белорусского государственного университета (ул. Ленинградская, 14, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: pashkamusic@gmail.com

Крутько Валентина Константиновна – канд. хим. наук, доцент, зав. лаб. Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: tsuber@igic.bas-net.by

Мусская Ольга Николаевна – канд. хим. наук, доцент, ст. науч. сотрудник. Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: musskaja@igic.bas-net.by

Кулак Анатолий Иосифович – член-корреспондент, д-р хим. наук, профессор, директор Института общей и неорганической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kulak@igic.bas-net.by

### Information about the authors

Ilya E. Glazov – Junior Researcher. Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: che.glazov@mail.ru

Pavel O. Malakhovsky – Junior Researcher. Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: pashkamusic@gmail.com

Valentina K. Krut'ko – Ph. D. (Chemistry), Associate Professor, Head of the Laboratory. Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tsuber@igic.bas-net.by

Olga N. Musskaya – Ph. D. (Chemistry), Associate Professor, Senior Researcher. Institute of General and Inorganic Chemistry, of the National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Surganova Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: musskaja@igic.bas-net.by

Anatoly I. Kulak – Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Belarus, D. Sc. (Chemistry), Professor, Director of the Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kulak@igic.bas-net.by

ISSN 1561-8331 (Print)

ISSN 2524-2342 (Online)

УДК 544.23.022.03:544.353

<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-429-433>

Поступила в редакцию 27.05.2020

Received 27.05.2020

**Е. В. Воробьёва**

*Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь*

### **ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И СОЛЮБИЛИЗИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ВОДОРАСТВОРИМЫХ КОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИАКРИЛАМИДА И ПОЛИКИСЛОТ**

**Аннотация.** Методами вискозиметрии и потенциометрии изучено взаимодействие полиакриламида и поликислот с различной гидрофобностью (полиакриловая, полиметакриловая, сополимер метакриловой кислоты с  $\alpha$ -пиненом) в кислой среде (рН 2,5–3,5) и определен состав образующихся полимерных комплексов. Показана зависимость солюбилизирующей способности полимерных комплексов от гидрофобности поликислот, концентрации полимеров и типа солюбилизиата.

**Ключевые слова:** полимерный комплекс, солюбилизация, солюбилизиат, дифильность молекул, ассоциаты, гидрофобное взаимодействие

**Для цитирования.** Воробьёва, Е. В. Физико-химические и солюбилизирующие свойства водорастворимых комплексов на основе полиакриламида и поликислот / Е. В. Воробьёва // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2020. – Т. 56, № 4. – С. 429–433. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-429-433>

**E. V. Vorobieva**

*Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

### **PHYSICO-CHEMICAL AND SOLUBILIZING PROPERTIES OF WATER-SOLUBLE COMPLEXES BASED ON POLYACRYLAMIDE AND POLYACIDS**

**Abstract.** Using the methods of viscometry and potentiometry, the interaction of polyacrylamide and polyacids with different hydrophobicity (polyacrylic, polymethacrylic, copolymer of methacrylic acid with  $\alpha$ -pinene) in an acidic medium (pH 2.5–3.5) was studied and the composition of polymer complexes formed was determined. The dependence of the solubilizing ability of polymer complexes on the hydrophobicity of polyacids, polymer concentration, and the type of solubilizate was described.

**Keywords:** polymer complex, solubilization, solubilizate, molecule difilinity, associates, hydrophobic interaction

**For citation.** Vorobieva E. V. Physico-chemical and solubilizing properties of water-soluble complexes based on polyacrylamide and polyacids. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*, 2020, vol. 56, no. 4, pp. 429–433 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-429-433>

**Введение.** Полимерные комплексы (ПК), образующиеся в водных растворах при взаимодействии химически и структурно комплементарных макромолекул, стабилизированы системой ионных и (или) водородных связей [1, 2]. Необходимым условием образования ПК является полимерная природа взаимодействующих компонентов. При использовании в качестве одного из компонентов низкомолекулярного аналога (например, если вместо поликарбоновой кислоты использовать уксусную) или в случае, когда длина цепи меньше необходимой для кооперативного связывания компонентов, образования ПК не происходит. Взаимодействие макромолекул носит кооперативный характер, т. е. одновременное возникновение достаточно большого количества связей между комплементарными макромолекулами происходит в узком интервале изменения молекулярной массы компонентов, состава растворителя, рН [3, 4].

Особый интерес представляет изучение ПК, стабилизированных кооперативной системой водородных связей. Такие полимерные комплексы образуются в водных растворах при взаимодействии поликарбоновых кислот с неионными полимерами (полиэтиленгликоль, поли-N-винилпирролидон, поливиниловый спирт, полиакриламид и др.). Повышение концентрации полимеров в растворе, молекулярной массы поликарбоновой кислоты, ионной силы раствора, а также добавление поверхностно-активного вещества способствуют взаимодействию компонентов ПК. Переход от полиакриловой кислоты к полиметакриловой также сопровождается усилением ком-

плексообразующей способности за счет дополнительной стабилизации формируемого поликомплекса гидрофобными взаимодействиями с участием  $\alpha$ -метильных групп ПМАК [5, 6].

Результатом гидрофобных взаимодействий является самопроизвольный переход системы в состояние, когда контакты между гидрофобными частицами и полярной средой минимальны, в процессах мицеллообразования, солюбилизации, коагуляции, при конформационных превращениях (глобулизации) макромолекул полимеров в воде вследствие их ассоциации при образовании полимерных комплексов [7, 8]. Значительный интерес представляют работы по изучению гидрофобных взаимодействий методом солюбилизации добавок в водных растворах ПАВ за счет перехода углеводородного радикала дифильных молекул из водной среды в неполярную фазу, в частности при мицеллообразовании – в фазу углеводородного ядра мицеллы [9]. Солюбилизирующая способность полимерных комплексов, характеризующая ассоциацию полимеров за счет гидрофобных взаимодействий, практически не изучалась, хотя исследования такого рода представляют интерес в связи с возможностью эффективного использования ПК в различных областях.

В настоящей работе приведены результаты исследования физико-химических свойств и солюбилизирующей способности полимерных комплексов на основе полиакриламида и поликарбоновых кислот с различной гидрофобностью.

**Экспериментальная часть.** В работе использовали полиакриловую (ПАК), полиметакриловую (ПМК) кислоты, сополимер метакриловой кислоты с терпеном скипидара ( $\alpha$ -пинен) (СМК–П) с молекулярной массой (ММ)  $0,4 \cdot 10^5$ , полиакриламид (ПАА) с ММ  $0,9 \cdot 10^7$  (Sigma-Aldrich). Показатель гидрофобности, характеризующий долю неполярных групп в макромолекулах поликарбоновых кислот, рассчитанный по результатам определения кислотного числа полимеров [10] и выраженный в относительных единицах для ПАК, ПМК и СМК–П, составляет соответственно 1,0; 1,3 и 1,8.

В качестве солюбилизаторов использовали гептан и алифатические спирты (гептиловый, октиловый, дециловый). Изучение солюбилизирующей способности водных растворов ПК проводили рефрактометрическим методом [10] при температуре  $20 \pm 0,5$  °С. Равновесные значения солюбилизации достигались через 24 ч. Эффективность солюбилизации ( $E$ , %) рассчитывали как относительное увеличение солюбилизации добавки раствором поликислоты ( $S_{\Pi}$ ) после введения ПАА ( $S_{\Pi+ПАА}$ ):

$$E = (S_{\Pi} - S_{\Pi+ПАА} / S_{\Pi}) \cdot 100.$$

Вискозиметрические измерения водных растворов полимеров проводили, используя капиллярный вискозиметр Уббеллоде с диаметром капилляра 0,86 мм. Время истечения раствора измеряли с точностью до 0,1 с; раствор термостатировали с точностью до 0,5 °С.

**Результаты и их обсуждение.** Взаимодействие полимеров в водных растворах может быть обнаружено сравнением свойств индивидуальных компонентов и их смесей. В смешанных водных растворах поликарбоновых кислот и полиакриламида наличие в макромолекулах поликислот недиссоциированных карбоксильных групп при низких значениях рН обеспечивает возможность образования водородных связей с участием функциональных групп ПАА. Взаимодействие гидрофильных групп полимеров в растворе сопровождается изменением рН, приводит к гидрофобизации глобулизации макромолекул, что в свою очередь приводит к изменению вязкости системы.

Для объективной оценки изменений, происходящих в системе, концентрации исходных полимеров в растворах подбирались таким образом, чтобы значения их вязкости были достаточно близкими. В таком случае при смешивании растворов полимеров с одинаковой вязкостью изменение данного показателя свидетельствует о наличии взаимодействия между полимерами в смеси. Исследование изменений рН растворов при титровании поликарбоновых кислот вторым компонентом смеси проводили в режиме сравнения, когда поликислоту заменяли на низкомолекулярную кислоту с аналогичными значениями рН.

Как видно из рис. 1, 2, вязкость и рН смешанных растворов полимеров меняются по сравнению с растворами поликислот в индивидуальном состоянии и зависят от мольного соотношения компонентов и гидрофобности поликислот.

Введение полиакриламида в раствор поликислоты приводит к увеличению рН (рис. 2), что является следствием уменьшения количества несвязанных карбоксильных групп поликислот

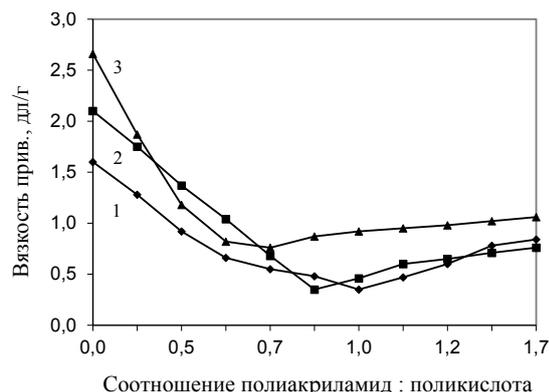


Рис. 1. Вязкость смесей водных растворов полиакриламида и ПМК (1), СМК–П (2), ПАК (3) при различных мольных соотношениях компонентов

Fig. 1. The viscosity of aqueous solution mixtures of polyacrylamide and PMA (1), CMA–P (2), PAA (3) vs. molar ratios of the components

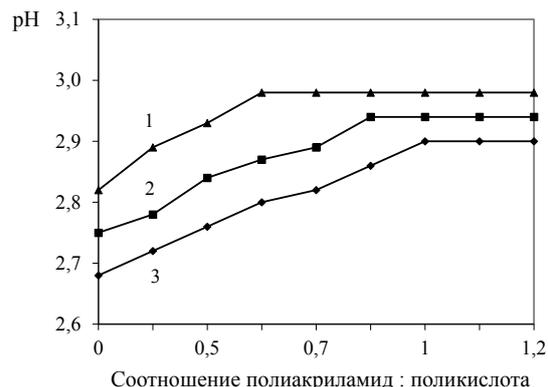


Рис. 2. pH смешанных водных растворов полиакриламида и СМК–П (1), ПМК (2), ПАК (3) в зависимости от мольного соотношения компонентов

Fig. 2. pH of mixed aqueous solutions of polyacrylamide and CMA–P (1), PMA (2), PAA (3) vs. molar ratio of components

и свидетельствует о взаимодействии между карбоксильными группами поликислоты и амидными группами ПАА [2, 11].

Точки перегиба (минимум вязкости, излом pH) на кривых (рис. 1, 2) наблюдаются для исследованных систем при определенных соотношениях компонентов, соответствующих составам комплексов. В случае ПАК и ПМК составы близки к эквимольному, тогда как в системе, содержащей сополимер, полимерный комплекс заметно обогащен им. Следствием избытка ионогенных карбоксильных групп по отношению к амидным в полимерном комплексе, содержащем СМК–П, является его более высокая вязкость по сравнению с комплексами на основе полиакриловой и полиметакриловой кислот.

Увеличение pH раствора, содержащего поликислоту, приводит к ионизации карбоксильных групп. ПК, образованный в водном растворе посредством водородных связей между недиссоциированными карбоксильными группами поликислоты и амидными группами ПАА, при повышении pH разрушается на исходные компоненты вследствие ионизации карбоксильных групп. Появление в системе полимеров, не связанных в комплекс, сопровождается увеличением приведенной вязкости растворов, поскольку вязкость полимеров в индивидуальном состоянии выше, чем смеси. Наиболее низкое значение pH (3,6), при котором вязкость начинает расти, обнаружено нами для комплекса, в состав которого входит полиакриловая кислота (ПАА:ПАК = 1:1). Полимерный комплекс на основе ПМК (ПАА:ПМК = 0,9:1,0) разрушается на исходные компоненты при pH 4,1. Для ПК с сополимером СМК–П (ПАА:СМК–П = 0,6:1,0) увеличение вязкости, свидетельствующее о разрушении комплекса, начинается при pH 4,3 (рис. 3). Тот факт, что вязкость полимерных комплексов на основе поликислот с более высокой гидрофобностью начинает увеличиваться при более высоких значениях pH, свидетельствует о более высокой их прочности.

Водорастворимые комплексы на основе полиметакриловой кислоты и СМК–П с ПАА по сравнению с индивидуальными компонентами более эффективны в отношении солюбилизации гептана, децилового, октилового и гептилового спиртов, что подтверждается сравнением эффективности солюбилизации ( $E$ ) полимерных комплексов и поликислот в индивидуальном состоянии (рис. 4). Видно, что солюбилизация ПК выше, чем поликислот при одинаковой их концен-

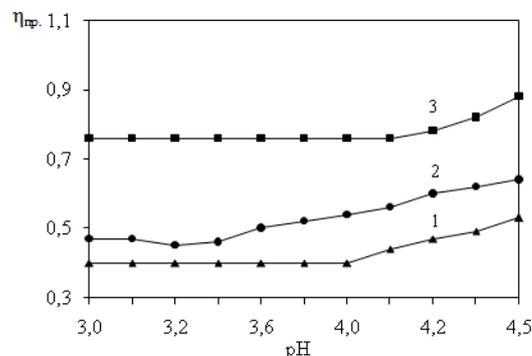


Рис. 3. Вязкость ( $\eta_{пр}$ , дл/г) смешанных водных растворов полиакриламида, СМК–П (1), ПМК (2), ПАК (3) при изменении pH

Fig. 3. Viscosity ( $\eta_{red}$ , dl/g) of mixed aqueous solutions of polyacrylamide, CMA–P(1), PMA (2), PAA (3) vs. pH

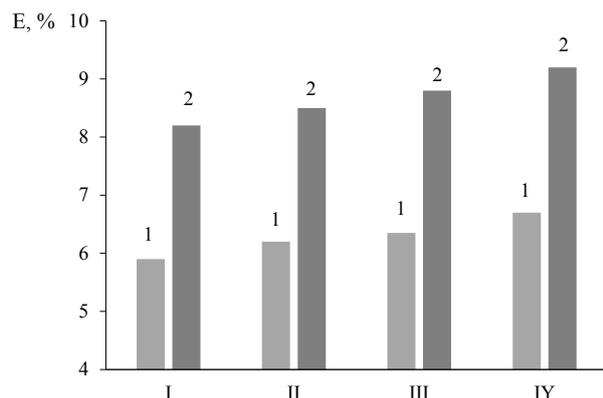


Рис. 4. Эффективность солюбилизации гептана (I), децилового (II), октилового (III), гептилового (IV) спиртов полимерным комплексом на основе полиакриламида и ПМК (1), СМК–П (2)

Fig. 4. The solubilization efficiency of heptane (I), decyl (II), octyl (III), heptyl (IV) alcohols by polymer complex based on polyacrylamide and PMA (1), СМА–P (2)

лекулы солюбилизата не проникают внутрь гидрофобных областей, а закрепляются на их поверхности, располагаясь между изогнутыми полимерными цепями [12, 14].

В исследованных полимерных системах с увеличением длины радикала вводимого спирта солюбилизация уменьшается. Так, коллоидная растворимость гептилового спирта выше, чем октилового и децилового, что связано наряду со стерическими явлениями с повышением гидрофобизирующего действия спиртов с большей длиной цепи на полимер-полимерные ассоциаты, и предельная солюбилизация достигается при меньшем их содержании.

Таким образом, наибольшей солюбилизующей способностью обладают системы с наиболее гидрофобным компонентом (СМК–П). Предельная солюбилизация добавок в исследованных системах на основе СМК–П линейно возрастает с ростом его концентрации, что объясняется повышением вероятности контактирования гидрофобных участков макромолекул, увеличивающим размер гидрофобных областей связывания солюбилизатов.

**Выводы.** Состав и свойства полимерных комплексов, образующихся в смешанных водных растворах поликарбоновых кислот и полиакриламида, зависят от гидрофобности поликислот. Переход от полиакриловой кислоты к полиметакриловой и к сополимеру метакриловой кислоты с  $\alpha$ -пиненом сопровождается усилением комплексобразующей способности за счет дополнительной стабилизации формируемого поликомплекса гидрофобными взаимодействиями с участием метильных групп поликислот.

Солюбилизующая способность полимерных комплексов возрастает при переходе от полиметакриловой кислоты к сополимеру и с увеличением концентрации водных растворов поликислот. Гидрофобное действие солюбилизатов полимерными ассоциатами зависит от природы органической добавки, в частности, гептан характеризуется меньшей растворимостью по сравнению с алифатическими спиртами. Увеличение длины радикала вводимых в полимерные системы спиртов приводит к снижению их солюбилизации.

#### Список использованных источников

1. Кабанов, В. А. Полиэлектrolитные комплексы в растворе и в конденсированной фазе / В. А. Кабанов // Успехи химии. – 2005. – Т. 74, № 1. – С. 5–23.
2. Бектуров, Е. А. Интерполимерные комплексы / Е. А. Бектуров, Л. А. Бимендина. – Алма-Ата: Наука, 1977. – 264 с.
3. Инагамов, С. Я. Интерполимерные комплексы на основе натрийкарбоксиметилцеллюлозы – носители наночастиц / С. Я. Инагамов, Ф. С. Каюмходжаева, А. А. Абзалов // Науч. обозрение. Биол. науки. – 2017. – № 2. – С. 71–74.
4. Алексина, О. А. Матричная полимеризация ионогенных мономеров и модельные полиэлектролитные комплексы. Автореферат дисс. на соискание ученой степени кандидата химических наук. – М.: Моск. гос. ун-т им. М. В. Ломоносова, 1972. – 18 с.

трации, эффективность солюбилизации возрастает с увеличением гидрофобности поликислоты и при переходе от неполярного солюбилизата (гептан) к полярным добавкам.

В случае гептана солюбилизация меньше по сравнению с полярными олеофильными жидкостями (спиртами), что обусловлено различным механизмом растворения органических веществ в гидрофобных областях, образованных полимерными ассоциатами. Согласно [12, 13], неполярные углеводороды растворяются в ядре мицеллы, полярные органические вещества (спирты, амины) располагаются в мицеллах так, что их полярные группы обращены к воде, а неполярные ориентированы в гидрофобных областях между неполярными фрагментами макромолекул полимеров. Возможен также способ включения солюбилизата в гидрофобные области неионогенных ПК, когда полярные молекулы

5. Khutoryanskiy, V. V. Hydrogen-bonded interpolymer complexes as materials for pharmaceutical applications / V. V. Khutoryanskiy // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2007. – Vol. 334, N 1-2. – С. 15–26. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.01.037>
6. Хуторянский, В. В. Современные методы исследования полимерных комплексов в водных и органических растворах / В. В. Хуторянский, Р. Ю. Смыслов, А. В. Якиманский // *Высокомолекулярное соединение. Сер. А*. – 2018. – Т. 60, №. 5. – С. 357–383. <https://doi.org/10.1134/s2308112018050085>
7. Сумм, Б. Д. Объекты и методы коллоидной химии в нанохимии / Б. Д. Сумм, Н. И. Иванова // *Успехи химии*. – 2000. – Т. 69, № 11. – С. 995–1007.
8. Щукин, Е. Д. Коллоидная химия / Е. Д. Щукин, А. В. Перцов, Е. А. Амелина. – М.: Высш. школа, 2004. – 445 с.
9. Межмолекулярные взаимодействия, определяющие солюбилизацию в мицеллах полиалкиленоксидных поверхностно-активных веществ / Б. С. Бугрин [и др.] // *Высокомолекулярное соединение. Сер. А*. – 2007. – Т. 49, № 4. – С. 701–712.
10. Лабораторные работы и задачи по коллоидной химии / под ред. Ю. Г. Фролова [и др.]. – М.: Химия, 1986. – 216 с.
11. Dragan, S. Influence of low-molecular-weight salts on the formation of polyelectrolyte complexes based on polycations with quaternary ammonium salt groups in the main chain and poly(sodium acrylate) / S. Dragan, M. Cristea // *European Polymer Journal*. – 2001. – Vol. 37, N 8. – P. 1571–1575. [https://doi.org/10.1016/s0014-3057\(01\)00025-8](https://doi.org/10.1016/s0014-3057(01)00025-8)
12. Русанов, А. И. Мицеллообразование в растворах поверхностно-активных веществ: монография / А. И. Русанов, А. К. Щекин. – СПб.: Лань, 2016. – 612 с.
13. Поверхностно-активные вещества и полимеры в водных растворах / К. Холмберг [и др.]. – М.: Бином, Лаб. знаний, 2007. – 528 с.
14. Русанов, А. И. Детализация теории мицеллообразования неионного ПАВ на основе закона действия масс / А. И. Русанов // *Коллоид. журн.* – 2016. – Т. 78, № 3. – С. 371–377. <https://doi.org/10.1134/s1061933x16030133>

## References

1. Kabanov V. A. Polyelectrolyte complexes in solution and in the condensed phase. *Russian Chemical Reviews*, 2005, vol. 74, no. 1, pp. 3–20. <https://doi.org/10.1070/rc2005v074n01abeh001165>
2. Bekturov E. A., Bimendina L. A. *Interpolymer complexes*. Alma-Ata: Nauka Publ., 1977. 264 p. (in Russian).
3. Inagamov S. Ya., Kayumkhodzhaeva F. S., Abzalov A. A. Interpolymer complexes based on sodium carboxymethylcellulose – carriers of nanoparticles. *Nauchnoe obozrenie. Biologicheskije nauki = Scientific Review. Biological sciences*, 2017, no. 2, pp. 71–74 (in Russian).
4. Aleksina O. A. *Matrix polymerization of ionogenic monomers and model polyelectrolyte complexes*. Moscow, Mosc. state un-t them. M. V. Lomonosov, 1972. 18 p. (in Russian).
5. Khutoryanskiy V. V. Hydrogen-bonded interpolymer complexes as materials for pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 2007, vol. 334, no. 1-2, pp. 15–26. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.01.037>
6. Khutoryanskiy V. V., Smyslov R. Yu., Yakimanskiy A. V. Modern methods for the study of polymer complexes in aqueous and organic solutions. *Polymer Science. Series A*, 2018, vol. 60, no. 5, pp. 553–576. <https://doi.org/10.1134/s0965545x18050085>
7. Summ B. D., Ivanova N. I. The use of Objects and methods of colloid chemistry in nanochemistry. *Russian Chemical Reviews*, 2000, vol. 69, no. 11, pp. 911–923. <https://doi.org/10.1070/rc2000v069n11abeh000616>
8. Schukin E. D., Pertsov A. V., Amelina E. A. *Colloid chemistry*. Moscow, Vysshaya shkola Publ., 2004. 445 p. (in Russian).
9. Bugrin V. S., Kozlov M. Yu., Baskin I. I., Melik-Nubarov N. S. Intermolecular interactions governing solubilization in micelles of poly(alkylene oxide) surfactants. *Polymer Science. Series A*, 2007, vol. 49, no. 4, pp. 463–472. <https://doi.org/10.1134/s0965545x07040141>
10. Frolov Yu. G. (ed.). *Laboratory work and tasks in colloid chemistry*. Moscow, Khimiya Publ., 1986. 216 p. (in Russian).
11. Dragan S., Cristea M. Influence of low-molecular-weight salts on the formation of polyelectrolyte complexes based on polycations with quaternary ammonium salt groups in the main chain and poly(sodium acrylate). *European Polymer Journal*, 2001, vol. 37, no. 8, pp. 1571–1575. [https://doi.org/10.1016/s0014-3057\(01\)00025-8](https://doi.org/10.1016/s0014-3057(01)00025-8)
12. Rusanov A. I., Shchekin A. K. *Micelle formation in solutions of surfactants*. St. Petersburg, Lan' Publ., 2016. 612 p. (in Russian).
13. Holmberg K., Jansson B., Kronberg B., Lindman B. *Surfactants and polymers in aqueous solutions*. Moscow, Binom, Laboratoriya znaniy Publ., 2007. 528 p. (in Russian).
14. Rusanov A. I. Details of the theory of micelle formation of a non-ionic surfactant based on the law of mass action. *Colloid Journal*, 2016, vol. 78, no. 3, pp. 371–377. <https://doi.org/10.1134/s1061933x16030133>

## Информация об авторе

Воробьева Елена Викторовна – д-р хим. наук, доцент, зав. лаб. Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: evorobieva@igic.bas-net.by

## Information about the author

Elena V. Vorobieva – D. Sc. (Chemistry), Professor, Head of the Laboratory. Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: evorobieva@igic.bas-net.by

ISSN 1561-8331 (Print)

ISSN 2524-2342 (Online)

УДК 546+541.8.182

<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-434-444>

Поступила в редакцию 16.09.2020

Received 16.09.2020

О. В. Рева<sup>1</sup>, А. Н. Назарович<sup>1</sup>, В. В. Богданова<sup>2</sup>, А. В. Врублевский<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Университет гражданской защиты Министерства по чрезвычайным ситуациям Республики Беларусь, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт физико-химических проблем Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь

## ВЛИЯНИЕ ПРИРОДЫ ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ НА СТАБИЛЬНОСТЬ И АКТИВИРУЮЩУЮ СПОСОБНОСТЬ КОЛЛОИДНЫХ РАСТВОРОВ SnCl<sub>2</sub>

**Аннотация.** Исследованы закономерности формирования коллоидных частиц в ацетоновых и гликолевых растворах SnCl<sub>2</sub> в присутствии ряда стабилизирующих добавок. Обнаружено, что ацетоновые и гликолевые растворы значительно более стабильны по отношению к окислению и гидролизу Sn(II), чем водные и спиртовые. Установлены факторы, влияющие на их медиативную активность по отношению к закреплению неорганического азот-фосфорсодержащего замедлителя горения на полиэфирной матрице. Доказано, что необходимым условием достижения высокого медиативного эффекта по закреплению антипирена на полиэфирной поверхности является образование в объеме растворов SnCl<sub>2</sub> многочисленных однородных коллоидных частиц с размерами, не превышающими 20–25 нм.

**Ключевые слова:** коллоидные частицы, медиативная активность, азот-фосфорсодержащие замедлители горения

**Для цитирования.** Влияние природы органических растворителей на стабильность и активирующую способность коллоидных растворов SnCl<sub>2</sub> / О. В. Рева [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2020. – Т. 56, № 4. – С. 434–444. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-434-444>

O. V. Reva<sup>1</sup>, A. N. Nazarovich<sup>1</sup>, V. V. Bogdanova<sup>2</sup>, A. V. Vrublevsky<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Civil Protection of the Ministry of Emergency Situations of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus

<sup>2</sup>Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University, Minsk, Belarus

## INFLUENCE OF THE ORGANIC SOLVENTS NATURE ON THE STABILITY AND ACTIVATING ABILITY OF SnCl<sub>2</sub> COLLOIDAL SOLUTIONS

**Annotation.** The regularities of colloidal particles formation in the volume of acetone and glycol SnCl<sub>2</sub> solutions in presence of a number of stabilizing additives have been investigated. It was found that in relation to oxidation and hydrolysis of Sn (II) acetone and glycol solutions are much more stable than aqueous and alcohol solutions. The factors influencing their mediation activity in relation to the fixation of an inorganic nitrogen-phosphorus-containing flame retardant on polyester matrix have been established. It has been proven that the formation of numerous homogeneous colloidal particles with sizes not exceeding 20–25 nm in the volume of SnCl<sub>2</sub> solutions is a necessary condition for achieving a high mediating effect on fixing a fire retardant on a polyester surface.

**Keywords:** Colloidal particles, mediation activity, nitrogen-phosphorus containing flame retardants

**For citation.** Reva O. V., Nazarovich A. N., Bogdanova V. V., Vrublevsky A. V. Influence of the organic solvents nature on the stability and activating ability of SnCl<sub>2</sub> colloidal solutions. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*, 2020, vol. 56, no. 4, pp. 434–444 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-434-444>

**Введение.** На предыдущих этапах исследования [1, 2] нами показана перспективность применения метода «химической микросборки» для получения устойчивого к стиркам огнезащитного эффекта по отношению к полиэтилентерефталатным (ПЭТФ) тканевым материалам созданием на поверхности инертной матрицы промежуточных адгезионных кремний- или оловосодержащих нанослоев, обеспечивающих прочную хемосорбцию азот-фосфорсодержащих замедлителей горения.

Для активации твердых поверхностей преимущественно используют водные коллоидные растворы на основе соединений двухвалентного олова. Однако особенности процессов, происходящих в объеме растворов и на границе раздела фаз, исследовались достаточно давно и практически все современные авторы опираются на данные обзорных монографий [3–6]. Из этих работ следует, что эффективность активации поверхности диэлектрика зависит от концентрации, химического

и гранулометрического составов коллоидных частиц в объеме растворов  $\text{SnCl}_2$ . Соответственно до настоящего времени единственным общим критерием качества сенсбилизации инертной поверхности по отношению к химическому закреплению целевых реагентов является формирование на ней равномерного монослоя мелких частиц соединений  $\text{Sn(II)}$  [5, 6], причем реализация этого условия для каждого конкретного материала требует разных условий обработки и состава раствора  $\text{SnCl}_2$ , которые определяются экспериментально. Значительное количество современной патентной литературы, как, например, [7], посвящено способам нанесения металлических покрытий на различные материалы, в которых используются водные растворы  $\text{SnCl}_2$ , однако новых сведений о составе этих растворов и протекающих в них процессах не обнаружено.

Нами показано [2], что применительно к хемосорбции на поверхности полиэфирных волокон аммонийно-фосфатных замедлителей горения большую медиативную эффективность проявляют спиртовые растворы  $\text{SnCl}_2$  по сравнению с водными, в которых коллоидные частицы образуются почти сразу после приготовления, но быстро окисляются и коагулируют. Так, при исследовании закономерностей образования и коагуляции коллоидных частиц соединений олова в этанольных и изопропанольных растворах  $\text{SnCl}_2$ , установлено, что окисление  $\text{Sn(II)}$  происходит значительно медленнее, чем в водных и водно-спиртовых растворах, а коллоидные частицы в их объеме значительно дольше сохраняют оптимальные частотно-размерные характеристики. Образование коллоидных частиц с размерами  $\sim 1\text{--}3$  нм для спиртовых растворов регистрируется после 7–10 сут хранения, а их укрупнение происходит спустя 45–60 сут [2].

В связи с этим существенный интерес представляет исследование закономерностей окисления  $\text{Sn(II)}$  и коллоидообразования в органических средах другой химической природы, в особенности ацетоновых и гликолевых. Эти среды не только отвечают ряду условий – хорошая растворимость солей  $\text{Sn(II)}$ , пониженная растворимость кислорода, предполагаемая стабильность по отношению к окислению и гидролизу соединений  $\text{Sn(II)}$ , но и способность к частичному нарушению структуры поверхности полиэфирных волокон, так как ПЭТФ нестоек к воздействию кетонов [8]. Кроме того, в органических средах выше смачиваемость поверхности полимера, что предположительно должно повысить количество и равномерность сорбции активирующих оловосодержащих частиц. Одновременно использование смешанных органо-водных растворителей может по сравнению с чисто органическими ускорить формирование коллоидных частиц оптимальных размеров, а также уменьшить пожарную опасность технологического процесса модификации поверхности ПЭТФ. Следует отметить, что сведений об исследовании ацетоновых, водно-ацетоновых и гликолевых растворов хлорида олова в литературе обнаружить не удалось.

Цель данной работы – исследовать характеристики и устойчивость во времени коллоидных частиц в ацетоновых, водно-ацетоновых, гликолевых и водно-гликолевых растворах  $\text{SnCl}_2$  в зависимости от природы стабилизирующей добавки и времени их хранения. На основе полученных данных провести сравнительный анализ активности оловосодержащих коллоидных растворов для определения природы стабилизирующего агента и среды, в которой создаются наиболее благоприятные условия для образования и длительного существования нанодисперсных частиц, выполняющих медиативную функцию химической привязки азот-фосфор содержащих замедлителей горения к полиэфирным тканевым материалам.

**Методы исследования.** На предварительном этапе исследования этиленгликолевых и ацетоновых растворов  $\text{SnCl}_2$  с концентрацией  $0,22$  моль·дм<sup>-3</sup> отобраны следующие стабилизирующие добавки с концентрациями (моль·дм<sup>-3</sup>):  $\text{HCl}$  –  $0,12$ , этилендиамин  $\text{C}_2\text{H}_4(\text{NH}_2)_2$  (ЭДА) –  $0,03$ , фосфат-5-аминотетразола  $\text{CN}_4\text{HNNH}_2\cdot\text{H}_3\text{PO}_4$  (ФАТ) –  $0,006$ ,  $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$  –  $0,26$ , триэтанолламин  $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3$  (ТЭА) –  $0,015$ . Эти добавки в определенных концентрациях способствуют повышению стабильности коллоидных частиц в водных и органических растворах двухвалентного олова за счет образования более прочной сольватной оболочки коллоидных частиц [2, 6]. В гликолевые растворы ФАТ не вводили ввиду его плохой растворимости в данной среде. В некоторых из исследованных растворов присутствовала вода в количестве 30 об.% для интенсификации формирования гидро- и гидроксо соединений  $\text{Sn(II)}$  [9] и определения стабильности смешанных растворов по сравнению с чисто органическими. Состав изученных растворов приведен в табл. 1 и 2.

Т а б л и ц а 1. Состав ацетоновых растворов,  $[\text{SnCl}_2] = 0,22 \text{ моль/дм}^3$ T a b l e 1. Composition of acetone solutions,  $[\text{SnCl}_2] = 0.22 \text{ mol/dm}^3$ 

Номер раствора	1	2	3	4	5	6	7	8
Присутствие $\text{H}_2\text{O}$	–	–	–	+	+	+	+	–
Добавка	–	ЭДА	ФАТ	ЭДА	$\text{HCl}$	ФАТ	–	$\text{HCl}$

Т а б л и ц а 2. Состав этиленгликолевых растворов,  $[\text{SnCl}_2] = 0,22 \text{ моль/дм}^3$ T a b l e 2. Composition of ethylene glycol solutions,  $[\text{SnCl}_2] = 0.22 \text{ mol/dm}^3$ 

Номер раствора	1'	2'	3'	4'	5'	6'	7'	8'
Присутствие $\text{H}_2\text{O}$	–	–	–	–	+	+	+	+
Добавка	$\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	ТЭА	ЭДА	–	$\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	ТЭА	ЭДА	–

Для контроля изменений, связанных с процессами окисления и гидролиза двухвалентного олова, накопления в объеме раствора коллоидной фазы, снимали спектры поглощения исследуемых растворов разных сроков хранения на спектрофотометре PROSCAN MC-122 в кварцевых кюветах длиной 1 см в области длин волн от 190 до 1100 нм с шагом в 1 нм. В качестве раствора сравнения использовали ацетон (этиленгликоль) и их водно-органические растворы (табл. 1, 2). Точность метода составляет  $\pm 0,5 \%$ , репродуктивность – 98 %.

Размеры, форму и сопоставительное количество коллоидных частиц в объеме исследуемых растворов определяли методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) на приборе LEO 906E. Препарирование частиц твердой фазы в объеме исследуемых растворов  $\text{SnCl}_2$  проводили следующим способом: каплю исследуемого раствора наносили на пленку коллодия, помещенную на медную сеточку, и высушивали. Препарат на сеточке несколько раз ополаскивали дистиллированной водой для удаления растворимых солей и высушивали. Минимально различимые при просмотре на электронном микроскопе частицы имели размер  $\sim 1$  нм. Гранулометрические характеристики частиц на электронных микрофотографиях анализировали методом построения гистограмм.

Огнезащитная обработка полиэфирной ткани включала следующие стадии [10]: предварительная активация в смеси 10 %-ных растворов серной и соляной кислот; промывка, активация в неводном растворе  $\text{SnCl}_2$   $\sim 20$  мин и пропитка огнезащитной композицией в виде мелкодисперсной суспензии аморфных фосфатов двух- и трехвалентных металлов-аммония в водной среде, общего химического состава в пересчете на оксиды (мас.%):  $\text{P}_2\text{O}_5:\text{NH}_3:\text{CaO}:\text{MgO}:\text{Fe}_2\text{O}_3 = 28,4:7,5:0,72:0,15:2,39$  в течение  $\sim 20$  мин. Далее ткань в натянутом состоянии подвергалась сушке при  $100^\circ\text{C}$  и термофиксации при  $200^\circ\text{C}$  в течение 2 мин. Эффективность огнезащитной обработки ПЭТФ тканей до и после стирок определяли по СТБ 11.03.02-2010 [11]. Остаточную массу замедлителя горения на полиэфирной ткани после стирки определяли весовым методом.

**Результаты и их обсуждение.** Анализ спектров поглощения ацетоновых и водно-ацетоновых, а также этиленгликолевых и водно-гликолевых растворов  $\text{SnCl}_2$  (рис. 1, 2) показывает, что так же как и для спиртовых растворов  $\text{SnCl}_2$ , в ультрафиолетовом диапазоне зафиксировано практически полное поглощение света, что обусловлено присутствием в изучаемых растворах хлорсодержащих комплексных соединений  $\text{Sn(II)}$ .

В области от 300 до 350–400 нм наблюдается резкий спад поглощения, видимый и инфракрасный диапазоны характеризуются почти полной прозрачностью растворов ( $D \cong 0$ ) (рис. 1, 2), за исключением ацетонового раствора № 3. По всей вероятности, это связано с тем, что в течение нескольких суток после приготовления этот раствор содержит мелкодисперсную взвесь плохо растворимого в ацетоне фосфат 5-аминотеразола [12], после его растворения полоса поглощения исчезает. Для ацетоновых и водно-ацетоновых растворов смещение края полосы поглощения в УФ диапазоне в видимую область (которое является следствием окисления  $\text{Sn(II)}$  и образования комплексных соединений  $\text{Sn(IV)}$ ) по мере их хранения очень незначительно, это  $\sim 20$ –50 нм за период 50 сут (рис. 1). Такое же смещение края полосы поглощения в видимую область для гликолевых и водно-гликолевых растворов  $\text{SnCl}_2$  наблюдается только при достижении ими сроков старения 150–175 сут; кроме того, край этой полосы становится несколько более пологим, что,

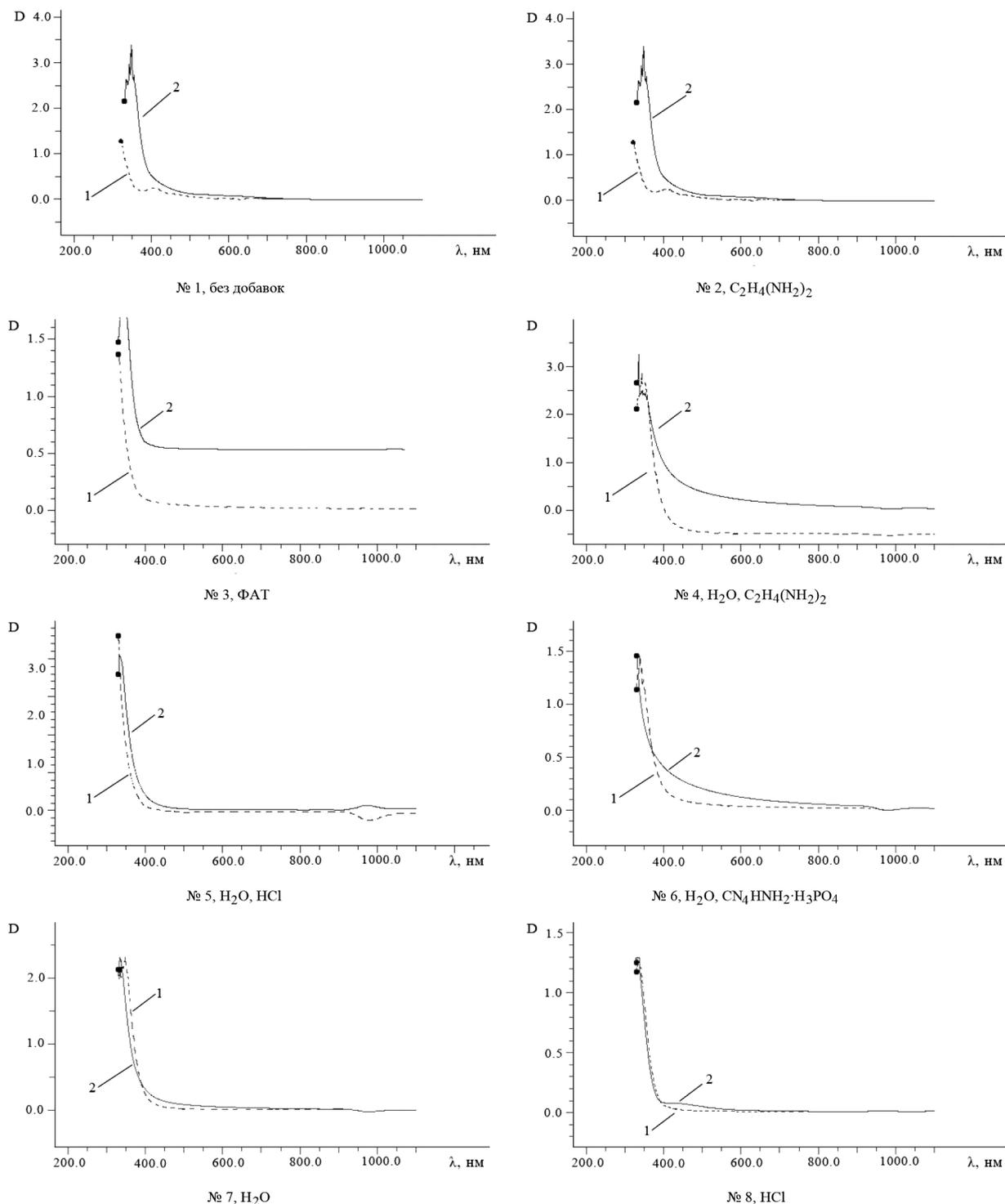


Рис. 1. Спектры поглощения ацетоновых и водно-ацетоновых растворов  $\text{SnCl}_2$  с различными добавками (номера растворов соответствуют номерам табл. 1). Кривые 1 – срок хранения растворов 5 сут, 2 – 55 сут

Fig. 1. Absorption spectra of acetone and water-acetone solutions of  $\text{SnCl}_2$  with various additives (Table 1). Curves 1 correspond to the storage period of solutions of 5 days, curves 2 – 55 days

вероятно, вызвано формированием комплексных соединений  $\text{Sn(II)}$  более разнообразного состава (рис. 2). Для сравнения у спиртовых растворов  $\text{SnCl}_2$  смещение края полосы поглощения в видимую область до тех же значений  $\lambda$  происходит за 30–40 сут [2], а для водных растворов окисление и гидролиз  $\text{Sn(II)}$  протекают гораздо быстрее и смещение края полосы поглощения в видимую область происходит в течение 2–7 сут.

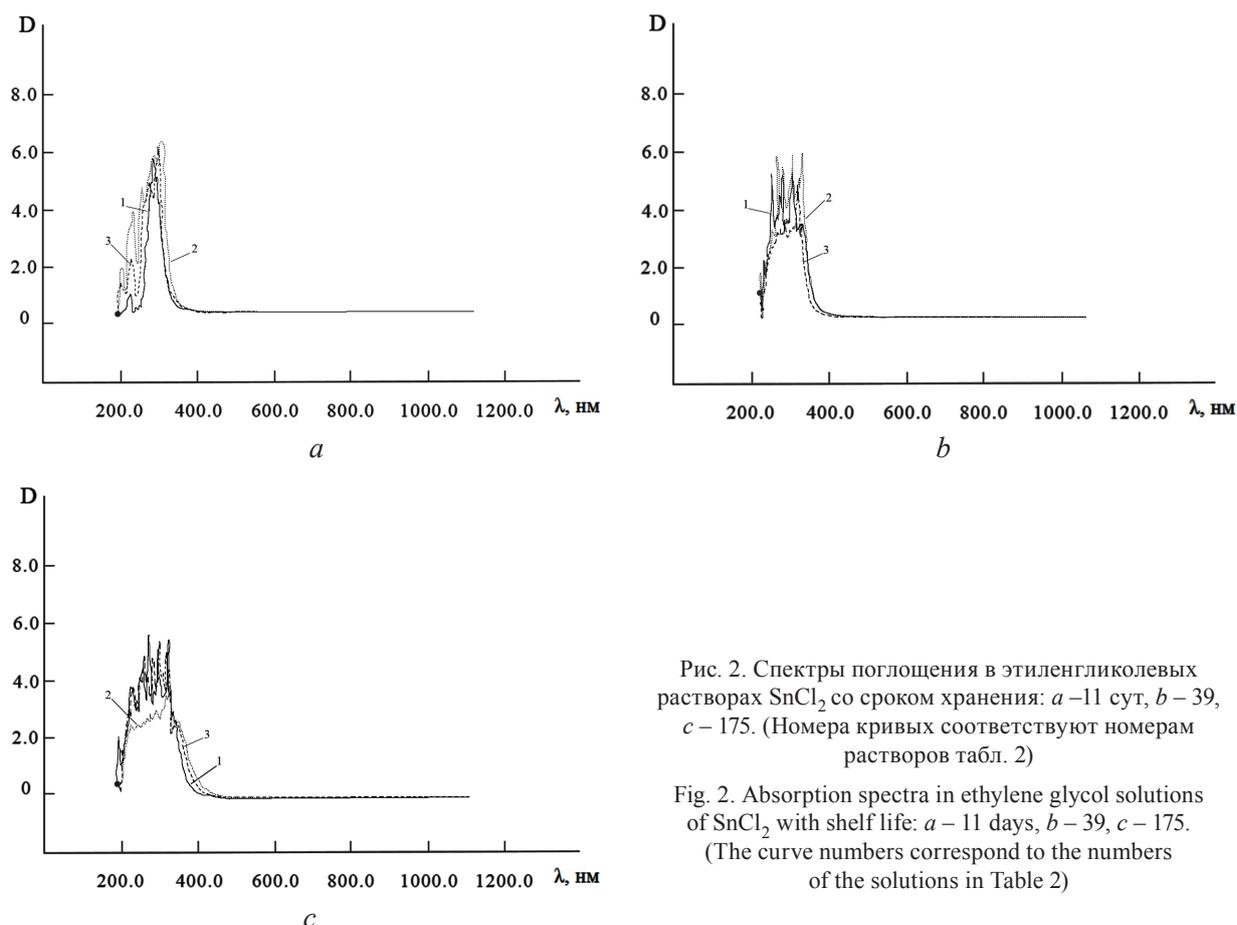


Рис. 2. Спектры поглощения в этиленгликолевых растворах  $\text{SnCl}_2$  со сроком хранения: *a* – 11 сут, *b* – 39, *c* – 175. (Номера кривых соответствуют номерам растворов табл. 2)

Fig. 2. Absorption spectra in ethylene glycol solutions of  $\text{SnCl}_2$  with shelf life: *a* – 11 days, *b* – 39, *c* – 175. (The curve numbers correspond to the numbers of the solutions in Table 2)

Полученные данные свидетельствуют о формировании в объеме исследуемых как ацетоновых, так и гликолевых растворов сложных комплексных соединений двухвалентного олова, значительно более устойчивых к окислению, чем аква-хлоридные, гидроксо-хлоридные и спирто-хлоридные комплексы, формирующиеся в водных и этанольных растворах  $\text{SnCl}_2$ , что очень важно для длительного сохранения активности изученных растворов по отношению к процессам сенсбилизации твердой поверхности. Состав образующихся продуктов трудно прогнозируем и в литературе не обнаружено данных о формировании комплексных соединений олова с кетонами и многоатомными спиртами. Однако известно, что кетоны в енольной форме образуют хелатные комплексы, а в присутствии аминосоединений – оксимы, которые способны включаться в координационную сферу комплексных соединений переходных металлов [13]. Кроме того, описано формирование ряда комплексных соединений  $\text{Sn(IV)}$  с органическими лигандами с координационным числом 6 [14–16].

Важно отметить, что для водно-ацетоновых растворов № 5–8 и водно-гликолевых № 5'–8' скорость смещения края полосы поглощения по мере хранения растворов в видимую область не отличается от чисто ацетоновых и гликолевых соответственно. Кроме того, спектры гликолевых растворов независимо от присутствия воды (№ 1' и 5' или 4' и 8') практически полностью совпадают. Эти результаты не согласуются с установленной ранее нами [2] зависимостью для водно-спиртовых растворов, для которых в присутствии воды в 2–3 раза ускоряются процессы гидролиза и окисления соединений  $\text{Sn(II)}$ . В результате в этих растворах возрастает концентрация гидроксокомплексов олова, что иллюстрируется смещением правого края полосы поглощения из УФ диапазона в видимую область. Полученные данные позволяют предположить, что в водно-ацетоновых и водно-гликолевых растворах образование гидроксокомплексов  $\text{Sn(II)}$  заторможено. Кроме того, комплексные соединения олова с ацетоном и этиленгликолем (или продуктами их превращений) оказались устойчивы к гидролизу и окислению, и, как следствие, к образованию коллоидных частиц несмотря на наличие в координационной сфере молекул воды. Механизм

окисления органических многоосновных соединений Sn(II) изучен мало, однако в работе [17] показано, что для таких комплексов даже фотоокисление (которое обычно протекает по цепному механизму) происходит по кинетически заторможенному молекулярному механизму.

Для ацетоновых и гликолевых растворов SnCl<sub>2</sub>, так же как и для спиртовых [2], в ИК области спектра отклика не обнаружено. Тогда как для кислых водных растворов SnCl<sub>2</sub> в ИК области спектра характерен широкий максимум, который растет по мере увеличения концентрации и размеров коллоидных частиц в их объеме [18], что согласуется с теорией поглощения и рассеяния света коллоидными частицами [19]. Вероятнее всего, для ацетоновых и гликолевых растворов SnCl<sub>2</sub> отсутствие отклика вызвано либо незначительной концентрацией коллоидных частиц, либо прозрачностью их сольватной оболочки для ИК излучения. Исходя из того что при длительном хранении ацетоновые и водно-ацетоновые растворы SnCl<sub>2</sub> сохраняли прозрачность без образования осадков, проведено их исследование методом ПЭМ.

Исследование концентрации и размеров коллоидных частиц в ацетоновых и водно-ацетоновых растворах SnCl<sub>2</sub> методом ПЭМ показало, что их образование начинается не ранее 12–15 сут хранения растворов и весьма пролонгированно. Установлено, что в ацетоновых растворах SnCl<sub>2</sub> со сроком хранения 15 сут формируются сферические коллоидные частицы, до 70 % которые имеют размеры не более 20 нм; а агломераты с размерами ~60–100 нм составляют не более 5 % (рис. 3, *a*). Введение в растворы модифицирующих добавок, в том числе воды (рис. 3, *b*, *c*), на характеристики коллоидной фазы влияет незначительно, при этом несколько увеличивая долю частиц с размерами 20–60 нм.

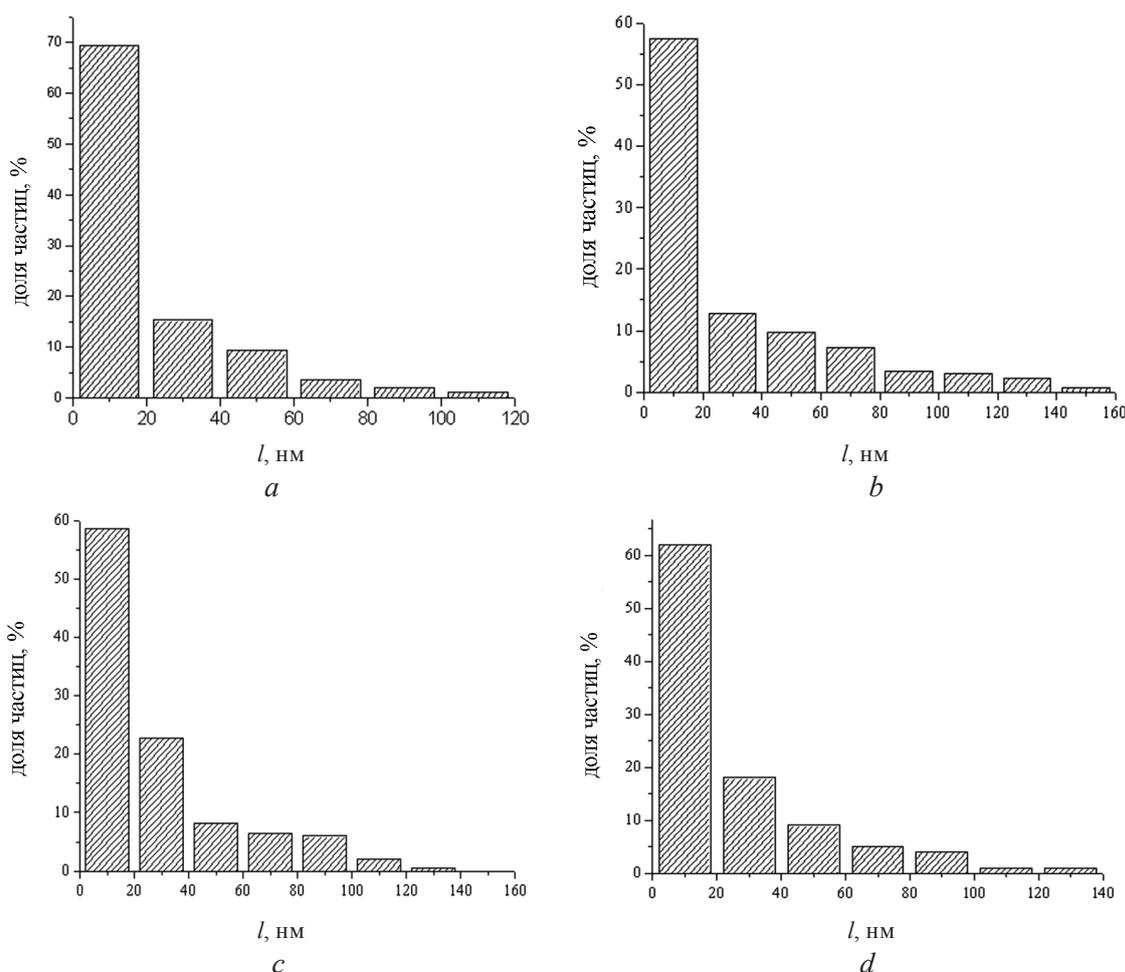


Рис. 3. Распределение по размерам частиц в объеме ацетоновых растворов SnCl<sub>2</sub> со сроком хранения 15 сут: *a* – без добавок (раствор № 1, табл. 1), *b* – с добавкой C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> (№ 2), *c* – воды и HCl (№ 5), *d* – ФАТ и воды (№ 6)  
 Fig. 3. Particle size distribution in the volume of acetone SnCl<sub>2</sub> solutions with a shelf life of 15 days: *a* – without additives (solution N 1, table 1), *b* – with the addition of C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> (N 2), *c* – water and HCl (N 5), *d* – PAF and water (N 6)

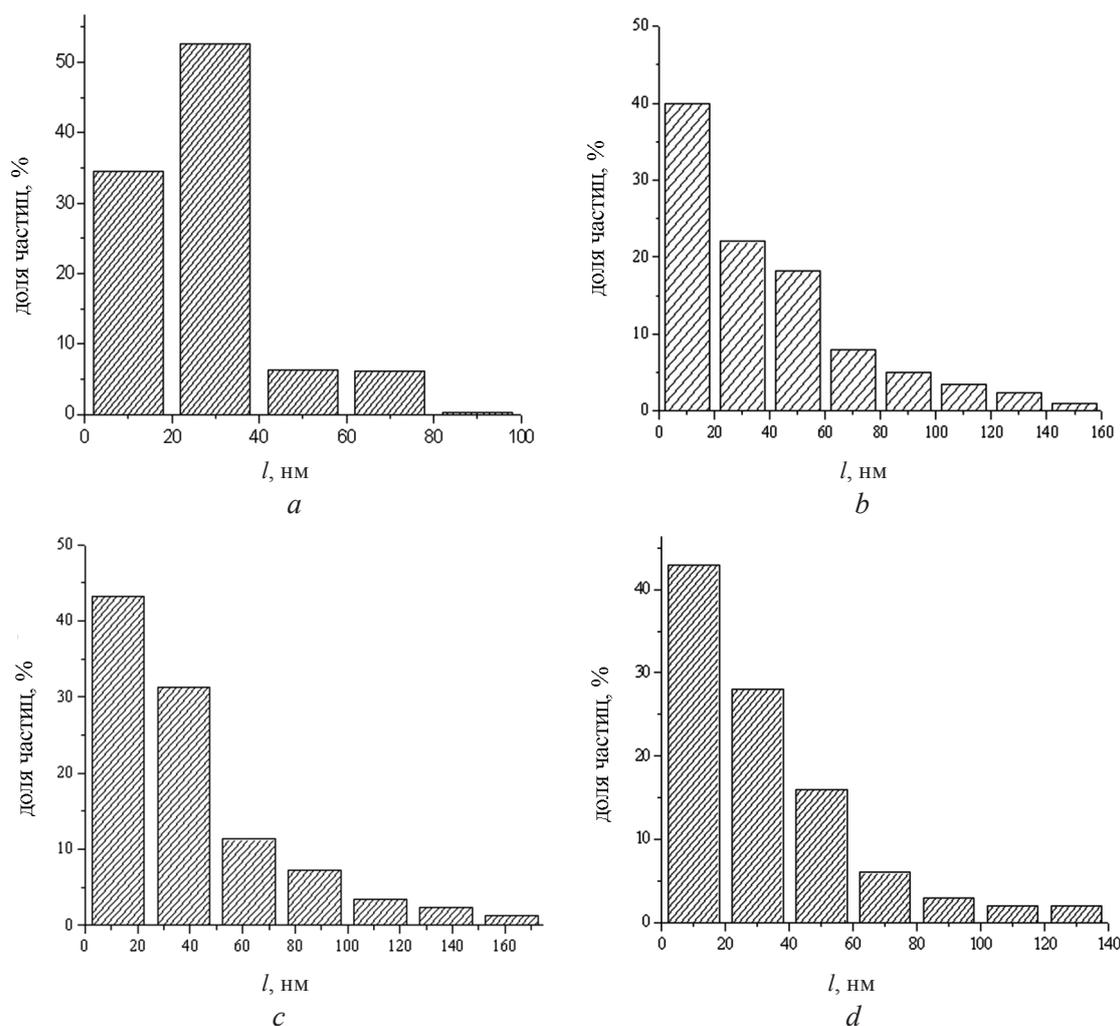


Рис. 4. Распределение по размерам частиц в объеме ацетонового раствора  $\text{SnCl}_2$  со сроком хранения 55 сут; *a* – без добавок (раствор № 1, табл. 1), *b* – с добавкой  $\text{C}_2\text{H}_4(\text{NH}_2)_2$  (№ 2), *c* – воды и  $\text{HCl}$  (№ 5), *d* – ФАТ и воды (№ 6)  
 Fig. 4. Particle size distribution in the volume of an acetone solution of  $\text{SnCl}_2$  with a shelf life of 55 days; *a* – without additives (solution N 1, tabl. 1), *b* – with the addition of  $\text{C}_2\text{H}_4(\text{NH}_2)_2$  (N 2), *c* – water and  $\text{HCl}$  (N 5), *d* – PAT and water (N 6)

При электронно-микроскопическом исследовании ацетоновых и водно-ацетоновых растворов с большими сроками хранения до 50 и более суток (рис. 4) обнаружено, что размеры частиц в их объеме несколько увеличиваются. Однако подавляющее большинство частиц в «состаренных» ацетоновых растворах имеют размеры не более 40 нм; размеры до 40–50 % частиц не превышают 20 нм.

Исследование количества и размеров коллоидных частиц, образующихся в гликолевых растворах  $\text{SnCl}_2$ , показало, что при сроке хранения растворов менее 30 сут коллоидные частицы в их объеме практически не образуются (рис. 5). Очевидно, что в достаточно вязкой среде этиленгликоля с очень низким содержанием растворенного кислорода формирование коллоидных частиц кинетически заторможено. По мере хранения этих растворов после 50–60 сут в их объеме появляются крупные коллоидные частицы с размерами 30–75 нм (рис. 5), причем наличие в составе раствора воды практически не влияет на срок образования и размеры частиц. Наиболее мелкие частицы ~20–30 нм формируются в гликолевых растворах с добавкой триэтанолamina; в растворах, модифицированных аммиаком и этилендиамином, размеры исходных частиц достигают 50 нм, агломератов – 100 нм (рис. 5). Такая же картина сохраняется и по мере дальнейшего хранения этиленгликолевых растворов  $\text{SnCl}_2$ : при сроке хранения 150 сут наиболее мелкие частицы (с размерами ~50 нм) обнаружены в объеме раствора, модифицированного триэтанолaminом

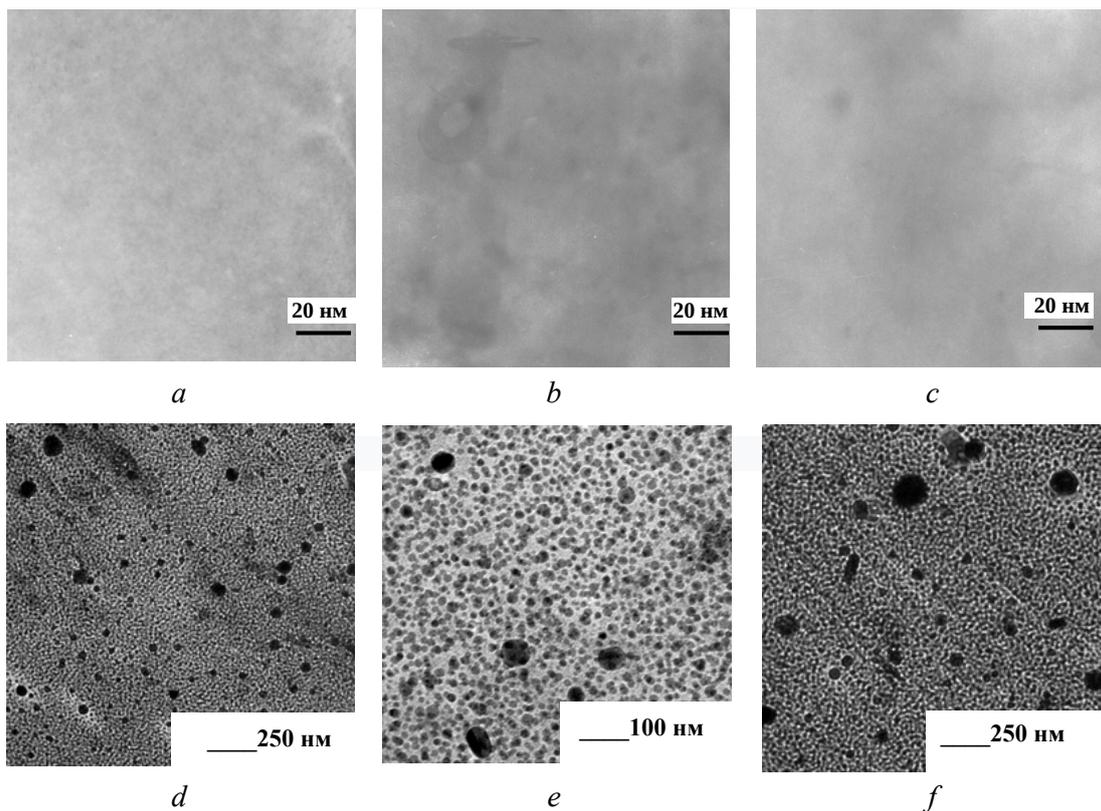


Рис. 5. ПЭМ фотографии частиц, формирующихся в гликолевых растворах  $\text{SnCl}_2$  разного срока хранения: *a, b, c* – 15 сут, *d, e, f* – 75 сут; *a, d* – раствор № 1 с добавкой  $\text{NH}_3$  (табл. 2), *b, e* – № 2 с добавкой  $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3$ , *c, f* – № 3 с добавкой  $\text{C}_2\text{H}_4(\text{NH}_2)_2$

Fig. 5. TEM images of the particles in  $\text{SnCl}_2$  glycol solutions with different shelf life: *a, b, c* – 15 days; *d, e, f* – 75 days; *a, d* – solution N 1 with the addition of  $\text{NH}_3$  (Table 2), *b, e* – N 2 with the addition of  $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3$ , *c, f* – N 3 with the addition of  $\text{C}_2\text{H}_4(\text{NH}_2)_2$

(рис. 6). Вместе с тем в растворе без добавок и в модифицированном аммиачной водой при тех же сроках хранения размеры коллоидных частиц достигают 70–90 нм (рис. 6). В растворе с добавкой этилендиамина при длительных сроках хранения мелкие частицы не обнаружены; присутствуют частицы слегка сглаженной кубической формы с размерами 700–1000 нм (рис. 6).

Полученные сравнительные данные по устойчивости к хранению органических и водно-органических растворов  $\text{SnCl}_2$  позволяют утверждать, что ацетоновые и гликолевые растворы  $\text{SnCl}_2$  более стабильны по отношению к процессам гидролиза и окисления двухвалентного олова по сравнению с водными и спиртовыми растворами [2], так как процессы коллоидообразования в них сильно заторможены. Сформировавшиеся в объеме ацетоновых растворов коллоидные частицы очень долго сохраняют размеры не более 20–25 нм и мало подвержены агломерации. Обнаруженные факты можно объяснить образованием в ацетоновых и гликолевых растворах  $\text{SnCl}_2$  стабильных комплексных соединений Sn(II) с органическими лигандами. Значимого влияния природы стабилизирующей добавки (ЭДА, ФАТ, HCl) на устойчивость коллоидных частиц для ацетоновых растворов  $\text{SnCl}_2$  не обнаружено. Для этиленгликолевых растворов наибольшей способностью стабилизировать коллоидные частицы обладает триэтанолламин. Наличие воды во всех изученных ацетоновых и гликолевых растворах  $\text{SnCl}_2$  практически не влияет на скорость происходящих в них процессов, что отличается от превращений соединений Sn(II) в спиртовых растворах.

На следующем этапе исследований было изучено влияние состава ацетоновых и гликолевых растворов  $\text{SnCl}_2$  на содержание неорганического замедлителя горения, закрепившегося через адгезионный подслои соединений Sn(II) на полиэфирной поверхности. Весовым методом установлено,

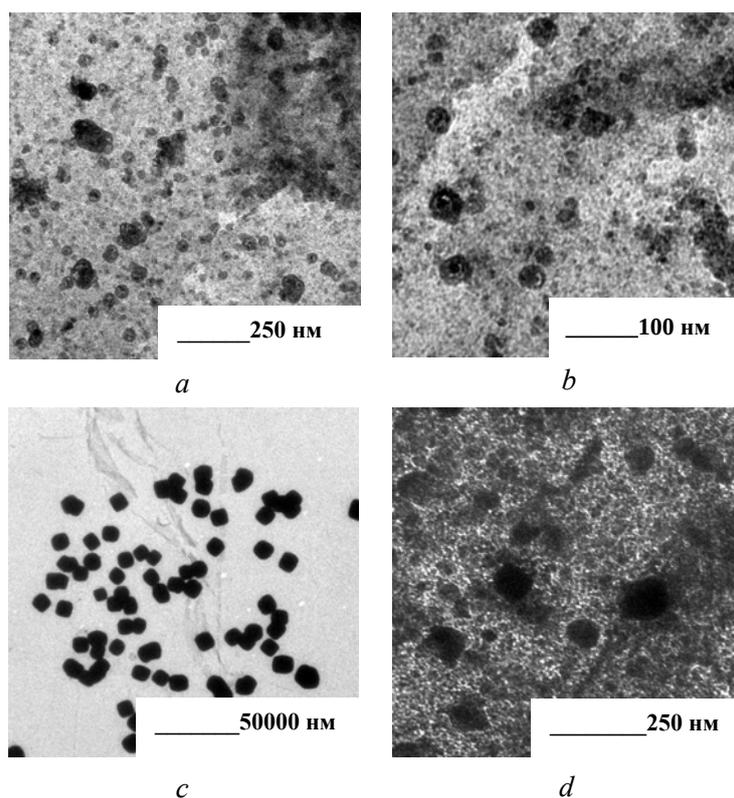


Рис. 6. ПЭМ фотографии частиц, формирующихся в гликолевых растворах  $\text{SnCl}_2$  со сроком хранения 150 сут: *a* – № 1' с добавкой  $\text{NH}_3$  (табл. 2), *b* – № 2' с добавкой  $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3$ , *c* – № 3' с добавкой  $\text{C}_2\text{H}_4(\text{NH}_2)_2$ , *d* – № 4' без добавок

Fig. 6. TEM images of the particles formed in  $\text{SnCl}_2$  glycol solutions with a shelf life of 150 days: *a* – solution N 1' with the addition of  $\text{NH}_3$  (tabl. 2), *b* – N 2' with the addition of  $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3$ , *c* – N 3' with the addition of  $\text{C}_2\text{H}_4(\text{NH}_2)_2$ , *d* – N 4' without additives

что после проведения ступенчатой огнезащитной обработки с использованием для активации ацетоновых растворов  $\text{SnCl}_2$  и стирки количество металлофосфатного антипирена, закрепившегося на поверхности полиэфирной ткани, составляет  $\sim 1,15\text{--}1,36$  мг/дм<sup>2</sup> (2,3–2,8 мас.%). Эти результаты соответствуют данным, полученным ранее для спиртовых растворов  $\text{SnCl}_2$ :  $1,3\text{--}1,7$  мг/дм<sup>2</sup> (2,4–3,6 мас.%). По результатам огневых испытаний практически все изученные ацетоновые растворы со сроком хранения 20–50 сут обеспечивают активированным ими перед огнезащитной обработкой и выстиранным полиэфирным тканям наивысшую категорию стойкости к горению для текстильных материалов – «трудновоспламеняемый».

При аналогичном исследовании полиэфирного тканевого материала, активированного перед пропиткой антипиреном этиленгликолевыми растворами  $\text{SnCl}_2$ , установлено, что при любых вариантах обработки устойчивого закрепления замедлителя горения на инертной полимерной матрице не происходит. Этот факт находится в соответствии с данными ПЭМ, согласно которым в гликолевых растворах любого срока хранения не обнаружено коллоидной фазы с требуемыми характеристиками (5–25 нм).

**Заключение.** В результате проведенных сопоставительных исследований устойчивости оловосодержащих коллоидных систем в различных органических средах установлены факторы, влияющие на их медиативную активность по отношению к закреплению неорганического азот-фосфорсодержащего замедлителя горения на полиэфирной матрице.

Доказано, что необходимым условием достижения высокого медиативного эффекта по закреплению исследуемого замедлителя горения на полиэфирной матрице является образование в объеме активирующих растворов  $\text{SnCl}_2$  многочисленных однородных коллоидных частиц с размерами, не превышающими 20–25 нм. Данному условию отвечают ацетоновые, водно-ацетоновые и этанольные растворы  $\text{SnCl}_2$ . Следует подчеркнуть, что коллоидные частицы в объеме

ацетоновых растворов SnCl<sub>2</sub> сохраняют оптимальные частотно-размерные характеристики (5–25 нм) значительно дольше (~ в 1,5–2 раза), чем этанольные. В объеме этиленгликолевых и водно-гликолевых растворов образуются крупные частицы с размерами от 30 нм с незначительной концентрацией, которые не проявляют активности по отношению к огнезащитной обработке ПЭТФ.

Таким образом, медиативная активность оловосодержащих коллоидных частиц в процессе огнезащитной обработки ПЭТФ практически одинакова для этанольных и ацетоновых растворов. При этом ацетоновые золи сохраняют реакционную активность существенно дольше, но могут быть технологически неудобны из-за высокой летучести растворителя, что повышает пожарную опасность технологического процесса.

### Список использованных источников

1. Рева, О. В. Химическая привязка огнезащитных композиций к полиэфирной матрице / О. В. Рева, В. В. Богданова, З. В. Шукело // Свиридовские чтения: сб. ст. – Минск: БГУ, 2013. – Вып. 9. – С. 158–168.
2. Исследование закономерностей формирования и характеристик коллоидных частиц в оловосодержащих органонозлях, предназначенных для активации поверхности полиэфирных волокнистых материалов / О. В. Рева [и др.] // Журн. прикл. химии. – 2017. – Т. 90, вып. 6. – С. 778–786.
3. Химия привитых поверхностных соединений: под ред. Г. В. Лисичкина. – М.: Физматлит, 2003. – 589 с.
4. Electroless Plating: Fundamentals & Applications / ed. by G. O. Mallory, J. B. Hajdu. – Orlando: American Electroplaters and Surface Finishers Society, 1990. – 273 p.
5. Химическое осаждение металлов из водных растворов: под ред. В. В. Свиридова. – Минск: Университетское, 1987. – 270 с.
6. Шалкаускас, М. Химическая металлизация пластмасс / М. Шалкаускас, А. Вашкялис. 3-е изд., перераб. – Л.: Химия, 1985. – 144 с.
7. Способ активации диэлектриков: пат. RU 2604556 / А. В. Алкаев, Е. О. Жмакин, Ю. Ю. Охват, С. И. Росинкин. – Оpubл. 12.10.2016.
8. Стрелихеев, А. А. Основы химии высокомолекулярных соединений / А. А. Стрелихеев, В. А. Деривицкая. – М.: Химия, 1976. – 437 с.
9. Гринвуд, Н. Н. Химия элементов: в 2 т. /Н. Н. Гринвуд, А. Эрншо. – М.: БИНОМ, 2008. – Т. 1. – 601 с.
10. Зависимость эффективности огнезащиты нетканого полиэфирного материала от химической природы азот и фосфорсодержащего антипирена / О. В. Рева // Вестник БГУ, Сер. 2. Химия. Биология. География. – 2017. – № 2. – С. 86–93.
11. Средства огнезащитные. Общие технические требования и методы испытаний: СТБ 11.03.02-2010. Введ. 01.01.11. – Минск: Гос. комитет по стандартизации РБ, 2011. – 25 с.
12. Богданова, В. В. Синтез и свойства фосфата 5-аминотетразола / В. В. Богданова, Т. Н. Андреева, В. В. Праник // Журн. общ. химии. – 1990. – Т. 60, вып. 11. – С. 2561–2564.
13. Atkins, P.W. Physical Chemistry / P.W. Atkins. Oxford Univ. – 5<sup>th</sup> ed. – Press, 1994. – 823 p.
14. Сейфуллина, И. И. Координационные соединения Sn (IV) с гидроксикарбоновыми кислотами / И. И. Сейфуллина, Е. Э. Марцинко, Е. А. Чебаненко // Вісник ОНУ. Хімія. – 2013. – Т. 18, вип. 1(45). – С. 15–31.
15. Чичибабин, А. Е. Основные начала органической химии [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://books.google.by/books?id=viH\\_AgAAQBAJ&pg=PA280&lpg=PA280&dq=комплексные+соединения+кетон&source=bl&ots=&date=26.11.2019](https://books.google.by/books?id=viH_AgAAQBAJ&pg=PA280&lpg=PA280&dq=комплексные+соединения+кетон&source=bl&ots=&date=26.11.2019)
16. Киселёв, Ю. М. Химия координационных соединений / Ю. М. Киселёв, Н. А. Добрынина. – М.: Академия, 2007. – 343 с.
17. Разинкин, М. А. К вопросу о механизме сопряженного окисления ионов двухвалентного олова и органических субстратов молекулярным кислородом в водно-ацетоновых средах / М. А. Разинкин, В. В. Беренцвейг, А. П. Руденко // Вестник МГУ. Сер. 2. Химия. – 1990. – Т. 31, № 1. – С. 75–79.
18. Рева, О. В. Фотостимулированное окисление Sn(II) в водных растворах: спектральная чувствительность и квантовый выход / О. В. Рева, Т. Н. Воробьева // Журн. прикл. химии. – 2002. – Т. 75, вып. 9. – С. 1431–1437.
19. Determination of nanoparticle size in colloidal solutions by dynamic light scattering /A. Marakhova [et al.]. // Nanoindustry Russia. – 2016. – Vol. 63, N 1. – P. 88–93. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2016.63.1.88.93>

### References

1. Reva O. V., Bogdanova V. V., Shukelo Z. V. Chemical bonding of fire retardant compositions to a polyester matrix. *Sviridovskie chteniya: sb. st.* [Sviridov readings: Coll. Articles]. Minsk, BSU, 2013, Iss. 9, pp. 158–168 (in Russian).
2. Reva O. V., Bogdanova V. V., Vrublevskii A. V., Nazarovich A. N. Relationships of formation and characteristics of colloidal particles in tin-containing organosols intended for activation of the surface of fibrous polyester materials. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 2017, vol. 90, no. 6, pp. 931–939. <https://doi.org/10.1134/s1070427217060143>
3. Lisichkin G. V. (ed.). *Chemistry of Grafted Surface Compounds*. Moscow, Fizmatlit Publ., 2003. 589 p. (in Russian).
4. Mallory G. O., Hajdu J. B. (ed.). *Electroless Plating: Fundamentals & Applications*. Orlando, American Electroplaters and Surface Finishers Society, 1990. 273 p.

5. Sviridov V. V., Vorobyova T. N., Gaevskaya T.V., Stepanova L. I. *Chemical deposition of metals from aqueous solutions*. Minsk, Universitetskoe Publ., 1987. 270 p. (in Russian).
6. Shalkauskas M., Vashkelis A. *Chemical metallization of plastics*. 3rd ed. Leningrad, Khimiya Publ., 1985. 144 p. (in Russian).
7. Alkaev A. V., Zhmakin E. O., Okhvat Y. Y., Rosinkin S. I. *Dielectric activation method*. Patent RF no, 2604556. Publ. date 2016 (in Russian).
8. Strepikheev A. A., Derivitskaya V. A. *Fundamentals of the chemistry of macromolecular compounds*. Moscow, Khimiya Publ., 1976. 437 p. (in Russian).
9. Greenwood N.N, Earnshaw A. *Chemistry of elements. Vol. 1*. Moscow, BINOM Pul., 2008. 601 p. (in Russian).
10. Reva O. V., Bogdanova V. V., Lukyanov A. S., Perevnikov S. S., Andreeva T. N. Dependence the fire protection effectiveness of nonwoven polyester material on the chemical nature of nitrogen and phosphorus-containing fire retardant. *Vestnik BGU. Seriya 2, Khimiya. Biologiya. Geografiya* [Bulletin of BSU. Ser. 2, Chemistry. Biology. Geography], 2017, no. 2, pp. 86–93 (in Russian).
11. STB 11.03.02-2010. *Fire retardants. General technical requirements and test methods*. Minsk, State Committee for Standardization of the Republic of Belarus, 2011. 25 p. (in Russian).
12. Bogdanova V. V., Andreeva T. N., Pranik V. V. Synthesis and properties of 5-aminotetrazole phosphate. *Zhurnal obshchei khimii = Russian Journal of General Chemistry*. 1990, vol. 60, no. 11, pp. 2561–2564 (in Russian).
13. Atkins P. W. *Physical Chemistry*. 5th edition. Oxford Univ. Press, 1994. 823 p.
14. Seifullina I. I., Martsinko E. E., Chebanenko E. A. Coordination compounds of Sn (IV) with hydroxycarboxylic acids. *Visnik Odes'kogo natsional'nogo universitetu. Khimiya Odesa National University Herald. Chemistry*, 2013, vol. 18, no. 1(45), pp. 15–31 (in Russian).
15. Chichibabin A. E. *Basic principles of organic chemistry*. Available at: [https://books.google.by/books?id=viH\\_AgAAQBAJ&pg=PA280&lpg=PA280&dq=complex++ketone+compounds&source=bl&ots](https://books.google.by/books?id=viH_AgAAQBAJ&pg=PA280&lpg=PA280&dq=complex++ketone+compounds&source=bl&ots). (accessed 26 November 2019) (in Russian).
16. Kiselev Yu. M., Dobrynina N. A. *Chemistry of coordination compounds*. Moscow, Akademiya Publ., 2007. 343 p. (in Russian).
17. Razinkin M. A., Berenzweig V. V., Rudenko A. P. To the question of conjugated oxidation mechanism the stannous ions and organic substrates by molecular oxygen in aqueous acetone media. *Vestnik MGU. Ser. 2. Khimiya = Bulletin of Moscow State University. Ser. 2, Chemistry*, 1990, vol. 31, no. 1, pp. 75–79 (in Russian).
18. Reva O. V., Vorobyova T. N. Photostimulated Sn (II) oxidation in aqueous solutions: spectral sensitivity and quantum yield. *Zhurnal Prikladnoi Khimii = Russian Journal of Applied Chemistry*. 2002, vol. 75, Iss. 9, pp. 1431–1437 (in Russian).
19. Marakhova A., Zhilkina V., Blynskaya E., Alekseev K., Stanishevskiy Ya. Determination of nanoparticle size in colloidal solutions by dynamic light scattering. *Nanoindustry Russia*, 2016, vol. 63, no. 1, pp. 88–93. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2016.63.1.88.93>

### Информация об авторах

Рева Ольга Владимировна – профессор. Университет гражданской защиты Министерства по чрезвычайным ситуациям Республики Беларусь (ул. Машиностроителей, 25, 220018, Минск, Республика Беларусь). E-mail: volha107@rambler.ru

Богданова Валентина Владимировна – зав. сектором. НИИ физико-химических проблем Белорусского государственного университета (ул. Ленинградская, 14, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: bogdanova@bsu.by

Врублевский Александр Васильевич – зав. кафедрой. Университет гражданской защиты Министерства по чрезвычайным ситуациям Республики Беларусь (ул. Машиностроителей, 25, 220018, Минск, Республика Беларусь).

Назарович Андрей Николаевич – науч. сотрудник. Университет гражданской защиты Министерства по чрезвычайным ситуациям Республики Беларусь (ул. Машиностроителей, 25, 220018, Минск, Республика Беларусь).

### Information about the authors

Volha V. Reva – Professor. State Educational Institution «University of Civil Protection of the Ministry of Emergency Situations Republic of Belarus» (25, Mashinostroiteley Str., 220018, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: volha107@rambler.ru

Valentina V. Bogdanova – Head of the Sector. Research Institute for Physical Chemical Problems the Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: bogdanova@bsu.by

Alexander V. Vrublevsky – Head of the Department. State Educational Institution «University of Civil Protection of the Ministry of Emergency Situations Republic of Belarus» (25, Mashinostroiteley Str., 220018, Minsk, Republic of Belarus).

Andrei N. Nazarovich – Researcher. State Educational Institution «University of Civil Protection of the Ministry of Emergency Situations Republic of Belarus» (25, Mashinostroiteley Str., 220018, Minsk, Republic of Belarus).

ISSN 1561-8331 (Print)  
ISSN 2524-2342 (Online)**ОРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ**  
**ORGANIC CHEMISTRY**УДК 547.835.93+547.835.92  
org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-445-456Поступила в редакцию 04.08.2020 <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-445-456>  
Received 04.08.2020**Е. А. Акишина,<sup>1</sup> Д. В. Казак,<sup>1</sup> Е. А. Дикусар,<sup>1</sup> Р. С. Алексеев,<sup>2</sup> Н. А. Бумагин,<sup>2</sup> В. И. Поткин<sup>1</sup>**<sup>1</sup>*Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь*  
<sup>2</sup>*Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия***СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ АКРИДИНА, БИСАКРИДИНА И ХИНОЛИНА  
С 1,2-АЗОЛЬНЫМИ, ПИРИДИНОВЫМИ И ФЕРРОЦЕНОВЫМИ ФРАГМЕНТАМИ**

**Аннотация.** Природные и синтетические производные акридинового и пиримидохинолинового ряда представляют значительный интерес для исследования. Их используют в качестве противовирусных, противоопухолевых, антибактериальных, противопаразитарных агентов, они также применимы при лечении болезни Альцгеймера. Комбинация акридинового и пиримидохинолинового циклов с другими фармакофорными группами может привести к эффекту синергизма их свойств, появлению новых, неустановленных для данных структурных фрагментов видов биологической активности, а также снижению выраженности побочных эффектов. Описан синтез новых производных 8,9,10,12-тетрагидробензо[а]акридин-11(7H)-она и 10,12-дигидробензо[f]пиримидо[4,5-*b*]хинолин-9,11(7H,8H)-диона, содержащих изоксазольный, изотиазольный гетероциклы, ферроценовый фрагмент, а также остатки никотиновой и изоникотиновой кислот, ковалентно присоединенных с помощью сложноэфирных групп к различным положениям ароматического ядра. Трехкомпонентную каскадную конденсацию ароматических аминов, альдегидов и циклических β-дикарбонильных соединений проводили кипячением в бутаноле. Путем квантово-химических расчетов с использованием метода DFT/B3LYP/MIDI определены тепловые эффекты реакции циклизации. Проведена оценка цитотоксической активности синтезированных соединений на четырех различных линиях раковых клеток (RKO, COLO320, LS174T, SW480).

**Ключевые слова:** бензоакридины, пиримидохинолины, 1,2-азолы, пиридины, ферроцены, 2-нафтиламин, 1,3-циклогександион, 5,5-диметилциклогександион, 2,4,6-тригидроксипиримидин, сложные эфиры, каскадная трехкомпонентная конденсация, квантово-химическое моделирование

**Для цитирования.** Синтез производных акридина, бисакридина и хинолина с 1,2-азольными, пиридиновыми и ферроценовыми фрагментами анионитами / Е. А. Акишина [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2020. – Т. 56, № 4. – С. 445–456. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-445-456>

**Е. А. Akishina,<sup>1</sup> D. V. Kazak,<sup>1</sup> E. A. Dikusar,<sup>1</sup> R. S. Alekseev,<sup>2</sup> N. A. Bumagin,<sup>2</sup> V. I. Potkin<sup>1</sup>**<sup>1</sup>*Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*  
<sup>2</sup>*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation***SYNTHESIS OF ACRIDINE, BISACRIDINE AND QUINOLINE DERIVATIVES WITH 1,2-AZOLIC,  
PYRIDINE AND FERROCENE FRAGMENTS**

**Abstract.** Natural and synthetic derivatives of acridine and pyrimidoquinoline series are of considerable interest for study as antiviral, antitumor, antibacterial, antiparasitic agents; they are also useful in the treatment of Alzheimer's disease. The combination of acridine and pyrimidoquinoline cycles with other pharmacophore groups can lead to a synergistic effect of their properties, the appearance of new types of biological activity, as well as a reducing of the severity of side effects. The synthesis of new derivatives of 8,9,10,12-tetrahydrobenzo[*a*]acridin-11(7H)-one and 10,12-dihydrobenzo[*f*] pyrimido [4,5-*b*] quinoline-9,11 (7H, 8H)-dione containing isoxazole, isothiazole heterocycles, ferrocene fragment, as well as nicotinic and isonicotinic acid residues covalently attached via ester groups to different positions of the aromatic nucleus, is described. A three-component cascade condensation of aromatic amines, aldehydes and cyclic β-dicarbonyl compounds was carried out by refluxing in butanol. The heat effects of the cyclization reaction have been determined using the DFT / B3LYP / MIDI method. The cytotoxic activity of the synthesized compounds was assessed on four different cancer cell lines (RKO, COLO320, LS174T, SW480).

**Keywords:** benzoacridines, pyrimidoquinolines, 1,2-azoles, pyridines, ferrocenes, 2-naphthylamine, 1,3-cyclohexanedione, 5,5-dimethylcyclohexanedione, 2,4,6-trihydropyrimidine, esters, cascade three-component condensation, quantum chemical modeling

**For citation.** Akishina E. A., Kazak D. V., Dikusar E. A., Alekseev R. S., Bumagin N. A., Potkin V. I. Synthesis of acridine, bisacridine and quinoline derivatives with 1,2-azolic, pyridine and ferrocene fragments. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*, 2020, vol. 56, no. 4, pp. 445–456 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-445-456>

**Введение.** В настоящее время большое внимание уделяется разработке новых биологически активных субстанций акридинового и хинолинового ряда в связи с широким спектром биологической активности препаратов, полученных на основе данной группы соединений. Природные и синтетические производные акридина представляют значительный интерес для исследования их в качестве противовирусных [1], противоопухолевых [2], антибактериальных [3] или противопаразитарных агентов [4], они также применимы при лечении болезни Альцгеймера [5]. В фармакологии активно применяются такие препараты, как Циклоферон, Акрихин, Амсакрин, Риванол, исследуются их различные модификации. Кроме того, различные производные акридина являются известными пигментами и красителями и благодаря длинной цепи сопряжения могут выступать в качестве маркеров флуоресценции и визуализации, использоваться в лазерных технологиях, в области органических полупроводниковых материалов в качестве альтернативы металлическим полупроводникам [6].

Производные акридина также интенсивно изучаются в качестве потенциальных противоопухолевых средств, механизм действия которых основан на интеркалировании в ДНК опухолевых клеток и последующем блокировании процессов репликации и транскрипции. Комбинация акридинового и пиримидохинолинового циклов с другими фармакофорными группами, может привести к эффекту синергизма их свойств, появлению новых, неустановленных для данных структурных фрагментов видов биологической активности, а также снижению выраженности побочных эффектов [7]. Экспериментально доказано, например, что сочетание цитотоксического эффекта ферроценового фрагмента и способности акридинов связываться с ДНК обеспечивают сильное взаимодействие с целевой клеточной мишенью, увеличивая цитотоксичность соединения [8]. Поэтому разработка новых, простых и универсальных методов синтеза сложных молекул бензоакридинового и пиримидохинолинового ряда, дополненных другими фармакофорными группами, изучение их химических свойств, а также поиск биологически активных соединений среди данных соединений является весьма актуальной задачей [9–11].

Цель данной работы – синтез и оценка противоопухолевой активности новых производных 8,9,10,12-тетрагидробензо[*a*]акридин-11(7*H*)-она и 10,12-дигидробензо[*f*]пиримидо[4,5-*b*]хинолин-9,11(7*H*,8*H*)-диона, содержащих изоксазольный, изотиазольный гетероциклы, ферроценовый фрагмент, а также остатки никотиновой и изоникотиновой кислот, ковалентно присоединенных с помощью сложноэфирных групп к различным положениям ароматического ядра. Следует также отметить, что синтезируемые соединения, являясь полиазотсодержащими гетероциклическими соединениями, могут рассматриваться в качестве потенциальных лигандов для получения комплексов переходных металлов и их последующего применения в качестве катализаторов различных процессов [12, 13].

**Методика исследований.** Трехкомпонентная каскадная конденсация ароматических аминов, альдегидов и циклических β-дикарбонильных соединений представляет собой удобный одностадийный метод синтеза полиядерных гетероциклических систем. Циклизацию проводили кипячением в бутаноле исходных компонентов в течение 24 ч. Для синтеза акридиновых и хинолиновых производных с 1,2-азольными и ферроценовыми фрагментами **1–10** и соединений **17–34** с пиридиновым фрагментом исходные вещества были взяты в стехиометрическом соотношении (1:1:1), а для бисакридиновых и бисхинолиновых соединений **11–16** соответствующие альдегиды и 1,3-циклодикетоны или 2,4,6-тригидроксипиримидин были взяты в двукратном избытке по отношению к 1,5-нафталиндиамину (1:1:2) (рис. 1, 2). Состав и строение синтезированных соединений доказано данными элементного анализа, ЯМР-, ИК-, УФ- и масс-спектров.

Путем квантово-химических расчетов с использованием метода DFT с применением уровня теории B3LYP/MIDI и программного пакета GAMESS [14], базисного набора MIDI [15] было

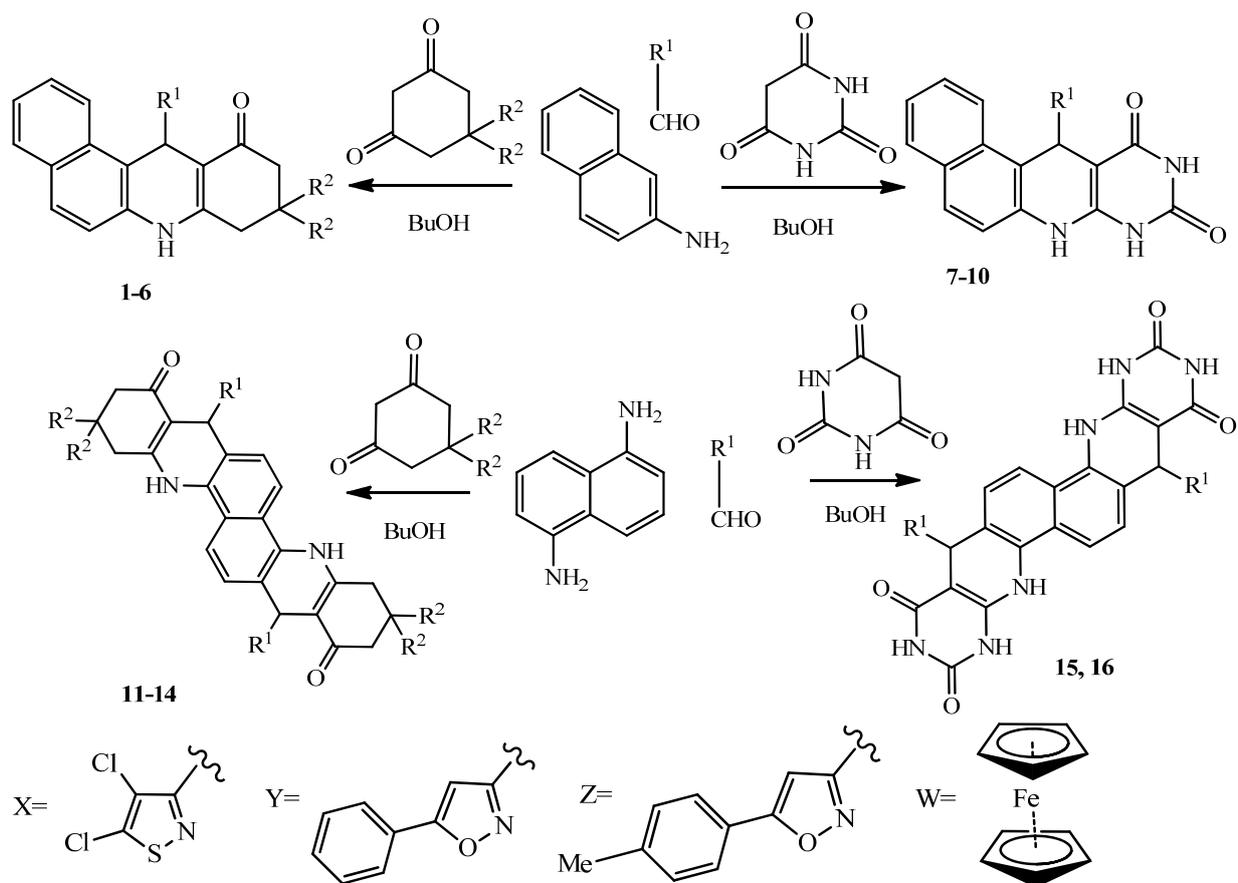


Рис. 1. Схема синтеза соединений 1–16

Fig. 1. Synthesis of compounds 1–16

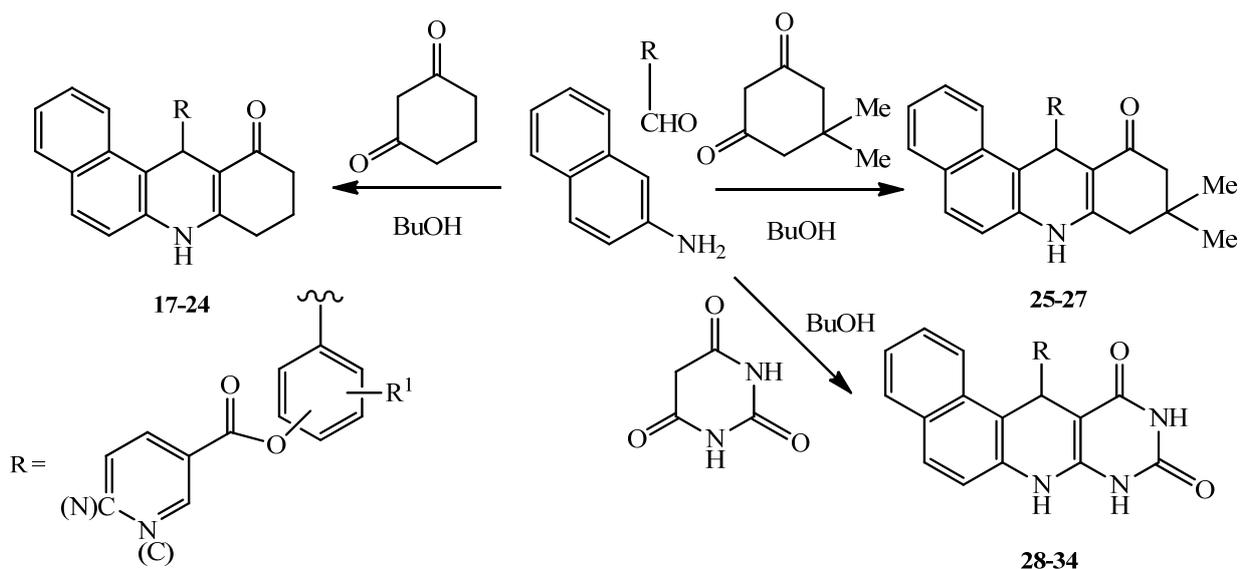


Рис. 2. Схема синтеза соединений 17–34

Fig. 2. Synthesis of compounds 17–34

проведено моделирование структур акридинов **18**, **22**, **23**, **25–27** и исходных соединений для их получения 2-нафтиламина **35**, 1,3-циклогександиона **36**, 5,5-диметил-1,3-циклогександиона (димедона) **37**, 3-формилфенилникотината **38**, 4-формилфенилникотината **39**, 3-формилфенилизоникотината **40**, 4-формилфенилизоникотината **41**, а также продукта конденсации – воды **42**. В процессе расчетов проводили полную оптимизацию всех геометрических параметров до достижения минимумов полных электронных энергий. Полные энергии систем ( $E$ , а.е.), вычисленные методом DFT, расчетные тепловые эффекты процесса каскадной трехкомпонентной конденсации ( $\Delta E$ , кДж/моль) дипольные моменты ( $D$ , Д) приведены в таблице.

$$\Delta E = [E_{18, 22, 23, 25-27} + 2E_{42}] - [E_{35} + E_{36,37} + E_{38-41}].$$

**Полные энергии систем ( $E$ , а.е.), вычисленные методом DFT, расчетные тепловые эффекты процесса конденсации ( $\Delta E$ , кДж/моль) и дипольные моменты ( $D$ , Д) соединений **18**, **22**, **23**, **25–27**, **35–42****

**Total energies of systems ( $E$ , a.u.) calculated by the DFT method, calculated heat effects of the condensation process ( $\Delta E$ , kJ/mol) and dipole moments ( $D$ , D) of compounds **18**, **22**, **23**, **25–27**, **35–42****

Номер соединения	$E$ , а.е. (Хартри)	$D$ , Д	$\Delta E$ , кДж/моль
18	-1445,0105023946	6,11	+65,22
22	-1445,0134688265	9,39	+52,21
23	-1445,0089456960	7,54	+65,92
25	-1523,1827518119	9,54	+68,51
26	-1523,1860995639	9,31	+54,50
27	-1523,1817776625	7,55	+67,68
35	-438,6636727423	2,67	–
36	-381,6325538898	3,66	–
37	-459,8060570168	3,71	–
38	-776,6331430635	3,51	–
39	-776,6337003103	5,31	–
40	-776,6317113851	2,85	–
41	-776,6324106770	2,85	–
42	-75,9472917824	2,22	–

Примечание. 1 а.е. (Хартри) = 2625,5 кДж/моль.

**Результаты исследований.** Данные квантово-химических расчетов выявили незначительный эндотермический эффект каскадной трехкомпонентной конденсации (в пределах 52–68 кДж/моль), чем и был обусловлен выбор растворителя (бутанол, т. кип. 117,7 °С) для проведения этой реакции (кипение 24 ч).

Для определения цитотоксической активности синтезированных соединений **1**, **2**, **5**, **6**, **11**, **13**, **19–22** использовали стандартный МТТ-тест [16]. В качестве объектов исследования взяты четыре различных клеточных линии колоректального рака (RKO, COLO320, LS174T, SW480). Установлено, что соединения **2**, **11**, **19–21** заметно не снижали метаболическую активность раковых клеток. Наибольшую цитотоксическую активность проявили акридиновые производные **1**, **6**, **13**, **22** в отношении LS174T клеток ( $B = 38–58\%$ ). Они пройдут дополнительные исследования с целью получения дозозависимых характеристик (IC50). Результаты испытаний представлены в процентах к контролю, в котором клетки содержали только культуральную среду (рис. 3). Выживаемость клеток рассчитывали по отношению величины оптического поглощения опытных проб к контрольным пробам по формуле:

$$B = \left( \frac{\Pi_0}{\Pi_k} \right) \cdot 100\%. \quad (2)$$

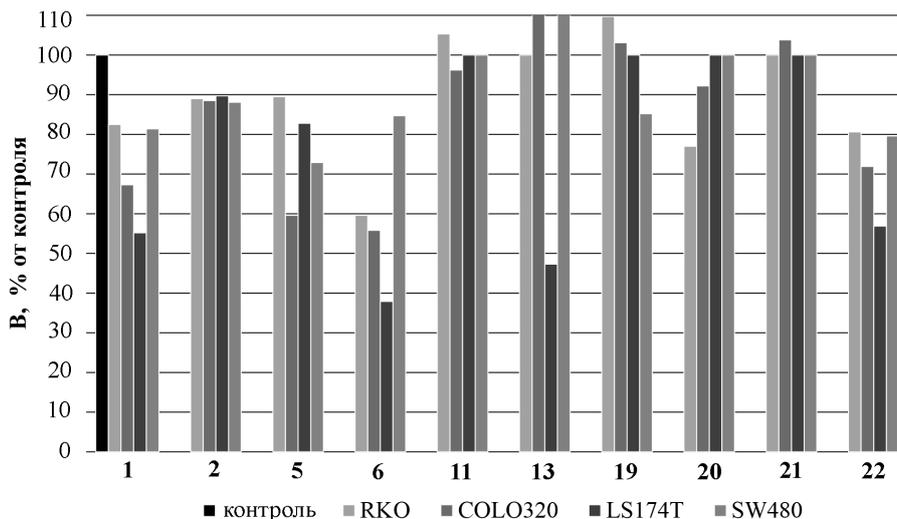


Рис. 3. Цитотоксическое действие акридиновых производных 1, 2, 5, 6, 11, 13, 19–22

Fig. 3. Cytotoxic effect of acridine derivatives 1, 2, 5, 6, 11, 13, 19–22

**Заклучение.** Разработан удобный одностадийный способ синтеза производных акридина, бисакридина и пиримидохинолина, дополненных различными фармакофорными фрагментами. С помощью квантово-химических расчетов выявлено, что реакция каскадной трехкомпонентной конденсации сопровождается незначительным эндотермическим тепловым эффектом, что предопределило выбор в качестве растворителя бутанола. Некоторые из синтезированных соединений, а в особенности производные акридина и бисакридина с ферроценовым фрагментом **6**, **13**, проявили значительную цитотоксическую активность в отношении раковых клеток LS174T.

### Экспериментальная часть

ИК-спектры соединений записаны на Фурье-спектрофотометре Protege-460 фирмы Nicolet с приготовлением образцов в виде таблеток с KBr. УФ-спектры соединений **1–4**, **7**, **9–12**, **15**, **17–34** были сняты на спектрофотометре Varian Cary 300 с использованием кварцевых кювет с  $l = 1$  см. В качестве растворителя применяли метанол. Концентрация исследуемых соединений составляла  $c = 10^{-5}$  моль/л. Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  соединений **1**, **3**, **26** сняты на спектрометре Avance-500 Bruker в ДМСО- $d_6$ ) относительно остаточных сигналов растворителя [ДМСО- $d_6$ ,  $\delta\text{H}$  2.5,  $\delta\text{C}$  40.1 м.д.]. Запись ЯМР спектров остальных соединений оказалась невозможной из-за их крайне низкой растворимости в обычно применяемых растворителях. Элементный анализ C, H, N,S-содержащих соединений выполнялся на CHNS-анализаторе Vario MICRO cube V1.9.7., остальных – классическими методами микроанализа.

Для синтезов использовали 1,3-циклогександион, 5,5-диметилциклогексан-1,3-дион, 2,4,6-тригидрокси-пиримидин, 2-нафтиламин, 1,5-нафталиндиамин квалификации «ч. д. а.»; сложные эфиры никотиновой и изоникотиновой кислот были синтезированы по методике [17].

**Акридины 1–10 (общая методика).** Смесь 1,00 ммоль альдегида, 1,05 ммоль 2-нафтиламина и 1,05 ммоль 1,3-циклогександиона (5,5-диметилциклогексан-1,3-диона или 2,4,6-тригидрокси-пиримидина) в 30 мл бутанола кипятили с обратным холодильником 24 ч. После прекращения выпадения осадка, смесь охлаждали в холодильнике, осадок отфильтровывали в вакууме через стеклянный фильтр Шотта, промывали небольшим количеством холодного бутанола и сушили в воздушном термостате при  $50^\circ\text{C}$  до постоянной массы.

**12-(4,5-Дихлоризотиазол-3-ил)-8,9,10,12-тетрагидробензо[а]акридин-11(7H)-он (1).** Выход 0,29 г (72 %), т. пл.  $>310^\circ\text{C}$ . ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3257, 3179, 3074, 2925, 2854, 1635, 1584, 1521, 1491, 1466, 1430, 1422, 1400, 1413, 1387, 1369, 1317, 1289, 1237, 1188, 1140, 1129, 1078, 1063, 1050, 1029, 1011, 977, 958, 947, 902, 871, 855, 817, 763, 749, 699, 658, 647, 606, 592, 552, 536, 520, 512, 470, 459, 413. УФ спектр,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 216 (34000), 232 (54000), 270 (16000), 281 (21000), 291 (24000),

339 (7000), 376 (10000). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (500 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м. д.: 1,76–1,87 м (1H,  $\text{CH}_2$ ), 1,91–2,00 м (1H,  $\text{CH}_2$ ), 2,17–2,32 м (2H,  $\text{CH}_2$ ), 2,60–2,67 м (2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,15 с (1H, CH), 7,26 д (1H<sub>аром</sub>,  $J$  8,8 Гц), 7,33 т (1H<sub>аром</sub>,  $J$  7,4 Гц), 7,48 т (1H<sub>аром</sub>,  $J$  7,2 Гц), 7,80 т (2H<sub>аром</sub>,  $J$  8,9 Гц), 8,02 д (1H<sub>аром</sub>,  $J$  8,5 Гц), 9,96 с (1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (125 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta_{\text{C}}$ , м. д.: 21,52 ( $\text{CH}_2$ ), 27,49 ( $\text{CH}_2$ ), 35,85 (CH), 37,14 ( $\text{CH}_2$ ), 117,84 (1CH<sub>аром</sub>), 122,29 (1CH<sub>аром</sub>), 124,36 (1CH<sub>аром</sub>), 127,67 (1CH<sub>аром</sub>), 129,21 (1CH<sub>аром</sub>), 129,35 (1CH<sub>аром</sub>), 105,55, 113,63, 122,51, 130,76, 131,95, 135,10, 146,81, 154,40, 170,95, 193,90 (10C<sub>четв</sub>). Найдено, %: C 59,99; H 3,53; Cl 17,65; N 7,01; S 7,93.  $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{OS}$ . Вычислено, %: C 59,86; H 3,52; Cl 17,67; N 6,98; S 7,99. *M* 401,31.

**12-(4,5-Дихлоризотиазол-3-ил)-9,9-диметил-8,9,10,12-тетрагидробензо[а]акридин-11(7H)-он (2).** Выход 0,34 г (79 %), т. пл.  $>310^\circ\text{C}$ . ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3249, 3179, 3079, 2959, 2925, 2878, 1638, 1594, 1583, 1523, 1495, 1469, 1427, 1400, 1371, 1347, 1260, 1228, 1183, 1170, 1154, 1127, 1090, 1034, 1013, 983, 974, 964, 949, 937, 880, 820, 790, 780, 750, 720, 706, 656, 618, 587, 573, 522, 497, 474, 433. УФ спектр,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 216 (33000), 233 (54000), 270 (15000), 282 (20000), 292 (24000), 341 (7000), 378 (10000). Найдено, %: C 61,65; H 4,24; Cl 16,45; N 6,51; S 7,43.  $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{OS}$ . Вычислено, %: C 61,54; H 4,23; Cl 16,51; N 6,52; S 7,47. *M* 429,36.

**12-(5-Фенилизоксазол-3-ил)-8,9,10,12-тетрагидробензо[а]акридин-11(7H)-он (3).** Выход 0,29 г (73 %), т. пл. 252–254  $^\circ\text{C}$ . ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3265, 3188, 3092, 3067, 3017, 2947, 2888, 1599, 1584, 1520, 1496, 1471, 1447, 1426, 1400, 1380, 1337, 1320, 1284, 1236, 1190, 1139, 1120, 1067, 1044, 1030, 1006, 962, 948, 910, 850, 822, 809, 765, 749, 692, 669, 609, 588, 537, 526, 516, 484, 464, 451, 418. УФ спектр,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 213 (39000), 231 (54000), 268 (30000), 278 (31000), 289 (29000), 320 (6000), 336 (8000), 365 (9000). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (500 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м. д.: 1,88–2,03 м (2H,  $\text{CH}_2$ ), 2,27–2,35 м (2H,  $\text{CH}_2$ ), 2,60–2,76 м (2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,07 с (1H, CH), 6,74 с (1H, CH<sub>изокс</sub>), 7,29 д (1H<sub>аром</sub>,  $J$  8,7 Гц), 7,37 т (1H<sub>аром</sub>,  $J$  7,4 Гц), 7,39–7,46 м (3H<sub>аром</sub>), 7,53 т (1H<sub>аром</sub>,  $J$  7,2 Гц), 7,72 дд (2H<sub>аром</sub>,  $J$  7,8, 1,5 Гц), 7,77–7,85 м (2H<sub>аром</sub>), 8,13 д (1H<sub>аром</sub>,  $J$  8,6 Гц), 9,93 с (1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (125 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta_{\text{C}}$ , м. д.: 21,91 ( $\text{CH}_2$ ), 27,90 ( $\text{CH}_2$ ), 29,49 (CH), 37,59 ( $\text{CH}_2$ ), 100,74 (CH<sub>изокс</sub>), 118,01 (1CH<sub>аром</sub>), 123,32 (1CH<sub>аром</sub>), 124,79 (1CH<sub>аром</sub>), 126,39 (2CH<sub>аром</sub>), 127,93 (1CH<sub>аром</sub>), 129,41 (1CH<sub>аром</sub>), 129,46 (1CH<sub>аром</sub>), 130,03 (2CH<sub>аром</sub>), 131,06 (1CH<sub>аром</sub>), 105,27, 114,11, 127,85, 131,38, 132,21, 135,33, 155,26, 168,30, 169,31, 194,50 (10C<sub>четв</sub>). Найдено, %: C 79,65; H 5,16; N 7,13.  $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$ . Вычислено, %: C 79,57; H 5,14; N 7,14. *M* 392,45.

**12-(5-(*n*-Толил)изоксазол-3-ил)-8,9,10,12-тетрагидробензо[а]акридин-11(7H)-он (4).** Выход 0,31 г (76 %), т. пл. 255–257  $^\circ\text{C}$ . ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3263, 3185, 3091, 3063, 3017, 2954, 2920, 1600, 1584, 1520, 1497, 1471, 1455, 1426, 1401, 1383, 1340, 1317, 1287, 1266, 1237, 1189, 1136, 1047, 1033, 1007, 963, 947, 819, 805, 773, 753, 700, 673, 588, 537, 517, 505, 490, 458. УФ спектр,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 215 (41000), 231 (53000), 278 (37000), 290 (34000), 320 (6000), 336 (8000), 366 (9000). Найдено, %: C 79,82; H 5,46; N 6,91.  $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$ . Вычислено, %: C 79,78; H 5,46; N 6,89. *M* 406,48.

**12-Ферроценил-8,9,10,12-тетрагидробензо[а]акридин-11(7H)-он (5).** Выход 0,31 г (71 %), т. пл.  $>310^\circ\text{C}$ . ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3275, 3191, 3089, 2931, 2870, 1596, 1581, 1519, 1493, 1464, 1427, 1396, 1386, 1312, 1280, 1234, 1189, 1135, 1106, 1070, 1040, 1027, 1001, 953, 852, 817, 769, 739, 580, 478. Найдено, %: C 74,92; H 5,36; Fe 12,87; N 3,22.  $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{FeNO}$ . Вычислено, %: C 74,84; H 5,35; Fe 12,89; N 3,23. *M* 433,32.

**12-Ферроценил-9,9-диметил-8,9,10,12-тетрагидробензо[а]акридин-11(7H)-он (6).** Выход 0,34 г (74 %), т. пл.  $>310^\circ\text{C}$ . ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3274, 3191, 3087, 2950, 2926, 2866, 1598, 1582, 1519, 1492, 1467, 1427, 1396, 1383, 1347, 1280, 1260, 1236, 1180, 1149, 1130, 1106, 1033, 1023, 1000, 815, 760, 743, 581, 488, 474. Найдено, %: C 75,60; H 5,92; Fe 12,09; N 3,02.  $\text{C}_{29}\text{H}_{27}\text{FeNO}$ . Вычислено, %: C 75,49; H 5,90; Fe 12,10; N 3,04. *M* 461,38.

**12-(4,5-Дихлоризотиазол-3-ил)-10,12-дигидробензо[*f*]пиримидо[4,5-*b*]хинолин-9,11(7H,8H)-дион (7).** Выход 0,30 г (71 %), т. пл.  $>310^\circ\text{C}$ . ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3303, 3049, 2928, 2825, 1707, 1693, 1641, 1620, 1591, 1548, 1476, 1446, 1414, 1400, 1372, 1337, 1296, 1230, 1127, 1100, 1046, 970, 867, 823, 773, 753, 733, 700, 660, 564, 513, 453, 433. УФ спектр,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 217 (34000), 239 (40000), 264 (19000), 276 (18000), 285 (19000), 324 (5000), 339 (4000). Найдено, %: C 51,94; H 2,44; Cl 16,85; N 13,41; S 7,64.  $\text{C}_{18}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ . Вычислено, %: C 51,81; H 2,42; Cl 16,99; N 13,43; S 7,68. *M* 417,27.

**12-Ферроценил-10,12-дигидробензо[*f*]пиримидо[4,5-*b*]хинолин-9,11(7*H*,8*H*)-дион (8).** Выход 0,32 г (72 %), т. пл. >310 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3200, 3145, 3096, 3051, 2956, 2929, 2853, 1703, 1650, 1587, 1546, 1461, 1407, 1390, 1373, 1339, 1310, 1249, 1106, 1053, 1040, 1000, 819, 794, 543, 513, 477. Найдено, %: С 66,90; Н 4,29; Fe 12,40; N 9,32.  $\text{C}_{25}\text{H}_{19}\text{FeN}_3\text{O}_2$ . Вычислено, %: С 66,83; Н 4,26; Fe 12,43; N 9,35. *M* 449,28.

**12-(5-Фенилизоксазол-3-ил)-10,12-дигидробензо[*f*]пиримидо[4,5-*b*]хинолин-9,11(7*H*,8*H*)-дион (9).** Выход 0,29 г (71 %), т. пл. >310 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3365, 3318, 3197, 3076, 2957, 2929, 2855, 1709, 1660, 1643, 1613, 1592, 1573, 1545, 1522, 1473, 1448, 1402, 1387, 1365, 1341, 1304, 1234, 1196, 1187, 1160, 1127, 1080, 1042, 1027, 973, 947, 913, 867, 822, 808, 758, 720, 681, 669, 567, 556, 537, 520, 505. УФ спектр,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 210 (36000), 242 (45000), 271 (34000), 317 (5000), 381 (2000). Найдено, %: С 70,63; Н 3,97; N 13,70.  $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_3$ . Вычислено, %: С 70,58; Н 3,95; N 13,72. *M* 408,41.

**12-(5-(*n*-Толил)изоксазол-3-ил)-10,12-дигидробензо[*f*]пиримидо[4,5-*b*]хинолин-9,11(7*H*,8*H*)-дион (10).** Выход 0,31 г (73 %), т. пл. 300–302 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3392, 3318, 3199, 3078, 3030, 2957, 2925, 2856, 1709, 1660, 1641, 1594, 1546, 1512, 1473, 1456, 1420, 1403, 1388, 1342, 1304, 1235, 1184, 1160, 1123, 1080, 1044, 1020, 973, 949, 867, 827, 814, 773, 754, 713, 667, 567, 557, 533, 520, 505. УФ спектр,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 214 (24000), 243 (25000), 272 (25000), 319 (3000), 381 (2000). Найдено, %: С 71,12; Н 4,30; N 13,23.  $\text{C}_{25}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3$ . Вычислено, %: С 71,08; Н 4,29; N 13,26. *M* 422,44.

**Акридины 11–16 (общая методика).** Смесь 2,00 ммоль альдегида, 1,05 ммоль 1,5-нафталин-диамин и 2,10 ммоль 1,3-циклогександиона (5,5-диметил-1,3-циклогександиона или 2,4,6-тригидрокси-пиримидина) в 30 мл бутанола кипятили с обратным холодильником 24 ч. После прекращения выпадения осадка, смесь охлаждали в холодильнике, осадок отфильтровывали в вакууме через стеклянный фильтр Шотта, промывали небольшим количеством холодного бутанола и сушили в воздушном термостате при 50 °С до постоянной массы.

**8,16-Бис(4,5-дихлоризотиазол-3-ил)-3,4,8,10,11,12,13,16-октагидроакридино[4,3-*c*]акридин-1,9(2*H*,5*H*)-дион (11).** Выход 0,53 г (78 %), т. пл. 308–310 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3230, 3242, 3100, 3025, 2925, 2858, 1627, 1589, 1518, 1497, 1417, 1389, 1370, 1335, 1265, 1194, 1173, 1132, 1091, 1077, 997, 972, 907, 873, 853, 813, 800, 754, 713, 690, 673, 607, 577, 539, 487. УФ спектр,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 215 (8000), 261 (10000), 292 (3000), 346 (3000), 383 (4000), 397 (4000). Найдено, %: С 53,50; Н 3,01; Cl 21,01; N 8,29; S 9,45.  $\text{C}_{30}\text{H}_{20}\text{Cl}_4\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$ . Вычислено, %: С 53,42; Н 2,99; Cl 21,03; N 8,31; S 9,51. *M* 674,45.

**8,16-Бис(4,5-дихлоризотиазол-3-ил)-3,3,11,11-тетраметил-3,4,8,10,11,12,13,16-октагидроакридино[4,3-*c*]акридин-1,9(2*H*,5*H*)-дион (12).** Выход 0,58 г (79 %), т. пл. 310–312 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3314, 3242, 3100, 3025, 2951, 2925, 2866, 1633, 1590, 1518, 1494, 1420, 1387, 1367, 1333, 1257, 1170, 1149, 1123, 1090, 1071, 1028, 987, 969, 890, 867, 807, 755, 673, 637, 612, 552, 500, 440. УФ спектр,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 209 (15000), 224 (15000), 263 (21000), 294 (9000), 386 (10000), 403 (10000). Найдено, %: С 56,12; Н 3,89; Cl 19,48; N 7,72; S 8,76.  $\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{Cl}_4\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$ . Вычислено, %: С 55,90; Н 3,86; Cl 19,41; N 7,67; S 8,78. *M* 730,55.

**8,16-Диферроценил-3,4,8,10,11,12,13,16-октагидроакридино[4,3-*c*] акридин-1,9(2*H*,5*H*)-дион (13).** Выход 0,55 г (75 %), т. пл. >310 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3319, 3086, 2947, 2919, 2863, 1590, 1518, 1486, 1412, 1378, 1344, 1317, 1262, 1190, 1183, 1168, 1132, 1105, 1035, 1020, 992, 920, 813, 781, 750, 727, 647, 535, 479. Найдено, %: С 71,77; Н 5,21; Fe 15,09; N 3,75.  $\text{C}_{44}\text{H}_{38}\text{Fe}_2\text{N}_2\text{O}_2$ . Вычислено, %: С 71,56; Н 5,19; Fe 15,12; N 3,79. *M* 738,47.

**8,16-Диферроценил-3,3,11,11-тетраметил-3,4,8,10,11,12,13,16-октагидроакридино[4,3-*c*] акридин-1,9(2*H*,5*H*)-дион (14).** Выход 0,60 г (76 %), т. пл. >310 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3210, 3017, 2956, 2928, 2867, 1593, 1522, 1502, 1467, 1410, 1369, 1276, 1244, 1167, 1149, 1125, 1070, 1000, 970, 928, 890, 870, 823, 780, 727, 608, 517, 477. Найдено, %: С 72,79; Н 5,86; Fe 14,03; N 3,50.  $\text{C}_{48}\text{H}_{46}\text{Fe}_2\text{N}_2\text{O}_2$ . Вычислено, %: С 72,56; Н 5,84; Fe 14,06; N 3,53. *M* 794,58.

**8,16-Бис(4,5-дихлоризотиазол-3-ил)-10,12,13,16-тетрагидропиримидо [4,5-*b*]пиримидо[4',5':2,3]хинолино[8,7-*h*]хинолино-1,3,9,11(2*H*,4*H*,5*H*,8*H*)-тетраон (15).** Выход 0,55 г (78 %), т. пл. 310–312 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 3280, 3092, 2958, 2928, 2871, 2855, 1732, 1657, 1619, 1597, 1551, 1416, 1378, 1345, 1280, 1264, 1240, 1216, 1177, 1103, 1067, 1024, 978, 891, 807, 776, 757, 671, 562, 519, 497. УФ спектр,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 216 (40000), 249 (39000), 263 (39000), 300 (3000), 349 (12000), 403 (10000).

Найдено, %: С 44,43; Н 1,73; Cl 20,03; N 15,85; S 9,03.  $C_{26}H_{12}Cl_4N_8O_2S_2$ . Вычислено, %: С 44,21; Н 1,71; Cl 20,08; N 15,86; S 9,08. *M* 706,37.

**8,16-Диферроценил-10,12,13,16-тетрагидропиримидо [4,5-*b*]пиримидо [4',5':2,3]хинолино[8,7-*h*]хинолино-1,3,9,11(2*H*,4*H*,5*H*,8*H*)-тетраон (16).** Выход 0,60 г (78 %), т. пл. >310 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3227, 3091, 2955, 2929, 2869, 1700, 1623, 1581, 1455, 1432, 1408, 1390, 1372, 1338, 1250, 1210, 1106, 1040, 1027, 1001, 819, 793, 774, 543, 483. Найдено, %: С 62,67; Н 3,95; Fe 14,48; N 10,90.  $C_{40}H_{30}Fe_2N_6O_4$ . Вычислено, %: С 62,36; Н 3,93; Fe 14,50; N 10,91. *M* 770,39.

**Акридины 17-34 (общая методика).** Смесь 1,00 ммоль сложного эфира никотиновой/изоникотиновой кислоты и гидроксibenзальдегида, 1,05 ммоль 2-нафтиламина и 1,05 ммоль 1,3-циклогександиона (5,5-диметил-1,3-циклогександиона или 2,4,6-тригидрокси-пиримидина) в 30 мл бутанола кипятили с обратным холодильником 24 ч. После прекращения выпадения осадка, смесь охлаждали в холодильнике, осадок отфильтровывали в вакууме через стеклянный фильтр Шотта, промывали небольшим количеством холодного бутанола и сушили в воздушном термостате при 50°C до постоянной массы.

**3-(11-Оксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[*a*]акридин-12-ил)фенил никотинат (17).** Выход 0,35 г (78 %), т. пл. >310 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3259, 3167, 3064, 2945, 2872, 1739, 1607, 1593, 1575, 1520, 1481, 1464, 1429, 1389, 1313, 1272, 1250, 1237, 1217, 1188, 1134, 1083, 1022, 1001, 960, 907, 823, 796, 754, 743, 732, 700, 688, 651, 623, 600, 575, 550, 526, 480, 468, 417. УФ спектр,  $\lambda_{max}$ , нм ( $\epsilon$ ): 217 (50000), 230 (58000), 269 (15000), 279 (19000), 291 (21000), 338 (8000), 367 (9000). Найдено, %: С 78,15; Н 5,00; N 6,26.  $C_{29}H_{22}N_2O_3$ . Вычислено, %: С 78,01; Н 4,97; N 6,27. *M* 446,50.

**4-(11-Оксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[*a*]акридин-12-ил)фенил никотинат (18).** Выход 0,31 г (70 %), т. пл. >310 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3259, 3187, 3085, 3050, 3017, 2954, 2921, 2867, 1746, 1618, 1598, 1583, 1520, 1494, 1467, 1426, 1397, 1384, 1336, 1323, 1282, 1238, 1203, 1192, 1170, 1139, 1124, 1091, 1020, 961, 903, 843, 817, 807, 750, 730, 698, 616, 583, 540, 517, 484. УФ спектр,  $\lambda_{max}$ , нм ( $\epsilon$ ): 218 (37000), 230 (42000), 280 (14000), 291 (16000), 339 (6000), 367 (7000). Найдено, %: С 78,13; Н 4,99; N 6,25.  $C_{29}H_{22}N_2O_3$ . Вычислено, %: С 78,01; Н 4,97; N 6,27. *M* 446,50.

**2-Метокси-5-(11-оксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[*a*]акридин-12-ил)фенилникотинат (19).** Выход 0,36 г (75 %), т. пл. 305–310 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3236, 3163, 3057, 2958, 2936, 1740, 1590, 1578, 1517, 1496, 1464, 1453, 1420, 1386, 1337, 1317, 1284, 1267, 1237, 1205, 1177, 1135, 1124, 1110, 1070, 1050, 1018, 956, 914, 900, 850, 814, 755, 733, 723, 696, 650, 630, 600, 584, 546, 502, 475, 466. УФ спектр,  $\lambda_{max}$ , нм ( $\epsilon$ ): 228 (49000), 280 (16000), 291 (18000), 338 (7000), 368 (8000). Найдено, %: С 75,75; Н 5,12; N 5,81.  $C_{30}H_{24}N_2O_4$ . Вычислено, %: С 75,61; Н 5,08; N 5,88. *M* 476,52.

**2-Метокси-4-(11-оксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[*a*]акридин-12-ил)фенилникотинат (20).** Выход 0,32 г (68 %), т. пл. 297–300 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3265, 3190, 3088, 3013, 2936, 2871, 1745, 1601, 1584, 1578, 1519, 1494, 1469, 1427, 1418, 1400, 1384, 1333, 1284, 1270, 1236, 1191, 1143, 1120, 1087, 1073, 1022, 963, 900, 873, 851, 822, 808, 752, 730, 700, 640, 580, 528, 477. УФ спектр,  $\lambda_{max}$ , нм ( $\epsilon$ ): 218 (41000), 229 (43000), 280 (15000), 291 (16000), 338 (6000), 365 (7000). Найдено, %: С 75,80; Н 5,12; N 5,82.  $C_{30}H_{24}N_2O_4$ . Вычислено, %: С 75,61; Н 5,08; N 5,88. *M* 476,52.

**2-Этокси-4-(11-оксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[*a*]акридин-12-ил)фенилникотинат (21).** Выход 0,36 г (74 %), т. пл. 280–283 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3264, 3191, 3089, 3017, 2973, 2937, 1745, 1602, 1583, 1520, 1495, 1470, 1427, 1400, 1385, 1333, 1268, 1237, 1191, 1143, 1118, 1087, 1073, 1033, 1022, 964, 907, 870, 857, 822, 807, 773, 750, 729, 701, 637, 583, 529, 477, 463. УФ спектр,  $\lambda_{max}$ , нм ( $\epsilon$ ): 219 (52000), 229 (56000), 280 (19000), 291 (21000), 338 (8000), 366 (9000). Найдено, %: С 76,12; Н 5,41; N 5,69.  $C_{31}H_{26}N_2O_4$ . Вычислено, %: С 75,90; Н 5,34; N 5,71. *M* 490,55.

**3-(11-Оксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[*a*]акридин-12-ил)фенил-изоникотинат (22).** Выход 0,31 г (69 %), т. пл. 302–305 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3259, 3155, 3083, 3050, 2942, 2878, 1738, 1607, 1573, 1518, 1490, 1460, 1430, 1413, 1386, 1313, 1276, 1267, 1249, 1237, 1214, 1188, 1134, 1092, 1067, 1030, 1010, 1000, 990, 958, 907, 883, 850, 821, 799, 770, 757, 744, 708, 696, 686, 652, 630, 600, 574, 549, 530. УФ спектр,  $\lambda_{max}$ , нм ( $\epsilon$ ): 215 (49000), 231 (52000), 279 (20000), 291 (22000), 338 (8000), 366 (9000). Найдено, %: С 78,15; Н 5,01; N 6,23.  $C_{29}H_{22}N_2O_3$ . Вычислено, %: С 78,01; Н 4,97; N 6,27. *M* 446,50.

**4-(11-Оксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[*a*]акридин-12-ил)фенил-изоникотинат (23).** Выход 0,32 г (72 %), т. пл. 295–300 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3259, 3187, 3087, 2954, 2867, 1747, 1620, 1597,

1583, 1521, 1494, 1467, 1427, 1400, 1385, 1323, 1276, 1238, 1192, 1169, 1140, 1096, 1063, 1019, 960, 907, 844, 817, 752, 700, 680, 617, 587, 538, 480. УФ спектр,  $\lambda_{\max}$ , нм ( $\epsilon$ ): 216 (41000), 231 (39000), 280 (17000), 291 (18000), 339 (6000), 369 (6000). Найдено, %: С 78,20; Н 5,00; N 6,25.  $C_{29}H_{22}N_2O_3$ . Вычислено, %: С 78,01; Н 4,97; N 6,27. *M* 446,50.

**2-Метокси-5-(11-оксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[а]акридин-12-ил)фенилизоникотинат (24).** Выход 0,33 г (70 %), т. пл. >310 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3233, 3159, 3059, 2956, 2880, 1745, 1592, 1580, 1517, 1496, 1464, 1457, 1418, 1400, 1385, 1333, 1320, 1314, 1283, 1270, 1258, 1203, 1187, 1177, 1150, 1135, 1125, 1111, 1084, 1072, 1061, 1022, 956, 940, 917, 900, 857, 846, 827, 812, 771, 753, 703, 680, 631, 593, 585, 550, 507, 477. УФ спектр,  $\lambda_{\max}$ , нм ( $\epsilon$ ): 216 (43000), 229 (43000), 280 (17000), 291 (18000), 338 (7000), 365 (7000). Найдено, %: С 75,80; Н 5,12; N 5,85.  $C_{30}H_{24}N_2O_4$ . Вычислено, %: С 75,61; Н 5,08; N 5,88. *M* 476,52.

**4-(9,9-Диметил-11-оксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[а]акридин-12-ил)фенилникотинат (25).** Выход 0,33 г (70 %), т. пл. 280–282 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3274, 3189, 3083, 2956, 2925, 2871, 1743, 1633, 1616, 1592, 1581, 1520, 1492, 1470, 1427, 1418, 1396, 1383, 1348, 1321, 1301, 1279, 1262, 1240, 1202, 1167, 1147, 1123, 1090, 1034, 1024, 981, 937, 881, 850, 827, 809, 746, 730, 700, 619, 588, 545, 523, 490. УФ спектр,  $\lambda_{\max}$ , нм ( $\epsilon$ ): 217 (41000), 232 (48000), 281 (17000), 292 (19000), 340 (7000), 370 (8000). Найдено, %: С 78,59; Н 5,55; N 5,86.  $C_{31}H_{26}N_2O_3$ . Вычислено, %: С 78,46; Н 5,52; N 5,90. *M* 474,55.

**3-(9,9-Диметил-11-оксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[а]акридин-12-ил)фенилизоникотинат (26).** Выход 0,34 г (72 %), т. пл. 298–300 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3252, 3177, 3075, 3024, 2957, 2926, 2870, 1741, 1593, 1582, 1521, 1500, 1494, 1485, 1467, 1430, 1424, 1410, 1400, 1384, 1370, 1324, 1275, 1260, 1238, 1208, 1184, 1140, 1119, 1093, 1066, 1036, 1002, 815, 749, 704, 693, 664, 630, 593. УФ спектр,  $\lambda_{\max}$ , нм ( $\epsilon$ ): 215 (42000), 232 (44000), 280 (17000), 291 (18000), 339 (7000), 370 (8000). Спектр ЯМР  $^1H$  (500 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м. д.: 0,87 с (3H,  $CH_3$ ), 1,03 с (3H,  $CH_3$ ), 2,07 д (1H,  $CH_2$ ,  $J$  6,0 Гц), 2,23 д (1H,  $CH_2$ ,  $J$  6,0 Гц), 2,41 д (1H,  $CH_2$ ,  $J$  6,5 Гц), 2,52 д (1H,  $CH_2$ ,  $J$  6,5 Гц), 5,88 с (1H, CH), 6,99 дк (1H<sub>аром</sub>,  $J$  7,9, 1,1 Гц), 7,15 т (1H<sub>аром</sub>,  $J$  1,9 Гц), 7,19 д (1H<sub>аром</sub>,  $J$  5,9 Гц), 7,24 т (1H<sub>аром</sub>,  $J$  7,8 Гц), 7,29–7,36 м (2H<sub>аром</sub>), 7,43 т (1H<sub>аром</sub>,  $J$  7,6 Гц), 7,78–7,83 м (2H<sub>аром</sub>), 7,94 дд (2H<sub>пиримидин</sub>,  $J$  6,0, 1,6 Гц), 7,97 д (1H<sub>аром</sub>,  $J$  8,5 Гц), 8,84 дд (2H<sub>пиримидин</sub>,  $J$  6,0, 1,6, Гц), 9,75 с (1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}C$  (125 МГц, ДМСО- $d_6$ ),  $\delta_C$ , м. д.: 26,94 ( $CH_3$ ), 29,69 ( $CH_3$ ), 36,29 (CH), 40,72 ( $CH_2$ ), 50,85 ( $CH_2$ ), 117,66 (1CH<sub>аром</sub>), 119,61 (1CH<sub>аром</sub>), 120,98 (1CH<sub>аром</sub>), 123,01 (1CH<sub>аром</sub>), 123,51 (2CH<sub>пиримидин</sub>), 124,29 (1CH<sub>аром</sub>), 126,13 (1CH<sub>аром</sub>), 127,49 (1CH<sub>аром</sub>), 128,81 (1CH<sub>аром</sub>), 129,04 (1CH<sub>аром</sub>), 129,54 (1CH<sub>аром</sub>), 151,44 (2CH<sub>пиримидин</sub>), 32,76, 107,39, 116,41, 131,00, 131,83, 135,01, 136,85, 149,51, 150,62, 151,50, 163,93, 193,71 (12C<sub>четв</sub>). Найдено, %: С 78,53; Н 5,53; N 5,86.  $C_{31}H_{26}N_2O_3$ . Вычислено, %: С 78,46; Н 5,52; N 5,90. *M* 474,55.

**4-(9,9-Диметил-11-оксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[а]акридин-12-ил)фенилизоникотинат (27).** Выход 0,37 г (78 %), т. пл. 268–270 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3465, 3261, 3190, 3088, 3037, 2959, 2926, 2870, 1744, 1618, 1598, 1583, 1520, 1494, 1470, 1429, 1399, 1387, 1324, 1277, 1265, 1239, 1196, 1186, 1171, 1151, 1094, 1085, 1064, 1035, 1020, 983, 887, 849, 812, 753, 746, 699, 683, 663, 587, 547. УФ спектр,  $\lambda_{\max}$ , нм ( $\epsilon$ ): 216 (45000), 232 (47000), 281 (19000), 292 (21000), 339 (8000), 371 (9000). Найдено, %: С 78,55; Н 5,49; N 5,83.  $C_{31}H_{26}N_2O_3$ . Вычислено, %: С 78,46; Н 5,52; N 5,90. *M* 474,55.

**2-(9,11-Диоксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[*f*]пиримидо[4,5-*b*]хинолин-12-ил)фенилникотинат (28).** Выход 0,34 г (74 %), т. пл. 268–270 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3563, 3457, 3407, 3325, 3200, 3000, 2956, 2932, 2851, 2782, 1750, 1732, 1709, 1685, 1625, 1597, 1520, 1485, 1448, 1409, 1375, 1336, 1271, 1227, 1209, 1196, 1168, 1131, 1092, 1071, 1037, 1025, 983, 950, 810, 758, 733, 700, 630, 563, 493. УФ спектр,  $\lambda_{\max}$ , нм ( $\epsilon$ ): 212 (35000), 246 (32000), 270 (10000), 283 (8000), 320 (3000). Найдено, %: С 70,25; Н 3,96; N 12,03.  $C_{27}H_{18}N_4O_4$ . Вычислено, %: С 70,12; Н 3,92; N 12,12. *M* 462,46.

**3-(9,11-Диоксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[*f*]пиримидо[4,5-*b*]хинолин-12-ил)фенилникотинат (29).** Выход 0,34 г (74 %), т. пл. 304–306 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3351, 3205, 3153, 3071, 3006, 2958, 2925, 2851, 2782, 1745, 1712, 1684, 1620, 1587, 1519, 1482, 1449, 1413, 1384, 1333, 1271, 1247, 1218, 1193, 1153, 1132, 1080, 1027, 1000, 918, 901, 862, 816, 800, 777, 762, 731, 695, 631, 573, 496. УФ спектр,  $\lambda_{\max}$ , нм ( $\epsilon$ ): 216 (37000), 244 (32000), 272 (12000), 284 (11000), 320 (3000). Найдено, %: С 70,20; Н 3,95; N 12,08.  $C_{27}H_{18}N_4O_4$ . Вычислено, %: С 70,12; Н 3,92; N 12,12. *M* 462,46.

**4-(9,11-Диоксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[*f*]пиримидо[4,5-*b*]хинолин-12-ил)фенилникотинат (30).** Выход 0,35 г (76 %), т. пл. 273–275 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3354, 3256, 3083, 2925, 2850, 1736, 1703, 1666, 1622, 1592, 1555, 1505, 1480, 1437, 1420, 1408, 1350, 1320, 1275, 1206, 1169, 1083, 1040, 1023, 983, 937, 877, 827, 813, 777, 730, 693, 640, 533, 510, 500. УФ спектр,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 217 (27000), 252 (30000), 283 (8000), 297 (5000), 320 (2000). Найдено, %: С 70, 25; Н 3,93; N 12,10.  $\text{C}_{27}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_4$ . Вычислено, %: С 70,12; Н 3,92; N 12,12. *M* 462,46.

**2-(9,11-Диоксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[*f*]пиримидо[4,5-*b*]хинолин-12-ил)фенилизоникотинат (31).** Выход 0,33 г (72 %), т. пл. 268–270 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3191, 3147, 3072, 3026, 2963, 2891, 2826, 1742, 1709, 1644, 1610, 1591, 1541, 1487, 1474, 1454, 1408, 1397, 1342, 1325, 1296, 1268, 1256, 1238, 1205, 1186, 1164, 1107, 1081, 1064, 1049, 973, 869, 859, 847, 818, 766, 755, 703, 678, 664, 588, 560, 517, 500, 473, 453, 421. УФ спектр,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 214 (40000), 238 (41000), 275 (15000), 285 (16000), 322 (5000). Найдено, %: С 70,18; Н 3,95; N 12,00.  $\text{C}_{27}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_4$ . Вычислено, %: С 70,12; Н 3,92; N 12,12. *M* 462,46.

**4-(9,11-Диоксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[*f*]пиримидо[4,5-*b*]хинолин-12-ил)фенилизоникотинат (32).** Выход 0,35 г (76 %), т. пл. >310 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3359, 3226, 3109, 3071, 3040, 2984, 2928, 2764, 1739, 1712, 1669, 1603, 1585, 1563, 1505, 1438, 1410, 1349, 1328, 1304, 1272, 1234, 1223, 1203, 1173, 1099, 1082, 1061, 1045, 1022, 1007, 980, 877, 852, 834, 814, 788, 753, 695, 682, 633, 583, 520. УФ спектр,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 215 (17000), 253 (16000), 283 (7000), 298 (3000), 320 (2000). Найдено, %: С 70,22; Н 3,98; N 12,09.  $\text{C}_{27}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_4$ . Вычислено, %: С 70,12; Н 3,92; N 12,12. *M* 462,46.

**5-(9,11-Диоксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[*f*]пиримидо[4,5-*b*]хинолин-12-ил)-2-метоксифенилизоникотинат (33).** Выход 0,34 г (69 %), т. пл. 247–249 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3388, 3199, 3071, 2957, 2934, 2840, 1748, 1713, 1646, 1625, 1588, 1562, 1543, 1511, 1466, 1441, 1408, 1376, 1325, 1268, 1210, 1183, 1123, 1083, 1062, 1025, 907, 847, 813, 773, 753, 701, 687, 630, 560, 495. УФ спектр,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 211 (29000), 243 (23000), 273 (9000), 283 (8000), 354 (3000). Найдено, %: С 68,44; Н 4,11; N 11,31.  $\text{C}_{28}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_5$ . Вычислено, %: С 68,29; Н 4,09; N 11,38. *M* 492,48.

**4-(9,11-Диоксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[*f*]пиримидо[4,5-*b*]хинолин-12-ил)-2-этоксифенилизоникотинат (34).** Выход 0,35 г (70 %), т. пл. 272–274 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3199, 3122, 3072, 2982, 2933, 1750, 1706, 1674, 1647, 1603, 1587, 1563, 1542, 1510, 1473, 1453, 1426, 1398, 1353, 1323, 1273, 1232, 1199, 1166, 1147, 1124, 1087, 1063, 1037, 1007, 970, 847, 823, 808, 793, 752, 700, 680, 633, 583, 558, 505. УФ спектр,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм ( $\epsilon$ ): 213 (28000), 241 (20000), 253 (18000), 273 (10000), 285 (8000), 320 (4000). Найдено, %: С 68,90; Н 4,40; N 11,01.  $\text{C}_{29}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_5$ . Вычислено, %: С 68,77; Н 4,38; N 11,06. *M* 506,51.

**Благодарности.** Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского и Белорусского республиканского фондов фундаментальных исследований (грант 20-58-00005-Бел\_а, грант X20P-017). Все работы по биотестированию проводились в Цзилиньском медицинском институте Китайской Народной Республики. Авторы выражают благодарность профессору Венлян Ли Цзилиньского медицинского института Китайской Народной Республики за предоставленные данные по биотестированию.

**Acknowledgements.** This work has been performed with a partial financial support of Russian Foundation for Fundamental Research, grant 20-58-00005-Бел\_а, and Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research, grant X20P-017. All biotesting works were performed at the Jilin Medical Institute of the People's Republic of China. The authors express their gratitude to Professor Wenliang Li of the Jilin Medical University of China for providing the biotesting data.

### Список использованных источников

1. Gensicka-Kowalewska, M. Recent developments in the synthesis and biological activity of acridine/ acridone analogues / M. Gensicka-Kowalewska, G. Cholewinski, K. Dzierzbicka // RSC Advances. – 2017. – Vol. 7, N 26. – P. 15776–15804. <https://doi.org/10.1039/c7ra01026e>
2. Demeunynck, M. Interest of acridine derivatives in the anticancer chemotherapy / M. Demeunynck, F. Charmantray, A. Martelli // Curr. Pharm. Des. – 2001. – Vol. 7, N 17. – P. 1703–1724. <https://doi.org/10.2174/1381612013397131>
3. Design, Synthesis, Antimicrobial and Anticancer Activities of Acridine Thiosemicarbazides Derivatives / R. Chen [et al.] // Molecules. – 2019. – Vol. 24, N 11 – P. 2065–2079. <https://doi.org/10.3390/molecules24112065>
4. Preparation of new thiourea derivatives with potential anti-parasitic and antimicrobial activity / C. Limban [et al.] // Rev. De Chim. – 2010. – Vol. 61, N 10. – P. 946–950.
5. Synthesis of 9-Aminoacridine Derivatives as Anti-Alzheimer Agents / R. Munawar [et al.] // AJADD. – 2015. – Vol. 31, N 3. – P. 263–269. <https://doi.org/10.1177/1533317515603115>

6. Niknam, K. 1-Butyl-3-Methylimidazolium Hydrogen Sulfate [bmim]HSO<sub>4</sub>: An Efficient Reusable Acidic Ionic Liquid for the Synthesis of 1,8-Dioxo-Octahydroxanthenes / K. Niknam, M. Dama // *J. Chin. Chem. Soc.* – 2009. – Vol. 56, N 3. – P. 659–665. <https://doi.org/10.1002/jccs.200900098>
7. A chloroquine-like molecule designed to reverse resistance in *Plasmodium falciparum* / S.J. Burgess [et al.] // *J. Med. Chem.* – 2006. – Vol. 49, N 18. – P. 5623–5625. <https://doi.org/10.1021/jm060399n>
8. Ornelas C. Application of ferrocene and its derivatives in cancer research / C. Ornelas // *New J. Chem.* – 2011. – Vol. 35. – P. 1973–1985. <https://doi.org/10.1039/c1nj20172g>
9. Синтез новых производных ферроцена с фрагментом 4,5-дихлоризоотиазола / А. В. Клецков [и др.] // *ЖОХ.* – 2017. – Т. 87, № 6. – С. 946–950.
10. Синтез структурных аналогов алкалоидов с изоксазольными и изотиазольными фрагментами / С.К. Петкевич [и др.] // *ЖОрХ.* – 2018. – Т. 54, вып. 12. – С. 1793–1800. <https://doi.org/10.1134/S0514749218120129>
11. Колесник, И. А. Гетероциклические производные металлоценов / И. А. Колесник, Е. А. Дикусар // *Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук.* – 2017. – № 4. – С. 107–125.
12. Mimics of pincer ligands: an accessible phosphine-free N-(pyrimidin-2-yl)-1,2-azole-3-carboxamide framework for binuclear Pd (II) complexes and high-turnover catalysis in water / A. V. Kletskov [et al.] // *Inorg. Chem.* – 2020. – Vol. 59, N 5. – P. 10384–10388. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.0c01035>
13. Isothiazoles in the Design and Synthesis of Biologically Active Substances and Ligands for Metal Complexes / A. V. Kletskov [et al.] // *SYNTHESIS-STUTTGART.* – 2020. – Vol. 52, N 2. – P. 159–188. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1690688>
14. General Atomic and Molecular Electronic-Structure System / M. W. Schmidt [et al.] // *J. Comput. Chem.* – 1993. – Vol. 14, N 7. – P. 1347–1363. <https://doi.org/10.1002/jcc.540141112>
15. Huzinaga, S. Gaussian Basis Sets for Molecular Calculations / S. Huzinaga, J. M. Andzelm, M. Klobukowski. – Amsterdam: Elsevier, 1984. – 340 p. <https://doi.org/10.1016/c2009-0-07152-9>
16. In vitro anticancer activity of doxorubicin-loading pectin nanoparticles / Tian G. [et al.] // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences.* – 2016. – Vol. 6, N 5. – P. 338–342. <https://doi.org/10.20936/jpbms/160249>
17. Акишина, Е. А. Синтез функционально замещенных сложных эфиров никотиновой и изоникотиновой кислот / Е. А. Акишина, Д. В. Казак, Е. А. Дикусар // *Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук.* – 2020. – Т. 56, № 3. – С. 301–310. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-3-301-310>

## References

1. Gensicka-Kowalewska M., Cholewinski G., Dzierzbicka K. Recent developments in the synthesis and biological activity of acridine/ acridone analogues. *RSC Advances*, 2017, vol. 7, no. 26, pp. 15776–15804. <https://doi.org/10.1039/c7ra01026e>
2. Demeunynck M., Charmantray F., Martelli A. Interest of acridine derivatives in the anticancer chemotherapy. *Current Pharmaceutical Design*, 2001, vol. 7, no. 17, pp. 1703–1724. <https://doi.org/10.2174/1381612013397131>
3. Chen R., Huo L., Jaiswal Y., Huang J., Zhong Z., Zhong J., Williams L., Xia X., Liang Y., Yan Zh. Design, Synthesis, Antimicrobial and Anticancer Activities of Acridine Thiosemicarbazides Derivatives. *Molecules*, 2019, vol. 24, no. 11, pp. 2065–2079. <https://doi.org/10.3390/molecules24112065>
4. Limban C., Vasile A., Chirita I.C., Caproiu M. T. Preparation of new thiourea derivatives with potential anti-parasitic and antimicrobial activity. *Revista de Chimie*, 2010, vol. 61, no. 10, pp. 946–950.
5. Munawar R., Mushtaq N., Arif S., Ahmed A., Akhtar S., Ansari S., Meer S., Saify Z.F., Arif M. Synthesis of 9-Aminoacridine Derivatives as Anti-Alzheimer Agents. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias*, 2015, vol. 31, no. 3, pp. 263–269. <https://doi.org/10.1177/1533317515603115>
6. Niknam K., Dama M. 1-Butyl-3-methylimidazolium Hydrogen Sulfate [Bmim]HSO<sub>4</sub>: An Efficient Reusable Acidic Ionic Liquid for the Synthesis of 1,8-Dioxo-Octahydroxanthenes. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 2009, vol. 56, no. 3, pp. 659–665. <https://doi.org/10.1002/jccs.200900098>
7. Burgess S. J., Selzer A., Kelly J. X., Smilkstein M. J., Riscoe M. K., Peyton D. H. A Chloroquine-like Molecule Designed to Reverse Resistance in *Plasmodium falciparum*. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2006, vol. 49, no. 18, pp. 5623–5625. <https://doi.org/10.1021/jm060399n>
8. Ornelas C. Application of ferrocene and its derivatives in cancer research. *New Journal of Chemistry*, 2001, vol. 35, no. 10, pp. 1973–1985. <https://doi.org/10.1039/c1nj20172g>
9. Kletskov A. V., Kolesnik I. A., Dikusar E. A., Zhukovskaya N. A., Potkin V. I. Synthesis of new ferrocene derivatives with a 4,5-dichloroisothiazole fragment. *Russian Journal of General Chemistry*, 2017, vol. 87, no. 6, pp. 1167–1171. <https://doi.org/10.1134/s107036321706010x>
10. Petkevich S. K., Kletskov A. V., Kadutskii A. P., Dikusar E. A., Kozlov N. G., Potkin V. I. Synthesis of alkaloid analogs containing isoxazole and isothiazole fragments. *Russian Journal of Organic Chemistry*, 2018, vol. 54, no. 12, pp. 1807–1814. <https://doi.org/10.1134/s1070428018120126>
11. Kolesnik I. A., Dikusar E. A. Heterocycles derivatives of metallocenes. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*, 2017, no. 4, pp. 107–125 (in Russian).
12. Kletskov A. V., Bumagin N. A., Petkevich S. K., Dikusar E. A., Lyakhov A. S., Ivashkevich L. S., Kolesnik I. A., Potkin V. I. Mimics of pincer ligands: an accessible phosphine-free N-(pyrimidin-2-yl)-1,2-azole-3-carboxamide framework for binuclear Pd (II) complexes and high-turnover catalysis in water. *Inorganic Chemistry*, 2020, vol. 59, no. 5, pp. 10384–10388. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.0c01035>

13. Kletskov A. V., Bumagin N. A., Zubkov F. I., Grudinin D. G., Potkin V. I. Isothiazoles in the Design and Synthesis of Biologically Active Substances and Ligands for Metal Complexes. *Synthesis-Stuttgart*, 2020, vol. 52, no. 2, pp. 159–188. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1690688>

14. Schmidt M. W., Baldrige K. K., Boatz J. A., Elbert S. T., Gordon M. S., Jensen J. H., Koseki S., Matsunaga N., Nguyen K. A., Su S., Windus T. L., Dupuis General atomic and molecular electronic structure system. *Journal of Computational Chemistry*, 1993, vol. 14, no. 11, pp. 1347–1363. <https://doi.org/10.1002/jcc.540141112>

15. Huzinaga S., Andzelm J. M., Klobukowski M. *Gaussian Basis Sets for Molecular Calculations*. Amsterdam: Elsevier, 1984. 340 p. <https://doi.org/10.1016/c2009-0-07152-9>

16. Tian G., Guifang Z., Qiumian Y., Jianyuan K., Jinlai O., Zhenxia X., Wen Z., Sha L. In vitro anticancer activity of doxorubicin-loading pectin nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2016, vol. 6, no. 5, pp. 338–342. <https://doi.org/10.20936/jpbms/160249>

17. Akishina E.A., Kazak D.V., Dikusar E.A. Synthesis of functionally substituted esters of nicotinic and isonicotinic acid. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*, 2020, vol. 56, no. 3, pp. 301–310 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-3-301-310>

### Информация об авторах

*Акишина Екатерина Александровна* – аспирант, мл. науч. сотрудник. Институт физико-органической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 13, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [akishinaea@ifoch.bas-net.by](mailto:akishinaea@ifoch.bas-net.by)

*Казак Диана Викторовна* – инженер-химик. Институт физико-органической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 13, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [masya1067@mail.ru](mailto:masya1067@mail.ru)

*Дикусар Евгений Анатольевич* – канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник. Институт физико-органической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 13, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [dikusar@ifoch.bas-net.by](mailto:dikusar@ifoch.bas-net.by)

*Алексеев Роман Сергеевич* – канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник. Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова (Ленинские горы, 1/3, 119991, Москва, Российская Федерация). E-mail: [azaindole@mail.ru](mailto:azaindole@mail.ru)

*Бумагин Николай Александрович* – д-р хим. наук, профессор, вед. науч. сотрудник. Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова (Ленинские горы, 1/3, 119991, Москва, Российская Федерация). E-mail: [bna51@mail.ru](mailto:bna51@mail.ru)

*Поткин Владимир Иванович* – член-корреспондент, д-р хим. наук, профессор, зав. отделом. Институт физико-органической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 13, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [potkin@ifoch.bas-net.by](mailto:potkin@ifoch.bas-net.by)

### Information about the authors

*Ekaterina A. Akishina* – Postgraduate student, Junior Researcher. Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (13, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [akishinaea@ifoch.bas-net.by](mailto:akishinaea@ifoch.bas-net.by)

*Diana V. Kazak* – Chemical Engineer. Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (13, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [masya1067@mail.ru](mailto:masya1067@mail.ru)

*Evgenij A. Dikusar* – Ph. D. (Chemistry), Senior Researcher. Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (13, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [dikusar@ifoch.bas-net.by](mailto:dikusar@ifoch.bas-net.by)

*Roman S. Alekseev* – Ph. D. (Chemistry), Senior Researcher. Lomonosov Moscow State University (1/3, Leninskie Gory, 119991, Moscow, Russian Federation). E-mail: [azaindole@mail.ru](mailto:azaindole@mail.ru)

*Nikolay A. Bumagin* – D. Sc. (Chemistry), Professor, Leading Researcher, Lomonosov Moscow State University (1/3, Leninskie Gory, 119991, Moscow, Russian Federation). E-mail: [bna51@mail.ru](mailto:bna51@mail.ru)

*Vladimir I. Potkin* – Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Belarus, D. Sc. (Chemistry), Professor, Head of the Department. Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (13, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [potkin@ifoch.bas-net.by](mailto:potkin@ifoch.bas-net.by)

**БИОГАНІЧНАЯ ХІМІЯ**  
**BIOORGANIC CHEMISTRY**

УДК 577.11  
<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-457-464>

Поступила в редакцию 22.09.2020  
Received 22.09.2020

**В. В. Щур, А. И. Жолнерович, Ю. П. Буренкова, А. В. Янцевич, С. А. Усанов**

*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь*

**СТАБИЛЬНОСТЬ 5'-ДИМЕТОКСИТРИТИЛЬНОЙ ЗАЩИТНОЙ ГРУППЫ  
СИНТЕТИЧЕСКОГО ОЛИГОНУКЛЕОТИДА В УСЛОВИЯХ  
ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ**

**Аннотация.** Модификация 5'-ОН группы нуклеиновых кислот заместителями с различными физико-химическими свойствами имеет принципиальное значение для молекулярной биологии. Интересным представляется исследование симметричного и асимметричного замещения 5'-гидроксила двуцепочечной ДНК (дцДНК) 4,4'-диметокситритильной (ДМТ) группой. Симметричное замещение может позволить осуществлять селективное лигирование дцДНК в плазмидный вектор после ее сборки из олигонуклеотидов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) по сравнению с побочными укороченными продуктами сборки. Синтез асимметрично меченной 5'-ДМТ дцДНК при условии наличия специфичной к модификациям 5'-конца экзонуклеазы позволит получать протяженную синтетическую оцДНК, применяемую для сайт-специфичного включения гена в геном с использованием технологии CRISPR/Cas9. Чтобы провести подобные исследования необходимо выяснить, стабилен ли синтетический 5'-ДМТ олигонуклеотид в условиях ПЦР. В данной работе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ (260 нм) и масс-спектрометрической детекцией мы показали, что 5'-ДМТ-группа стабильна в составе синтетического олигонуклеотида в условиях ПЦР, однако присутствие тиольных соединений может снижать выход 5'-ДМТ-дцДНК. Мы планируем дальнейшее изучение влияния 5'-ДМТ-группы в составе синтетических ДНК на функционирование различных ферментов.

**Ключевые слова:** олигонуклеотиды, 4,4'-диметокситритильная группа, ДМТ, полимеразная цепная реакция, ПЦР, синтетический ген

**Для цитирования.** Стабильность 5'-диметокситритильной защитной группы синтетического олигонуклеотида в условиях полимеразной цепной реакции / В. В. Щур [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2020. – Т. 56, № 4. – С. 457–464. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-457-464>

**V. V. Shchur, A. I. Zholnerovich, Y. P. Burankova, A. V. Yantsevich, S. A. Usanov**

*Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

**5'-DIMETHOXYTRITYL PROTECTION GROUP OF SYNTHETIC OLIGONUCLEOTIDE STABILITY  
IN POLYMERASE CHAIN REACTION**

**Abstract.** Modification of 5'-OH group of nucleic acids by substituents with various physicochemical properties is important for molecular biology. Investigation of symmetric and asymmetric substitution of 5'-hydroxyl of dsDNA by 4,4'-dimethoxytrityl (DMT) group seems interesting. Symmetric substitution can allow performing a selective ligation of dsDNA assembled from oligonucleotides by polymerase chain reaction as compared to shortened assembly by-products into a plasmid vector. Synthesis of asymmetrically labeled 5'-DMT dsDNA in case of presence of exonuclease specific to 5'-end modifications will allow obtaining a long synthetic ssDNA used for site-specific gene insertion into a genome by CRISPR/Cas9 technique. To conduct such investigations, it is necessary to know whether synthetic 5'-DMT oligonucleotide is stable under PCR conditions. Here we demonstrated by high performance liquid chromatography with UV (260 nm) and mass-spectrometric detection that 5'-DMT group of synthetic oligonucleotide is stable under PCR conditions but the presence of thiol compounds can decrease a yield of 5'-DMT dsDNA. We plan a further research on influence of 5'-DMT group of synthetic DNA on functionality of various enzymes.

**Keywords:** oligonucleotides, 4,4'-dimethoxytrityl group, DMT, polymerase chain reaction, PCR, synthetic gene

**For citation.** Shchur V. V., Zholnerovich A. I., Burankova Y. P., Yantsevich A. V., Usanov S. A. 5'-Dimethoxytrityl protection group of synthetic oligonucleotide stability in polymerase chain reaction. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*, 2020, vol. 56, no. 4, pp. 457–464 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-457-464>

**Введение.** В молекулярной биологии важной модификацией нуклеиновых кислот является замещение 5'-ОН группы различными заместителями [1]. Так, например, стабильность и иммуногенность терапевтических малых интерферирующих РНК (миРНК) и мРНК можно повысить путем модификации их 5'-конца [2–5].

Ассиметричная модификация 5'-ОН группы дцДНК применяется для получения протяженной оцДНК, длина которой соответствует длине гена [6]. Такие оцДНК используют в экспериментах по сайт-специфичной интеграции генов в геном с использованием технологии CRISPR/Cas9 [7–10]. Один из способов получения протяженной оцДНК основан на селективной ферментативной деградации одной из цепей дцДНК, которую предварительно подвергли фосфорилированию. Фермент, осуществляющий процесс деградации фосфорилированной цепи (страндаза), а также метод получения оцДНК коммерциализированы компанией Takara Biosciences. Существует также и иной подход – ассиметричная полимеразная цепная реакция (ПЦР), при которой используют молярное соотношение праймеров, значительно смещенное в сторону одного из них (forward праймера) [6].

Перед использованием олигонуклеотидов для проведения ПЦР, секвенирования или сборки из них дцДНК, которую собираются лигировать в дефосфорилированный вектор, их подвергают фосфорилированию при помощи полинуклеотид-киназы фага Т4 [11, 12]. Лигирование можно превратить в селективный процесс, при котором правильно собравшаяся из олигонуклеотидов конструкция дцДНК преимущественно будет встраиваться в плазмиду. Для этого достаточно подвергнуть фосфорилированию только 5'-концы фланкирующих олигонуклеотидов, а остальные праймеры оставить без модификации. Если для лигирования используют фосфорилированный вектор, то вместо фосфатной группы для модификации фланкирующих олигонуклеотидов стоит использовать иной заместитель.

5'-Гидроксил олигонуклеотида является одним из нуклеофильных центров молекулы, наряду с экзоциклическими аминогруппами гетероциклических азотистых оснований [13]. Осуществить селективную модификацию 5'-ОН, не затронув при этом другие нуклеофильные центры, невозможно [13]. Однако это вполне осуществимо, если аминогруппы азотистых оснований будут заблокированы защитными группами, как в автоматизированном фосфоамидитном синтезе олигонуклеотидов [13]. Таким образом, модификацию 5'-ОН олигонуклеотида целесообразно проводить в ходе его синтеза. В процессе синтеза для блокирования 5'-ОН растущей цепи олигонуклеотида на всех стадиях, кроме присоединения следующего нуклеотидного звена, используют 4,4'-диметокситритильную (ДМТ) группу [13]. Для ее удаления перед стадией конденсации используют раствор трихлоруксусной кислоты в толуоле или дихлорметане. После присоединения последнего нуклеотида ДМТ-группу можно как сохранить на конце олигонуклеотида, так и удалить, оставив на 5'-конце гидроксильную группу. Если дальнейшую очистку олигонуклеотида от побочных продуктов синтеза планируют осуществлять с использованием ВЭЖХ или твердофазной экстракции (ТФЭ) с использованием обращенно-фазовых сорбентов, то ДМТ-группу на конце олигонуклеотида сохраняют [14]. Именно эта гидрофобная функциональная группа, а также наличие в составе подвижной фазы триэтиламинацетата, ион-парного агента, с одной стороны экранирующего полярные фосфатные группы сахарофосфатного остова ДНК, а с другой – взаимодействующего с неполярным октадецилсиликагелем, и позволяет полнодлинному олигонуклеотиду эффективно по сравнению с укороченными примесями задерживаться на сорбенте [14]. Можно так изменить описанный метод очистки, чтобы получить модифицированные ДМТ-группой олигонуклеотиды, избавившись при этом от примесей синтеза. Для этого достаточно опустить стадию снятия ДМТ-группы (стадию детритилирования трифторуксусной кислотой).

Таким образом, ДМТ-группа может быть введена в синтетический олигонуклеотид достаточно просто на этапе его синтеза, также возможно сохранение этой функциональной группы в составе олигонуклеотида после его очистки. Однако в литературе нет данных о том, сохраняется ли ДМТ-группа на конце праймера в ходе ПЦР. Именно выяснению этого обстоятельства и посвящена статья.

Этот вопрос важен, так как позволяет понять, можно ли рассматривать подобный вариант 5'-модификации ДНК как перспективный для молекулярной и синтетической биологии. На сегодня

няшый день не известно, возможно ли провести ПЦР-сборку дцДНК из 5'-ДМТ олигонуклеотидов. Если это осуществимо, то можно получать симметрично и асимметрично модифицированные ДМТ-группой дцДНК. Асимметричную 5'-ДМТ дцДНК теоретически можно применить для получения протяженной оцДНК. Одна из цепей дцДНК, имеющая 5'-ДМТ-группу, может быть устойчива к действию экзонуклеаз, по аналогии с ферментативной деградацией с помощью страндазы. Однако необходимы исследования влияния такой модификации ДНК на функционирование различных экзонуклеаз, а также и на ДНК лигазу, ведь теоретически есть перспективы использования 5'-ДМТ олигонуклеотидов для селективного по сравнению с укороченными примесями лигирования целевого продукта ПЦР-сборки дцДНК в плазмидный вектор. Примеси в данном случае будут симметрично модифицированными 5'-ДМТ дцДНК, неспособными замкнуть векторную молекулу при лигировании.

Цель работы – исследовать стабильность 5'-диметокситритильной защитной группы олигонуклеотидов в условиях ПЦР.

**Материалы и методы.** В качестве модельного использовали 5'-ДМТ дТ<sub>15</sub> олигонуклеотид (рис. 1). В эксперименте в простейшем случае ПЦР-цикл моделировали как нагревание при 98 °С, так как это максимальная температура, используемая в ПЦР. В более сложном случае использовали ПЦР-цикл, рекомендованный производителем DreamTaq ДНК полимеразы.

В работе использовали 5'-ДМТ-дТ-CPG<sup>1</sup> с диаметром пор 1000 Å и емкостью 44 мкмоль/г (BioAutomation); ДМТ-дТ фосфоамидит; дихлорметан; уксусный ангидрид; лутидин; 1-метил-имидазол; трифторуксусную кислоту и метанол (Sigma-Aldrich); 5-(этилтио)-1Н-тетразол (Emp Biotech); ацетонитрил для ВЭЖХ с низким содержанием воды (0,002 %) (Fisher Chemical); 32 %-ный раствор аммиака (Roth); триэтиламин (ТЭА) (Alpha Aesar); картридж для ТФЭ Supelclean™ ENVI™-18 SPE (Supelco); 10×DreamTaq буфер DreamTaq ДНК полимеразы (Thermo Scientific). 10×буфер Q5 ДНК полимеразы (New England Biolabs).

A<sub>260</sub> и спектры поглощения олигонуклеотида регистрировали на спектрофотометре NanoDrop 2000 (Thermo Scientific). Термостатирование растворов олигонуклеотида и ПЦР-цикл осуществляли на термоциклере DNA Engine (Bio Rad Laboratories).

Олигонуклеотид синтезировали, подвергали депротекции и очищали на картридже для ТФЭ в соответствии с методом, описанным в [15]. Для сохранения ДМТ-группы на 5'-конце олигонуклеотида из процедуры очистки исключена стадия детритилирования (обработка 2 %-ной трифторуксусной кислотой). После процедуры очистки раствор олигонуклеотида лиофилизировали на

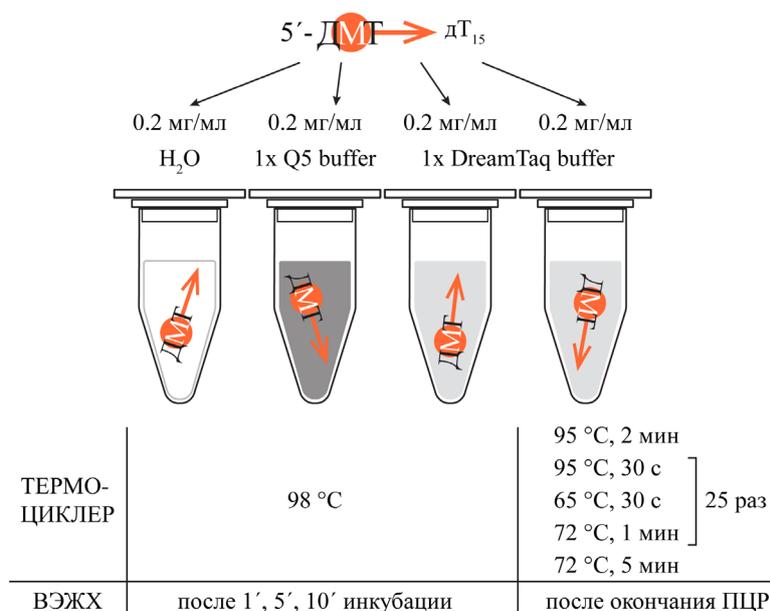


Рис. 1. Схема эксперимента по изучению стабильности 5'-ДМТ группы олигонуклеотида дТ<sub>15</sub> в условиях ПЦР  
 Fig. 1. Scheme of an experiment to study the stability of the 5'-DMT group of the oligonucleotide dT<sub>15</sub> under PCR conditions

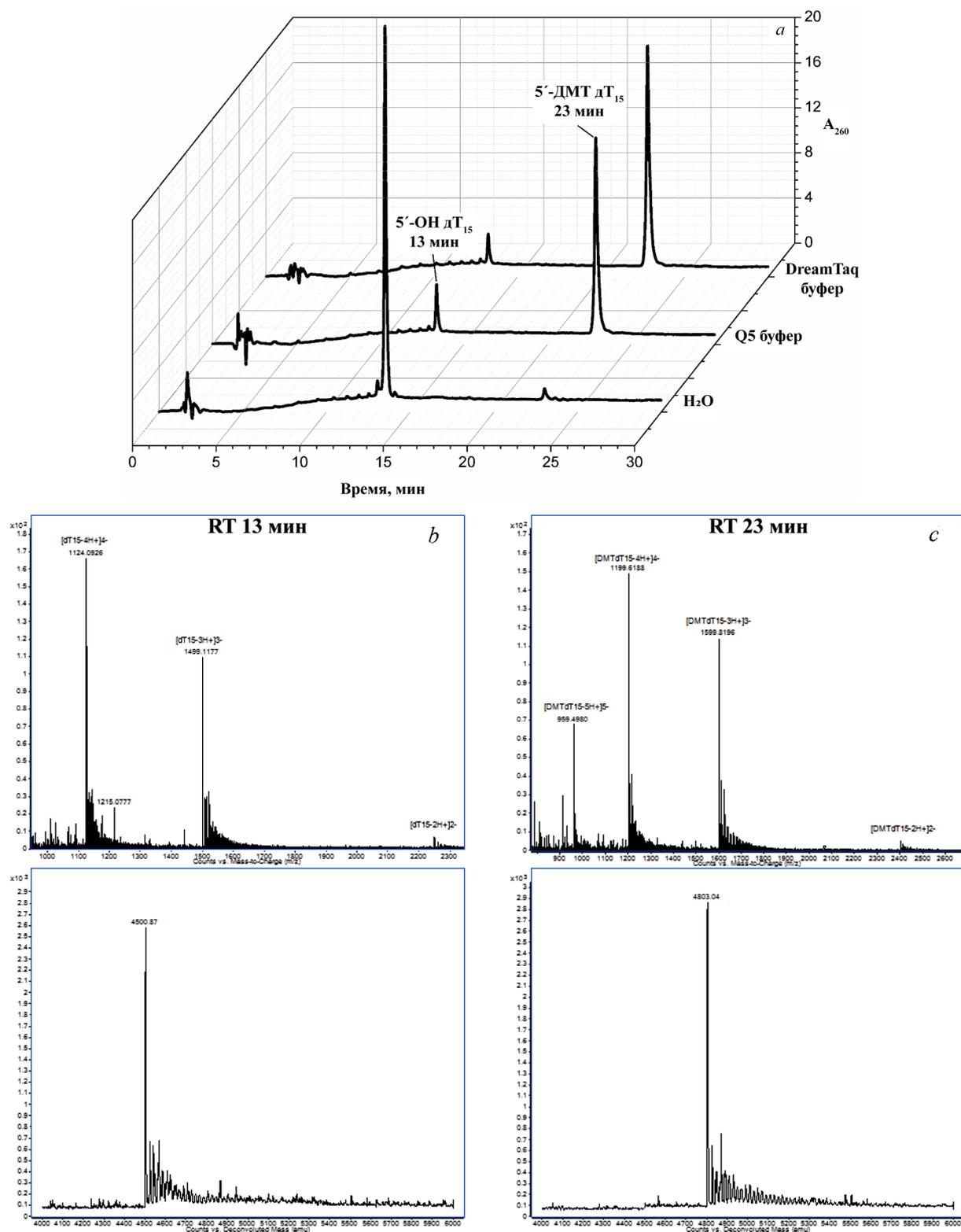


Рис. 2. Детритилирование 5'-DMT-дТ<sub>15</sub> олигонуклеотида в воде и буферных растворах для Q5 и DreamTaq ДНК полимераз после нагревания при 98 °С в течение 5 мин. *a* – хроматограммы (ВЭЖХ-УФ); *b* – масс-спектры хроматографических пиков, имеющих времена удерживания 13 и 23 мин, а также масс-спектры после деконволюции (в нижней части рисунка)

Fig. 2. Detritylation of 5'-DMT-dT<sub>15</sub> oligonucleotide in water and buffer solutions for Q5 and DreamTaq DNA polymerases after heating at 98 °C for 5 min. *a* – chromatograms (HPLC-UV); *b* – mass spectra of chromatographic peaks with retention times of 13 and 23 min, as well as mass spectra after deconvolution (in the lower part of the figure)

вакуумном центрифужном испарителе ScanVac (Labogene), причем в раствор предварительно добавляли 50 мкл концентрированного водного аммиака с целью предотвращения детритилирования.

Аналитическую ВЭЖХ с УФ (260 нм) и масс-спектрометрической (МС) детекцией осуществляли с помощью ВЭЖХ-системы Agilent 1290 в соответствии с [16] (см. раздел LC/MS Parameters for Agilent 6520 Accurate Mass QTOF Platform). Отличие использованного нами метода от описанного в приведенном выше источнике состоит в следующем: хроматографическая колонка – Poroshell 120 EC-C18 (2,1×100 мм, диаметр частиц сорбента – 2,7 мкм), подвижная фаза А – 200 мМ гексафторизопропанола и 8,6 мМ ТЭА (рН 7,7), концентрация раствора олигонуклеотида – 0,2 мг/мл. Для УФ-детекции на длине волны 260 нм использовали диодно-матричный детектор 1260 DAD VL (Agilent). Масс-спектры высокого разрешения записаны на масс-спектрометре Q-TOF 6550 (Agilent) в отрицательном режиме электроспрей-ионизации (упомянутый выше раздел [16]). Деконволюцию масс-спектров осуществляли с использованием модуля BioConfirm программного обеспечения MassHunter.

**Результаты и их обсуждение.** На рис. 2, а приведены хроматограммы для растворов модельного олигонуклеотида в разных растворителях, записанные после нагревания растворов в течение 5 мин при 98 °С. Элюция 5'-ДМТ дТ<sub>15</sub> олигонуклеотида происходит на 23 мин, а менее гидрофобный детритилированный олигонуклеотид 5'-ОН дТ<sub>15</sub> имеет время удерживания около 13 мин. На рис. 2, б отображены масс-спектры хроматографических пиков рис. 2, а с указанными временами удерживания для того же образца, что подтверждает интерпретацию пиков.

Данные для остальных времен инкубации при 98 °С, а также для ПЦР-цикла объединены в табл. 1. Приведенные в ней содержания 5'-ДМТ-дТ<sub>15</sub> определены методом ВЭЖХ (детекция при 260 нм) по площадям хроматографических пиков, соответствующих 5'-ДМТ-дТ<sub>15</sub> и 5'-ОН-дТ<sub>15</sub>. В деионизированной воде более 90 % олигонуклеотида теряет защитную группу уже в течение 5 мин нагревания при 98 °С. Коммерчески доступные буферы для ДНК полимераз намного более эффективно стабилизируют ДМТ-группу олигонуклеотида. Так, около 84 % олигонуклеотида с ДМТ-группой стабильно сохраняется в 1× буфер DreamTaq ДНК полимеразы даже при нагревании при 98 °С в течение 15 мин. Буфер для Q5 ДНК полимеразы показал менее хороший результат – около 72 % стабильного олигонуклеотида с защитой в том же температурно-временном режиме.

Таблица 1. Содержание 5'-ДМТ-дТ<sub>15</sub> в буферных растворах при нагревании до 98 °С

Table 1. 5'-DMT-dT<sub>15</sub> content in buffer solutions by heating to 98 °С

Растворитель	Содержание 5'-ДМТ-дТ <sub>15</sub> , %		
	1 мин	5 мин	15 мин
Вода	44,5	7,43	0 %
1×буфер Q5 ДНК полимеразы	–	88,4	71,5
1×буфер DreamTaq ДНК полимеразы	–	93,5	83,69
25 ПЦР-циклов в 1× буфере DreamTaq ДНК полимеразы		79,5	

В табл. 2 приведен состав различных коммерчески доступных ПЦР-буферов (информация – с сайтов производителей). Буферы, использованные нами, отличаются по составу и рН: буфер для Q5 ДНК полимеразы имеет рН 9,3, а для DreamTaq ДНК полимеразы – рН 8,3.

Исходя из химических свойств ДМТ-защиты, более высокое значение рН буфера должно стабилизировать модифицированный ею олигонуклеотид. Однако экспериментальные данные говорят об обратном. Это противоречие можно объяснить присутствием β-меркаптоэтанола в буфере для Q5 ДНК полимеразы.

В литературе описано нежелательное ретритилирование при деблокировании олигонуклеотидов в безводной среде, происходящее в результате смещения равновесия от ДМТ-катиона и олигонуклеотида без защитной группы к ДМТ-олигонуклеотиду [17]. Сильный нуклеофил (атом серы в составе тиола) может быть эффективным акцептором ДМТ-катиона, что будет приводить к смещению равновесия в сторону реакции детритилирования, таким образом снижая стабильность олигонуклеотида с ДМТ-группой.

Т а б л и ц а 2. Состав коммерческих ПЦР-буферов

T a b l e 2. Composition of commercial PCR buffers

ДНК полимеразы	pH 1×буфера	Состав 1×буфера	Производитель
<i>Taq</i>	pH 8,3(25 °C)	10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl <sub>2</sub> , 0,01 % желатин	Sigma-Aldrich
<i>Pfu</i>	pH 8,8(25 °C)	20 mM Tris-HCl, 10 mM KCl, 10 mM (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 2 mM MgSO <sub>4</sub> , 1,0 % ТритонX-100, 1 мг/мл бычий сывороточный альбумин (БСА) без нуклеаз	Promega
<i>Pwo</i>	pH 8,85(20 °C)	10 mM Tris-HCl, 25 mM KCl, 5 mM (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 2 mM MgSO <sub>4</sub>	Roch
<i>Tth</i>	pH 8,9(25 °C)	10 mM Tris-HCl, 1,5 mM MgCl <sub>2</sub> , 0,1 M KCl, 500 мкг/мл БСА, 0,5 % Твин 20	Sigma-Aldrich
<i>Q5</i>	pH 9,3(25 °C)	25 mM ТАПС-HCl, 50 mM KCl, 2 м M MgCl <sub>2</sub> , 1 mM β-меркаптоэтанол	NEB
<i>Phusion</i>	pH 9,3(25 °C)	25 mM ТАПС-HCl, 50 mM KCl, 2 mM MgCl <sub>2</sub> , 1 mM β-меркаптоэтанол	NEB

П р и м е ч а н и е. ТАПС – N-трис(гидроксиметил)метил-3-аминопропансульфоновая кислота.

**Заключение.** Мы продемонстрировали стабильность 5'-ДМТ-группы в составе синтетических олигонуклеотидов в условиях ПЦР. pH и состав буфера для ПЦР определяют стабильность данной защитной группы. Присутствие тиольных соединений (β-меркаптоэтанол и дитиотреитол) в буфере повышает скорость детритилирования модельных олигонуклеотидов и, следовательно, может снижать выход 5'-ДМТ-дцДНК. Вместе с тем требуются дальнейшие исследования для более глубокого понимания возможности применения 5'-ДМТ-олигонуклеотидов в молекулярной и синтетической биологии. В частности, важны исследования влияния объемной и гидрофобной 5'-ДМТ-группы в составе синтетических олигонуклеотидов на функционирование ДНК полимераз, лигазы, экзонуклеаз. Получение дцДНК, 5'-концы которой имеют ДМТ-защиту, в перспективе позволит осуществлять селективное лигирование корректного продукта синтеза дцДНК и разработать новый способ получения протяженных оцДНК.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках задания 2.20 подпрограммы 2 государственной программы научных исследований «Химические технологии и материалы» на 2016–2020 гг., а также отдельного проекта фундаментальных и прикладных научных исследований НАН Беларуси «Разработка и автоматизация эффективных методов получения синтетических генов» на 2018–2019 гг.

**Acknowledgment.** This work has been performed as a part of project 2.20 of the subprogram 2 of the state program “Chemical technologies and materials” for 2016–2020, and also as a part of separate project of fundamental and applied scientific research of the National Academy of Sciences of Belarus “Development and automation of effective methods of synthetic gene obtaining” for 2018–2019.

### Список использованных источников

1. Versatile 5'-functionalization of oligonucleotides on solid support: amines, azides, thiols, and thioethers via phosphorus chemistry / G. P. Miller [et al.] // *J. Org. Chem.* – 2004. – Vol. 69, N 7. – P. 2404–2410. <https://doi.org/10.1021/jo035765e>
2. Enzymatic synthesis of RNAs capped with nucleotide analogues reveals the molecular basis for substrate selectivity of RNA capping enzyme: impacts on RNA metabolism / M. Issur [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, N 9. – P. e75310. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075310>
3. RNA interference and chemically modified small interfering RNAs / M. Manoharan // *Curr. Opin. Chem. Biol.* – 2004. – Vol. 8, N 6. – P. 570–579. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2004.10.007>
4. The synthesis of isopropylidene mRNA cap analogs modified with phosphorothioate moiety and their evaluation as promoters of mRNA translation / M. Warminski [et al.] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2013. – Vol. 23, N 13. – P. 3753–3758. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.05.001>
5. Potential therapeutic applications of RNA cap analogs / M. Ziemniak [et al.] // *Future Med Chem.* – 2013. – Vol. 5, N 10. – P. 1141–1172. <https://doi.org/10.4155/fmc.13.96>
6. In vitro synthesis of gene-length single-stranded DNA / R. Veneziano [et al.] // *Sci. Rep.* – 2018. – Vol. 8, N 1. – P. 6548. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24677-5>
7. High-frequency genome editing using ssDNA oligonucleotides with zinc-finger nucleases / F. Chen [et al.] // *Nat. Methods.* – 2011. – Vol. 8, N 9. – P. 753–755. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1653>
8. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems / L. Cong [et al.] // *Science.* – 2013. – Vol. 339, N 6121. – P. 819–823. <https://doi.org/10.1126/science.1231143>
9. Homology-directed repair of DNA nicks via pathways distinct from canonical double-strand break repair / L. Davis [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2014. – Vol. 111, N 10. – P. E924–932. <https://doi.org/10.1073/pnas.1400236111>
10. Homologous recombination between single-stranded DNA and chromosomal genes in *Saccharomyces cerevisiae* / J. R. Simon [et al.] // *Mol. Cell. Biol.* – 1987. – Vol. 7, N 7. – P. 2329–2334. <https://doi.org/10.1128/mcb.7.7.2329>

11. Structure and mechanism of T4 polynucleotide kinase: an RNA repair enzyme / L. K. Wang [et al.] // *EMBO J.* – 2002. – Vol. 21, N 14. – P. 3873–3880. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdf397>
12. Heat-labile phosphatase simplifies the preparation of dephosphorylated vector DNA / L. M. Hoffman [et al.] // *Gene.* – 1990. – Vol. 88, N . – P. 97–99. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(90\)90064-x](https://doi.org/10.1016/0378-1119(90)90064-x)
13. Синтетические нуклеиновые кислоты. Получение и перспективы терапевтического применения / Т. С. Орещкая [и др.]. – М.: МГУ, 2015. – 102 с.
14. Purification of crude DNA oligonucleotides by solid-phase extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography / M. Gilar [et al.] // *J. Chromatogr A.* – 2000. – Vol. 890, N 1. – P. 167–177. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00521-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00521-5)
15. Programmed assembly of long DNA synthons: design, mechanism, and online monitoring / V. V. Shchur [et al.] // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2019. – Vol. 103, N 21–22. – P. 9103–9117. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10099-4>
16. Characterization of Synthetic Oligonucleotides Using Agilent LC/MS Systems [Electronic Resource] // *Agilent Technologies.* – Mode of access: <https://www.gimitec.com/file/5990-3539EN.pdf>. – Date of access: 18.09.2020.
17. Solid-Phase Oligodeoxynucleotide Synthesis: A Two-Step Cycle Using Peroxy Anion Deprotection / A. B. Sierzchala [et al.] // *Journal of the American Chemical Society.* – 1998. – Vol. 125, N. 44. – P. 13427–13441. <https://doi.org/10.1021/ja030376n>

## References

1. Miller G. P., Kool E. T. Versatile 5'-functionalization of oligonucleotides on solid support: amines, azides, thiols, and thioethers via phosphorus chemistry. *Journal of Organic Chemistry*, 2004, vol. 69, no. 7, pp. 2404–2410. <https://doi.org/10.1021/jo035765e>
2. Issur M., Bougie I., Despains S., Bsaillon M. Enzymatic synthesis of RNAs capped with nucleotide analogues reveals the molecular basis for substrate selectivity of RNA capping enzyme: impacts on RNA metabolism. *PLoS One*, 2013, vol. 8, iss. 9, pp. e75310. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075310>
3. Manoharan M. RNA interference and chemically modified small interfering RNAs. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2004, vol. 8, iss. 6, pp. 570–579. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2004.10.007>
4. Warminski M., Kowalska J., Buck J., Zuberek J., Lukaszewicz M., Nicola C., Kuhn A. N., Sahin U., Darzynkiewicz E., Jemielity J. The synthesis of isopropylidene mRNA cap analogs modified with phosphorothioate moiety and their evaluation as promoters of mRNA translation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2013, vol. 23, iss. 13, pp. 3753–3758. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.05.001>
5. Ziemniak M., Strenkowska M., Kowalska J., Jemielity J. Potential therapeutic applications of RNA cap analogs. *Future Medicinal Chemistry*, 2013, vol. 5, iss. 10, pp. 1141–1172. <https://doi.org/10.4155/fmc.13.96>
6. Veneziano R., Shepherd T. R., Ratanalert S., Bellou L., Tao C., Bathe M. In vitro synthesis of gene-length single-stranded DNA. *Scientific Reports*, 2018, vol. 8, iss. 1, pp. 6548. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24677-5>
7. Chen F., Pruet-Miller S. M., Huang Y., Gjoka M., Duda K., Taunton J., Collingwood T. N., Frodin M., Davis G. D. High-frequency genome editing using ssDNA oligonucleotides with zinc-finger nucleases. *Nature Methods*, 2011, vol. 8, iss. 9, pp. 753–755. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1653>
8. Cong L., Ran F. A., Cox D., Lin S., Barretto R., Habib N., Hsu P. D., Wu X., Jiang W., Marraffini L. A., Zhang F. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas system. *Science*, 2013, vol. 339, iss. 6121, pp. 819–823. <https://doi.org/10.1126/science.1231143>
9. Davis L., Maizels N. Homology-directed repair of DNA nicks via pathways distinct from canonical double-strand break repair. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 2014, vol. 111, iss. 10, pp. E924–932. <https://doi.org/10.1073/pnas.1400236111>
10. Simon J. R., Moore P. D. Homologous recombination between single-stranded DNA and chromosomal genes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular and Cellular Biology*, 1987, vol. 7, iss. 7, pp. 2329–2334. <https://doi.org/10.1128/mcb.7.7.2329>
11. Wang L. K., Lima C. D., Shuman S. Structure and mechanism of T4 polynucleotide kinase: an RNA repair enzyme. *EMBO Journal*, 2002, vol. 21, iss. 14, pp. 3873–3880. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdf397>
12. Hoffman L. M., Jendrisak J. Heat-labile phosphatase simplifies the preparation of dephosphorylated vector DNA. *Gene*, 1990, vol. 88, iss. 1, pp. 97–99. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(90\)90064-x](https://doi.org/10.1016/0378-1119(90)90064-x)
13. Oretskaya T. S., Metelev V. G., Romanova E. A., Gottikh M. B. *Synthetic nucleic acids. Obtaining and perspectives of therapeutic application.* Moscow, MSU Publ., 2015. 102 p. (in Russian).
14. Gilar M., Bouvier E. S. P. Purification of crude DNA oligonucleotides by solid-phase extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 2000, vol. 890, iss. 1, pp. 167–177. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00521-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00521-5)
15. Shchur V. V., Burankova Y. P., Shapira M. A., Klevzhits D. V., Usanov S. A., Yantsevich A. V. Programmed assembly of long DNA synthons: design, mechanism, and online monitoring. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, vol. 103, iss. 21–22, pp. 9103–9117. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10099-4>
16. Kreutzian T., Waldheim M., Jackson A., Hoppe M., Mokler V., Eidenmueller D., Hill K. Characterization of Synthetic Oligonucleotides Using Agilent LC/MS Systems. *Agilent Technologies*. 2009. Available at: <https://www.gimitec.com/file/5990-3539EN.pdf>. (accessed 18 September 2020).
17. Sierzchala A. B., Dellinger D. J., Betley J. R., Wyrzykiewicz T. K., Yamada C. M., Caruthers M. H. Solid-Phase Oligodeoxynucleotide Synthesis: A Two-Step Cycle Using Peroxy Anion Deprotection. *Journal of the American Chemical Society*, 1998, vol. 125, iss. 44, pp. 13427–13441. <https://doi.org/10.1021/ja030376n>

### Информация об авторах

*Щур Вероника Владимировна* – мл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Акад. В. Ф. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: shchur931@gmail.com

*Жолнерович Андрей Иванович* – студент. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Акад. В. Ф. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: a.zhauniarovich@gmail.com

*Буренкова Юлия Павловна* – мл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Акад. В. Ф. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: ms.yuliyab@mail.ru

*Янцевич Алексей Викторович* – канд. хим. наук, зав. лаб. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Акад. В. Ф. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: alyantsevich@gmail.com

*Усанов Сергей Александрович* – член-корреспондент, д-р хим. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Акад. В. Ф. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: us-anov@iboch.by

### Information about the authors

*Veronika Vladimirovna Shchur* – Junior Researcher; Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Acad. Kuprevich Str., Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shchur931@gmail.com

*Andrei Z. Ivanavich* – Student. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Acad. Kuprevich Str., Minsk, Republic of Belarus). E-mail: a.zhauniarovich@gmail.com

*Yuliya P. Burankova* – Junior Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Acad. Kuprevich Str., Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ms.yuliyab@mail.ru

*Aleksei V. Yantsevich* – Ph. D. (Chemistry), Head of the Laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Acad. Kuprevich Str., Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alyantsevich@gmail.com

*Sergei A. Usanov* – Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Belarus, D. S. (Chemistry), Professor, Principal Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Acad. Kuprevich Str., Minsk, Republic of Belarus). E-mail: usanov@iboch.by

ISSN 1561-8331 (Print)

ISSN 2524-2342 (Online)

УДК 577.1 615.4:616-71/-78  
org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-465-472

Поступила в редакцию 11.09.2020 <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-465-472>  
Received 11.09.2020

Е. С. Пустюльга, О. В. Грибовская, Е. М. Ермола, В. П. Голубович

*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь*

## ТЕСТИРОВАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ СОРБЕНТОВ НА ОСНОВЕ АРОМАТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ

**Аннотация.** В результате динамических экспериментов для установления времени, за которое происходит насыщение сорбентов, а также максимального количества связанного общего IgG, были выявлены свойства насыщаемости и емкости. Получены данные динамики сорбции для трипептидов: Phe-Trp-DTyr, Trp-Phe-DTyr, Phe-Ala-Tyr-OMe, Phe-Asn-Tyr-OMe, Phe-Asp(Bzl)-Tyr-OMe, Phe-Gln-Tyr-OMe и Phe-Gly-Tyr. Удельная насыщаемость достоверно подтверждена для образцов Phe-Trp-DTyr и Phe-Gln-Tyr-OMe. Другие образцы сорбентов показывают положительную динамику с эпизодическими периодами десорбции с дальнейшим выравниванием положительной динамики процесса сорбции.

**Ключевые слова:** сорбция, сорбенты, иммуноглобулины, белки, лиганды, пептиды, селективность, сорбционная емкость

**Для цитирования.** Тестирование экспериментальных образцов сорбентов на основе ароматических пептидов / Е. С. Пустюльга [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2020. – Т. 56, № 4. – С. 465–472. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-465-472>

Y. S. Pustsyulga, O. V. Gribovskaya, E. M. Ermola, V. P. Golubovich

*Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

## TESTING OF EXPERIMENTAL SAMPLES OF SORBENTS BASED ON AROMATIC PEPTIDES

**Annotation.** By dynamic experiments, the purpose of which was to establish the time during which the saturation of sorbents occurs, as well as the maximum amount of total IgG bound, the saturation and capacity properties were revealed. Sorption dynamics data have been obtained for tripeptides: Phe-Trp-DTyr, Trp-Phe-DTyr, Phe-Ala-Tyr-OMe, Phe-Asn-Tyr-OMe, Phe-Asp (Bzl)-Tyr-OMe, Phe-Gln-Tyr-OMe and Phe-Gly-Tyr. Specific saturation was reliably confirmed for the Phe-Trp-DTyr sample and the Phe-Gln-Tyr-OMe sample. Other samples of sorbents show positive dynamics with episodic periods of desorption, with further alignment of the positive dynamics of the sorption process.

**Keywords:** adsorption, sorbents, immunoglobulins, proteins, ligands, peptides, adsorption saturation

**For citation.** Pustsyulga Y. S., Gribovskaya O. V., Ermola E. M., Golubovich V. P. Testing of experimental samples of sorbents based on aromatic peptides // *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*, 2020, vol. 56, no. 4, pp. 465–472 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-465-472>

**Введение.** Иммуноглобулины класса G (IgG) и их подклассы могут проявлять аутоиммунную патогенность при таких заболеваниях, как дилатационная кардиомиопатия, первичный синдром Шегрена, системный склероз [1, 2]. В патологических состояниях происходит гиперпродукция антител, что повышает концентрацию общего IgG и его подклассов до 19 мг/мл и приводит к острым состояниям организма. В терапии подобных состояний успешно применяется экстракорпоральные методы очистки крови с использованием специфических сорбентов, позволяющих удалять избыточное количество IgG из биологических жидкостей организма [3–5].

На данный момент существует ряд разработок в сфере селективных сорбентов IgG на основе органических и неорганических соединений. Лиганды первой группы включают в себя олигопептиды [6]. Сорбенты второй группы содержат бентонит или наночастицы в роли лигандов [7, 8]. Однако данные разработки имеют ряд недостатков, которые могут быть связаны со сложностью производства и его большой стоимостью. Таким образом, лучшими лигандами могут выступать короткие трипептидные соединения на основе ароматических аминокислот.

В результате проведенных ранее исследований было выявлено, что соединения на основе пептидов, в структуре которых присутствуют остатки ароматических аминокислот фенилаланина,

триптофана и тирозина, показывают высокую энергию связывания с молекулами Fc-фрагментов подклассов IgG [9]. Для создания селективных сорбентов с высоким сродством к иммуноглобулинам класса G (IgG) и селективностью к их подклассам нами разработаны варианты биоспецифических сорбентов на основе трипептидов, содержащих ароматические аминокислоты.

Было выявлено, что сорбенты содержащие лиганды формулы Phe-Хаа-Тур обладают высокой степенью сродства к подклассам IgG. Из результатов проведенных исследований можно заключить, что аминокислотные остатки в центральном положении способны изменять специфичность лиганда к подклассам IgG без заметного падения активности ко всему классу IgG, что особенно важно для терапии аутоиммунных заболеваний [10]. Важным аспектом исследований, созданных экспериментальных образцов сорбентов, является оценка способности связывать IgG в условиях, приближенных к проведению гемосорбции в клинике. Цель данной работы – оценка свойств насыщаемости и емкости экспериментальных образцов сорбентов в условиях динамических стендовых экспериментов. В качестве лигандов в составе сорбентов были взяты за основу наиболее перспективные олигопептиды из предыдущих исследований (Phe-Trp-DТур и Trp-Phe-DТур) [11], а также созданы новые трипептиды, полученные путем модификации по второму положению пептидной цепи трипептида Phe-Trp-Тур для установления влияния на свойства селективности к подклассам IgG опытных образцов.

**Материалы и методы.** В работе использовали аминокислоты (Sigma, США), реагенты (Fluka, Швейцария, Acros Organics, Бельгия). Процессы синтеза соединений, удаления защитных групп контролировали методом тонкослойной хроматографии на пластинках с закрепленным слоем силикагеля (Sorbfil, Россия) в системах растворителей: хлороформ–метанол–20 %-ный аммиак, 60:40:10; бутанол–уксусная кислота–вода, 40:10:10; этилацетат–пиридин–уксусная кислота–вода, 50:30:30:10. Вещества обнаруживали на пластинках с помощью хлорбензидинового реагента.

Масс-спектры с химической ионизацией при атмосферном давлении (APCI-MS) регистрировали на масс-хроматографе Accela-LCQ Fleet (Thermo Scientific, США). Для получения активированных матриц сорбентов проводили прививку акриловой кислоты на полиэтиленовые гранулы прямым радиационным методом в Объединенном институте энергетических и ядерных исследований – Сосны. Для иммобилизации лигандов на активированные гранулы последние предварительно модифицировали N-гидрооксисукцинимидом с помощью N, N'-диизопропилкарбодиимида.

Функциональную оценку связывания IgG полученными образцами сорбентов проводили посредством иммуноферментного анализа [12]. Для установления сорбционных качеств экспериментальных образцов к общему IgG был проведен иммуноферментный анализ с использованием набора «IgG общий–ИФА–БЕСТ» фирмы «Вектор Бест» (Новосибирск, Россия).

Эксперименты проводили с цитратной плазмой крови с предварительным центрифугированием при 1000 g в течение 15 мин. Образцы сорбентов объемом 0,05 мл инкубировали в 1,0 мл плазмы в течение 30 мин. Концентрацию сорбированного общего IgG и подклассов рассчитывали по разнице количества IgG в контрольной плазме в сравнении с концентрацией IgG в плазме, подвергавшейся воздействию сорбентов. Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора iMark фирмы BioRad (США) при длине волны 450 нм (референс 620–655 нм).

Сорбционную емкость устанавливали путем динамических стендовых экспериментов. Заранее подготовленный объем плазмы циркулировал посредством перистальтического насоса через микроколону, содержащую исследуемые образцы сорбентов. Условия динамического стендового эксперимента включали следующие параметры: объем циркулирующей плазмы – 35 мл; скорость перфузии – 2,9 мл/мин; режим перфузии – рециркуляция; общее время сорбции – 60 мин; объем сорбента в микроколонках – 7 мл; масса сорбента – 4,3 г. Отбор проб осуществляли на 12, 24, 36 и 60 мин. Контрольные отборы приготовили до начала эксперимента.

**Результаты и их обсуждение.** Синтез лигандов осуществляли с использованием классических методов пептидного синтеза в растворе путем последовательного присоединения трет-бутилоксикарбонил (Boc)-аминокислот к C-концевым фрагментам (рис. 1). C-концевой тирозин вводили в реакции в виде метилового эфира, который конденсировали с Boc-Хаа-OH, где Хаа – Asp(OBzl), Asn, Gln, Ala, Gly соответственно. В качестве основного конденсирующего агента

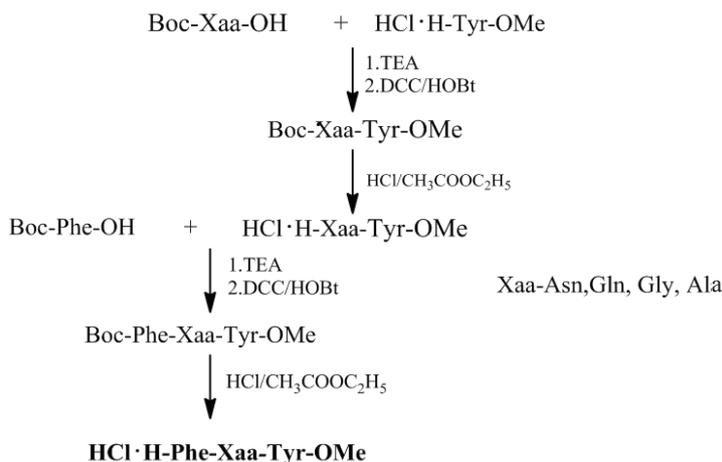


Рис. 1. Схема синтеза трипептидов Phe-Asn-Tyr-OMe (II), Phe-Gln-Tyr-OMe (III), Phe-Gly-Tyr-OMe (IV), Phe-Ala-Tyr-OMe (V)

Fig. 1. Synthesis scheme of tripeptides Phe-Asn-Tyr-OMe (II), Phe-Gln-Tyr-OMe (III), Phe-Gly-Tyr-OMe (IV), Phe-Ala-Tyr-OMe (V)

использовали дициклогексилкарбодиимид (DCC) с добавлением N-гидроксибензотриазола (HOBt) в качестве противорацемической добавки. Отщепление Boc-защитной группы проводили обработкой пептидов 4,5 н. раствором HCl в этилацетате в течение 40–50 мин. Практически все стадии синтеза проходили с высокими выходами, что позволило получить целевые трипептиды с суммарными выходами 40–56 %. Основным методом контроля структуры пептидной цепи была масс-спектрометрия, по которой определяли массы молекулярных ионов промежуточных соединений и целевых трипептидов.

В качестве матрицы сорбентов использовали полиэтиленовые гранулы объемом  $0,05 \pm 0,005$  мл и массой  $0,045 \pm 0,008$  г с привитой акриловой кислотой. Химическая структура данной матрицы отличается большим количеством карбоксильных групп. Выбор полиэтиленовой матрицы обусловлен жесткостью ее структуры, что предотвращает попадание частиц сорбента в кровь, стабильностью, биологической инертностью. Привитая полиакриловая кислота повышает гемосовместимость полимера и создает возможность ковалентно иммобилизовать разнообразные лиганды.

О свойствах насыщаемости экспериментальных образцов можно судить исходя из колебания значений концентрации IgG, которые показывают периоды сорбции и десорбции. В момент падения значений происходит сорбционный процесс – количество IgG снижается за счет фиксации лигандом на поверхности образца. При постепенном уменьшении значений наблюдается позитивная динамика процесса сорбции. В случае, когда в определенный промежуток времени значения концентрации начинают увеличиваться, происходит процесс десорбции, т.е. зафиксированные лигандами ранее IgG отсоединяются и уходят в среду. В этом случае можно говорить о негативной динамике процесса сорбции.

Так, для образца на основе лиганда Phe-Trp-DTyr удельную насыщаемость можно отметить на 36-й минуте эксперимента. Концентрация IgG в плазме, подвергшейся воздействию образца, резко уменьшилась почти в 2 раза в течение 12 мин, что свидетельствует о высокой активности сорбента. С 12-й по 24-ю минуты наблюдается небольшое колебание концентрации IgG в пределах 0,33 мг. Дальнейшая динамика положительная и показывает восстановившийся процесс сорбции. Показатели выравниваются с 36-й по 60-ю минуты эксперимента, что расценивается как достижение удельной насыщаемости образцом (рис. 2).

Такая же картина динамики процесса адсорбции характерна для образца Phe-Gln-Tyr-OMe. Концентрация общего IgG в плазме на 12-й минуте резко сокращается с 9,68 до 6,37 мг/мл. На 36-й минуте вплоть до конца эксперимента концентрация остается прежней на уровне 5,91 мг/мл (рис. 3).

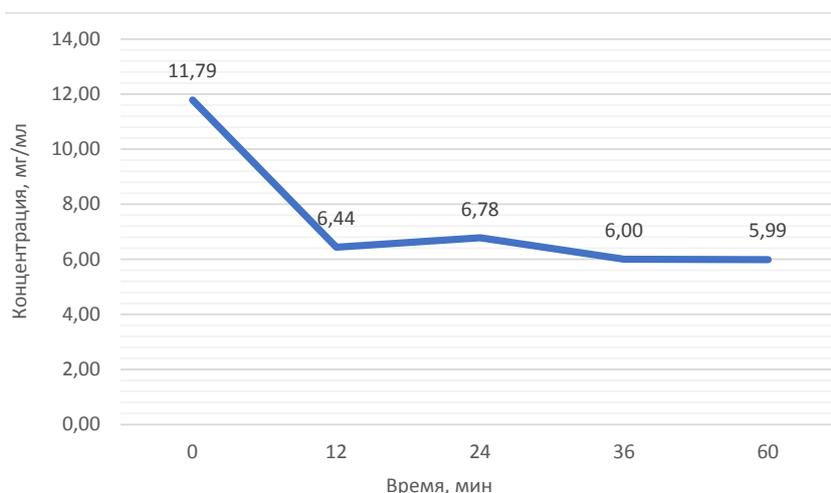


Рис. 2. График снижения концентрации общего IgG при воздействии образца на основе лиганда Phe-Trp-DTyr

Fig. 2. Graph of the decrease in total IgG concentration upon exposure to the sample based on Phe-Trp-DTyr ligand

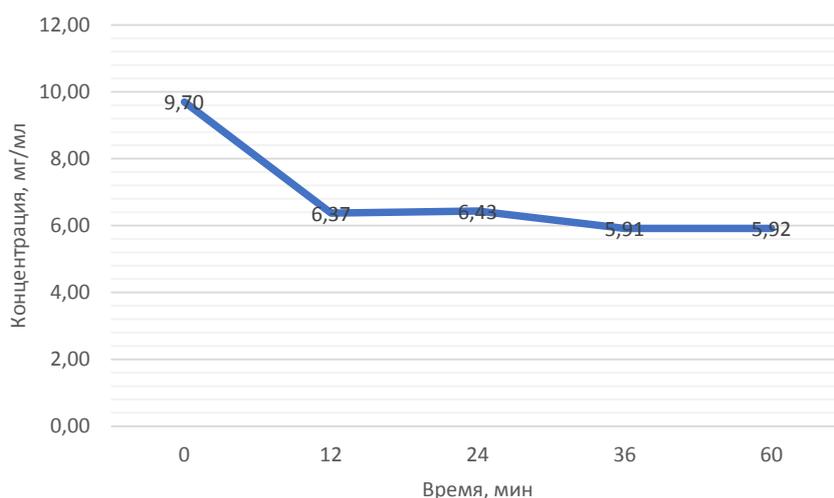


Рис. 3. График снижения концентрации общего IgG при воздействии образца на основе лиганда Phe-Gln-Tyr-OMe

Fig. 3. Graph of the decrease in total IgG concentration upon exposure to the sample based on Phe-Gln-Tyr-OMe ligand

Значения концентрации IgG в плазме при воздействии на нее образца на основе Phe-Ala-Tyr-OMe уменьшаются, постепенно достигнув своего максимума на 36-й минуте, и имеют значение 7,28 мг/мл. После положительной динамики начиная с 36-й минуты эксперимента происходит десорбция IgG и концентрация плазмы поднимается до 8,04 мг/мл. Подобное увеличение концентрации свидетельствует о высокой степени десорбции (рис. 4).

За период проведения эксперимента с использованием образца на основе Phe-Asn-Tyr-OMe также наблюдалось постепенное снижение концентрации общего IgG до 24-й минуты с последующей десорбцией, наблюдаемой на 36-й и дальнейшем медленным увеличением сорбции к 60-й минуте (рис. 5).

Такое же течение сорбции характерно и для образца на основе Phe-Gly-Tyr-OMe. В образце снизилось количество общего IgG в плазме с 8,20 до 6,14 мг/мл. Максимум сорбции был достигнут на 24-й минуте, после чего наблюдается небольшое повышение концентрации IgG и дальнейший его спад. Подобное течение процесса сорбции может привести к выводу, что возможный

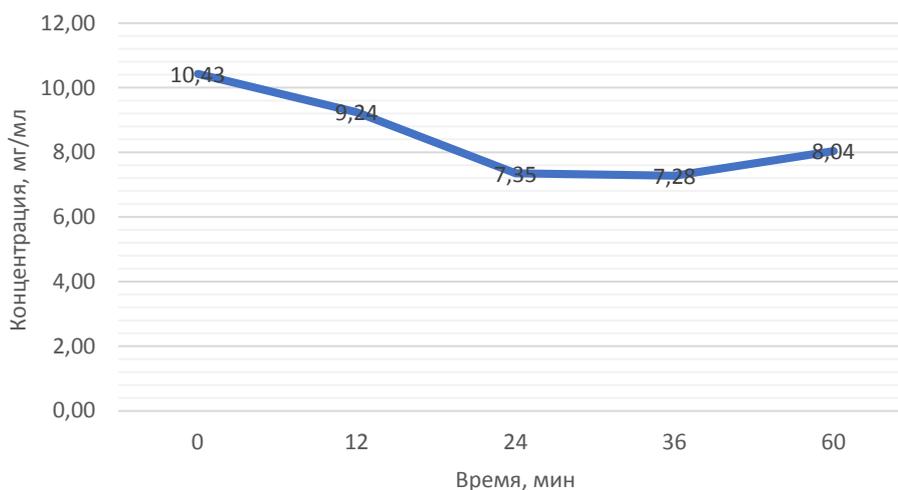


Рис. 4. График снижения концентрации общего IgG при воздействии образца на основе лиганда Phe-Ala-Tyr-OMe

Fig. 4. Graph of the decrease in total IgG concentration upon exposure to the sample based on Phe-Ala-Tyr-OMe ligand

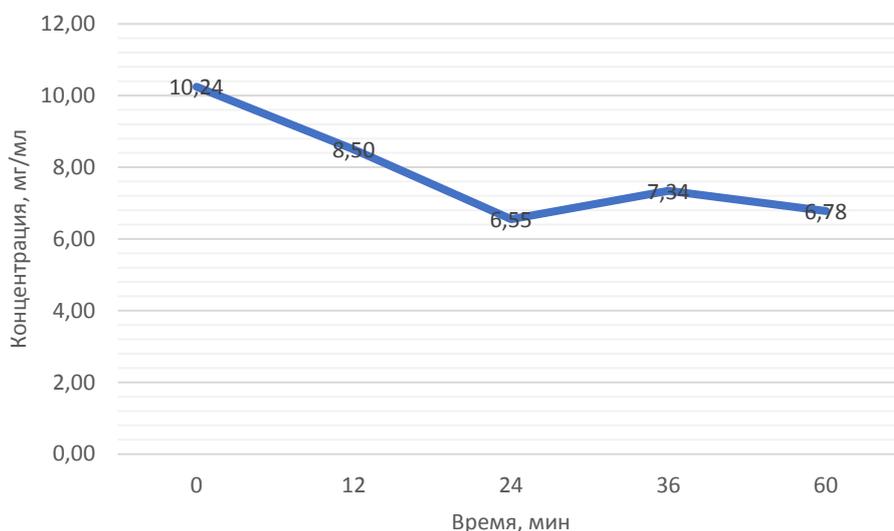


Рис. 5. График снижения концентрации общего IgG при воздействии образца на основе лиганда Phe-Asn-Tyr-OMe

Fig. 5. Graph of the decrease in total IgG concentration upon exposure to the sample based on Phe-Asn-Tyr-OMe ligand

порог насыщаемости этими образцами был достигнут и начался процесс разрушения–восстановления части комплексов на поверхности опытного образца (рис. 6).

При определении насыщаемости образца на основе Phe-Asp(Bzl)-Tyr-OMe концентрация плазмы уменьшалась с 11,16 до 6,76 мг/мл на протяжении 36 мин. С 36-й минуты и до конца эксперимента наблюдается повышение концентрации от 6,76 до 7,45 мг/мл. Таким образом, можно предположить, что период десорбции начинается с 36-й минуты и протекает крайне медленно (рис. 7).

Свойства емкости были установлены посредством расчета данных количеств, полученных в ходе динамических экспериментов и расчетов максимального количества, сорбированного общего IgG на 1 г сорбента. Количество связанного образцами сорбентов общего IgG рассчитывали по разнице количества свободного белка в плазме в сравнении с исходным количеством общего IgG в контрольном образце плазмы крови. В ходе расчетов было выявлено, что среднее количество общего IgG в плазме составляло 358,72 мг, при максимальном значении 412,6 и минимальном 287,07 мг (таблица).

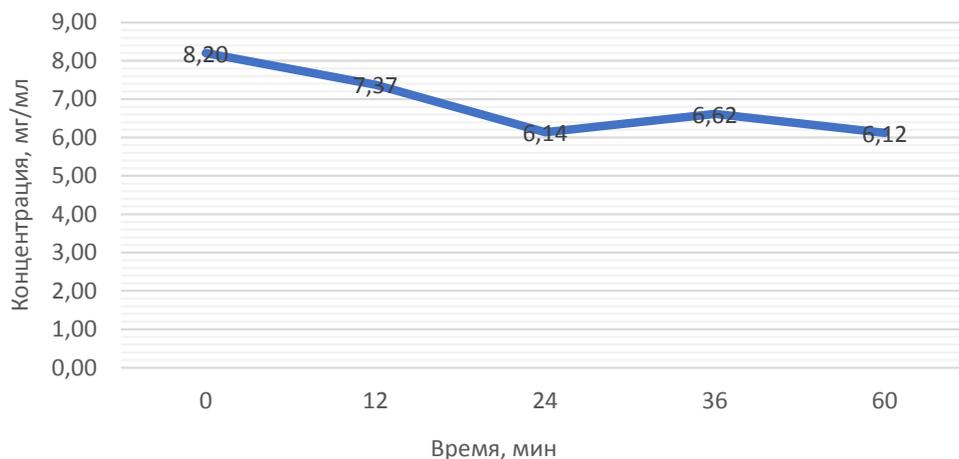


Рис. 6. График снижения концентрации общего IgG при воздействии образца на основе лиганда Phe-Gly-Tyr-OMe  
 Fig. 6. Graph of the decrease in total IgG concentration upon exposure to the sample based on Phe-Gly-Tyr-OMe ligand

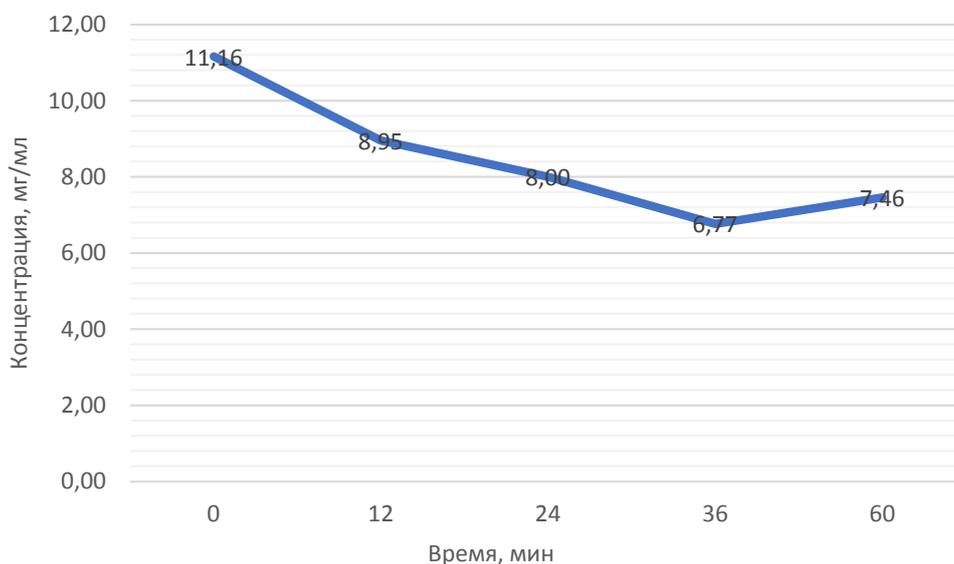


Рис. 7. График снижения концентрации общего IgG при воздействии образца на основе лиганда Phe-Asp(Bzl)-Tyr-OMe

Fig. 7. Graph of the decrease in total IgG concentration upon exposure to the sample based on Phe-Asp(Bzl)-Tyr-OMe ligand

**Количество свободного IgG в плазме при проведении динамических экспериментов, мг**  
**The amount of free IgG in plasma during dynamic experiments, mg**

Образец сорбента	Время, мин				
	0	12	24	36	60
Phe-Trp-DTyr	412,60	225,40	237,30	210,00	209,65
Trp-Phe-DTyr	357,70	346,85	333,20	307,65	320,32
Phe-Gln-Tyr-OMe	339,44	223,00	225,17	207,02	207,04
Phe-Asn-Tyr-OMe	358,54	297,36	229,39	257,04	237,27
Phe-Asp(Bzl)-TyrOMe	390,67	313,31	280,08	236,85	260,96
Phe-Ala-Tyr-OMe	365,05	323,40	257,25	254,80	281,40
Phe-Gly-Tyr-OMe	287,07	258,06	214,76	231,53	214,20

Исходя их данных таблицы, количество сорбированного общего IgG образцом на основе Phe-Trp-DТур составило 202,6 мг или 50,65 мг/г сорбента, для образца на основе Trp-Phe-DТур – 12,51 мг/г сорбента, Phe-Gln-Тур-ОМе – 33,1, Phe-Asn-Тур-ОМе – 30,32, Phe-Asp(Bzl)-Тур-ОМе – 32,43, Phe-Ala-Тур-ОМе – 20,91, Phe-Gly-Тур-ОМе – 18,22 мг/г сорбента. Полученные результаты свидетельствуют, о том, что наиболее высокие свойства сорбции проявляют образцы на основе Phe-Trp-DТур, Phe-Gln-Тур-ОМе и Phe-Asp(Bzl)-Тур-ОМе.

Таким образом, достоверно определена предельная насыщаемость образцов на основе Phe-Trp-DТур и образца Phe-Gln-Тур-ОМе, наступившая на 36-й минуте эксперимента. Для образцов Phe-Ala-Тур-ОМе, Phe-Asn-Тур-ОМе и Phe-Gly-Тур-ОМе предельная насыщаемость может быть определена на 24-й минуте, после которой наступает период десорбции. Выявлено, что образцы на основе Phe-Trp-DТур и Phe-Gln-Тур-ОМе обладают высокой активностью лиганда, а также стабильностью. Выявлена наибольшая сорбционная емкость для экспериментальных образцов сорбентов на основе Phe-Trp-DТур – 50,65 мг/г и Phe-Asp(Bzl)-Тур-ОМе – 32,43 мг/г.

### Список использованных источников

1. Serum IgG subclasses in autoimmune diseases / H. Zhang [et al.] // *Medicine*. – 2015. – Vol. 1, N 2. – P. 387e–393. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000000387>
2. Иммуносорбция в лечении дилатационной кардиомиопатии / К. И. Бардахивская [и др.] // *Эфферентная и физ.-хим. медицина*. – 2012. – № 3. – С. 7–10.
3. Bosch, T. Therapeutic Apheresis–State of the Art in the Year 2005 / T. Bosch // *Therapeutic Apheresis and Dialysis*. – 2005. – Vol. 9, N 6. – P. 459–468. <https://doi.org/10.1111/j.1744-9987.2005.00306.x>
4. Auto-immune disorders treated with therapeutic apheresis / R. Bambauer [et al.] // *Immunol. Res. Ther.* – 2017. – Vol. 21, N 1. – P. 111–131. <https://doi.org/10.1111/1744-9987.12499>
5. Plasmapheresis in active systemic lupus erythematosus: effects on clinical, serum and cellular abnormalities / N. J. Aboue [et al.] // *Case report. Clin. Immunol. Immunopathol.* – 1981. – Vol. 19. – P. 44–54. [https://doi.org/10.1016/0090-1229\(81\)90046-5](https://doi.org/10.1016/0090-1229(81)90046-5)
6. Performance of hexamer peptide ligands for affinity purification of immunoglobulin G from commercial cell culture media / A. Naik [et al.] // *J. Chromatogr. A*. – 2011. – Vol. 1218, iss. 13. – P. 1691–1700. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.11.071>
7. Newly synthesized bentonite–histidine (Bent–His) micro-composite affinity sorbents for IgG adsorption / N. Ozturk [et al.] // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2007. – Vol. 301, iss 1. – P. 490–497. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.01.026>
8. Selective adsorption of globulin on nanofiber meshes for immunoadsorption therapy / R. Kurimotoa [et al.] // *New J. Chem.* – 2018. – Vol. 42, N 4. – P. 2916–2922. <https://doi.org/10.1039/c7nj04672c>
9. Молекулярный докинг лигандов перспективных для сорбции IgG из биологических жидкостей / Е. С. Пустюльга [и др.] // *Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. хім. навук*. – 2020. – Т. 56, № 1. – С. 88–95. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-1-88-95>
10. Селективность аффинных сорбентов на основе ароматических пептидов для связывания иммуноглобулинов класса G / Е. С. Пустюльга [и др.] // *Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. хім. навук*. – 2020. – Т. 56, № 3. – С. 333–338. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-3-333-338>
11. Пустюльга, Е. С. Поиск лигандов сорбентов для извлечения IgG из биологических жидкостей / Е. С. Пустюльга, Е. М. Ермола // 2-й междунар. биохим. Конгресс: Современные проблемы биохимии и молекулярной биологии / Ин-т биох. биол. активн. соед. НАН Беларусі ; ред.: И. Н. Семененя (гл. ред.) [и др.]. – Гродно, 2018. – С. 482–487.
12. Теория и практика иммуноферментного анализа / А. П. Осипов [и др.] – М.: Высш. шк., 1991. – 288 с.

### References

1. Zhang H., Li P., Wu D., Xu D., Hou Y., Wang Q., Li M., Li Y., Zhang F., Shi Q., Serum IgG subclasses in autoimmune diseases. *Medicine*, 2015, vol. 1, no. 2, pp. 387e–393. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000000387>
2. Bardakhivskaya K. L., Nikolaev V. G., Uvarov V. Yu., Tsimbalyuk R. S., Ivanyuk A. A. Immunoadsorption in the treatment of dilated cardiomyopathy. *Efferentnaya i fiziko himicheskaya meditsina = Efferent and physico-chemical medicine*, 2012, no. 3, pp. 7-10 (in Russian).
3. Bosch T. Therapeutic Apheresis–State of the Art in the Year 2005. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*, 2005, vol. 9, no. 6, pp. 459–468. <https://doi.org/10.1111/j.1744-9987.2005.00306.x>
4. Bambauer R., Latza R., Burgard D., Schiel R. Auto-immune disorders treated with therapeutic apheresis. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*, 2017, vol. 21, no. 1, pp. 111–131. <https://doi.org/10.1111/1744-9987.12499>
5. Abdoue N. J., Lindsley H. B., Pollock A., Stechschulte D. J., Wood G. Plasmapheresis in active systemic lupus erythematosus: effects on clinical, serum and cellular abnormalities. Case report. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 1981, vol. 19, no. 1, pp. 44–54. [https://doi.org/10.1016/0090-1229\(81\)90046-5](https://doi.org/10.1016/0090-1229(81)90046-5)
6. Naik A. D., Menegatti S., Gurgel P. V., Carbonell R. G. Performance of hexamer peptide ligands for affinity purification of immunoglobulin G from commercial cell culture media. *Journal of Chromatography A*, 2011, vol. 1218, iss. 13, pp. 1691–1700. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.11.071>

7. Ozturk N., Tabak A., Akgol S., Denizli A. Newly synthesized bentonite–histidine (Bent–His) micro-composite affinity sorbents for IgG adsorption. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2007, vol. 301, iss 1, pp. 490–497. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.01.026>

8. Kurimoto R., Namekawab K., Ellisd A. V., Naitoa M., Ebaraa M. Selective adsorption of globulin on nanofiber meshes for immunoadsorption therapy. *New Journal of Chemistry*, 2018, vol. 42, no. 4, pp. 2916–2922. <https://doi.org/10.1039/c7nj04672c>

9. Pustylga Y. S., Gribovskaya O. V., Yermola E. M., Golubovich V. P. Molecular docking of ligands promising for IgG sorption from biological fluids. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*, 2020, vol. 56, no. 1, pp. 88–95 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-1-88-95>

10. Pustylga Y. S., Gribovskaya O. V., Ermola E. M., Golubovich V. P. Selectivity of affinity sorbents based on aromatic peptides for the binding of class G immunoglobulins. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*, 2020, vol. 56, no. 3, pp. 333–338 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-3-333-338>

11. Pustylga Y. S., Ermola E. M. Search for ligands of sorbents for the extraction of IgG from biological fluids. *2-i mezhdunar. biokhim. kongress. Sovremennyye problemy biokhimii i molekulyarnoi biologii* [2nd International Biochemical Congress. Modern problems of biochemistry and molecular biology]. Grodno, Institute of Biochemistry of biologically active compounds of the NAS of Belarus, 2018, pp. 482–487 (in Russian).

12. Osipov A. P., Dzantiev B. B., Gavrilova E. M. *Theory and practice of enzyme immunoassay*. Moscow, Vysshaya shkola Publ., 1991. 288 p. (in Russian).

### Информация об авторах

*Пустюльга Егор Сергеевич* – науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Акад. В. Ф. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: zeroed.inside@gmail.com

*Грибовская Ольга Викторовна* – ст. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Акад. В. Ф. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: olymelnik@yandex.ru

*Ермола Евгений Михайлович* – науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Акад. В. Ф. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: ermola.e@tut.by

*Голубович Владимир Петрович* – д-р биол. наук, профессор, зав. лаб. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Акад. В. Ф. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: golubovich@iboch.by

### Information about the authors

*Yegor S. Pustylga* – Researcher, Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Acad. V. F. Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: zeroed.inside@gmail.com

*Olga V. Gribovskaya* – Senior Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Acad. V. F. Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: olymelnik@yandex.ru

*Eugeny M. Ermola* – Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Acad. V. F. Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ermola.e@tut.by

*Vladimir P. Golubovich* – D. Sc. (Biology), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Acad. V. F. Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: golubovich@iboch.by

## ХІМІЯ ВЫСОКАМАЛЕКУЛЯРНЫХ ЗЛУЧЭННЯЎ

### POLYMER CHEMISTRY

УДК 677.46:66.02+661.728  
<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-473-481>

Поступила в редакцию 19.05.2020  
Received 19.05.2020

Т. А. Савицкая<sup>1</sup>, Н. Г. Цыганкова<sup>2</sup>, С. Е. Макаревич<sup>2</sup>, Д. Д. Гриншпан<sup>2</sup>, О. А. Ивашкевич<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт физико-химических проблем БГУ, Минск, Беларусь

### ТЕРМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОМПОЗИЦИОННЫХ ВОЛОКОН СОСТАВА ЦЕЛЛЮЛОЗА–ХИТОЗАН

**Аннотация.** Получены композиционные волокна состава целлюлоза–хитозан по способу мокрого формования из совместных растворов в ортофосфорной кислоте. Методами термогравиметрии (ТГ), дифференциальной термогравиметрии (ДТГ) и дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) проведена оценка их термических свойств в интервале 20–600 °С в атмосфере воздуха. Установлено, что температура максимальной скорости разложения композиционных волокон лежит между температурами, характерными для индивидуальных компонентов. Показано, что добавление к целлюлозе хитозана приводит к росту массы карбонизованного остатка и придает целлюлозным волокнам свойство самозатухаемости. Дано объяснение наблюдаемому эффекту, обусловленному достижением равномерного распределения друг в друге макромолекул целлюлозы и хитозана и их агрегатов, разделенных межфазными слоями, в которых реализована сетка зацеплений взаимопроникающих сегментов макромолекул обоих полимеров, что обеспечивает появление у композиционных волокон негорючести при содержании хитозана более 20 % и сохранение целостности волокон после их обработки растворителем хитозана – уксусной кислотой.

**Ключевые слова:** целлюлоза, хитозан, ортофосфорная кислота, композиционные волокна, термостабильность, способность к самозатуханию

**Для цитирования.** Термические свойства композиционных волокон состава целлюлоза–хитозан / Т. А. Савицкая [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2020. – Т. 56, № 4. – С. 473–481. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-473-481>

T. A. Savitskaya<sup>1</sup>, N. G. Tsygankova<sup>2</sup>, S. E. Makarevich<sup>2</sup>, D. D. Grinshpan<sup>2</sup>, O. A. Ivashkevich<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Belarusian State University, Minsk, Belarus

<sup>2</sup>Research Institute for Physical Chemical Problems, Minsk, Belarus

### THERMAL PROPERTIES OF CELLULOSE–CHITOSAN COMPOSITE FIBERS

**Abstract.** Cellulose–chitosan composite fibers were obtained by the method of wet spinning from joint solutions in phosphoric acid. Thermogravimetry (TG), differential thermogravimetry (DTG) and differential scanning calorimetry (DSC) methods have been used to evaluate their thermal properties in the range of 20–600 °C in air atmosphere. It was found that the temperature of the maximum decomposition rate of composite fibers lies between the temperatures characteristic of individual components. It is shown that the addition of chitosan to cellulose leads to an increase in the mass of the carbon residue and gives the cellulosic fibers a self-extinguishing property. The observed effect is explained by the uniform distribution of cellulose and chitosan macromolecules and their aggregates separated by interphase layers in each other, in which a net of interpenetrating segments of both polymer macromolecules is represented. This provides the incombustibility for composite fibers with a chitosan content of more than 20 % and maintaining the integrity of the fibers after processing them with a solvent of chitosan–acetic acid.

**Keywords:** cellulose, chitosan, phosphoric acid, composite fibers, thermal stability, self-extinguishing ability

**For citation.** Savitskaya T. A., Tsygankova N. G., Makarevich S. E., Grinshpan D. D., Ivashkevich O. A. Thermal properties of cellulose–chitosan composite fibers. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya khimichnykh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*, 2020, vol. 56, no. 4, pp. 473–481 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-473-481>

**Введение.** Несмотря на широкую распространенность в природе, целлюлоза и хитин одновременно в одном природном объекте практически не присутствуют. Исключение составляют только оомицеты – большой класс эукариотических организмов, в клеточных стенках которых наряду с целлюлозой содержится до 10 % хитинообразных полимеров. Поэтому желание исследователей искусственно осуществить получение композитов на основе целлюлозы, хитина или

его производного – хитозана полностью соответствует современным идеям биомиметики [1]. Уникальное строение макромолекул целлюлозы и хитозана, обуславливающее наличие у них волокно- и пленкообразующих свойств, биоразлагаемости, а в случае хитозана еще и биологической активности, создает предпосылки для получения из них композиционных материалов с улучшенными характеристиками в различной физической форме: волокон, нановолокон, нитей, пленок, мембран, гелей, спонжей и др. К сожалению, большинство предложенных к настоящему времени способов получения таких материалов не вышло за рамки лабораторных исследований. Это обусловлено сложностью осуществления процессов совмещения данных полимеров на молекулярном и надмолекулярном уровнях.

Широко рекламируемым методом получения композитов стала поверхностная обработка натуральных целлюлозных и искусственных гидратцеллюлозных волокон растворами хитозана [2]. Такой способ модификации позволяет улучшить окрашиваемость, придать целлюлозным волокнам приятный гриф, повысить эластичность, водоудерживающую способность и др. Но эти эффекты являются кратковременными и после стирки исчезают [3]. Другие предложения по смешению полимерных компонентов, например путем совмещения полимеров в растворе, до настоящего времени сдерживались ограниченным числом растворителей, общих для целлюлозы и хитозана. Многие из растворителей, предложенных для перевода целлюлозы в растворенное состояние, не могут быть использованы для получения смесей целлюлозы с хитозаном. Например, метилморфолин-N-оксид моногидрат, который сегодня применяется при производстве гидратцеллюлозного волокна Лиоцелл, не пригоден для получения композиционных волокон, поскольку хитозан в нем не растворяется [4, 5]. Другие растворяющие целлюлозу и хитозан системы, из которых в лабораторных условиях были сформированы гидратцеллюлозные волокна: смеси NaOH и мочевины (тиомочевины) с добавками ZnO, бинарная смесь ДМАА–LiCl, водные растворы неорганических солей – ZnCl<sub>2</sub>, LiBr, диалкилимидазолиевые ионные жидкости, безводные суперфосфорные кислоты – из-за коррозионной активности, высокой стоимости, сложности регенерации растворителей, токсичности и пожароопасности используемых при формировании реагентов также не могут быть рекомендованы для промышленного применения [6, 7].

К настоящему времени в малотоннажном масштабе реализованы только процессы получения модифицированных хитозаном вискозных волокон путем добавления в раствор ксантогената целлюлозы микрочастиц хитозана (волокно Chytopoly) [8] или раствора ксантогената хитина (волокно Crabyon) [9]. Но и они пригодны только для получения гидратцеллюлозных волокон, содержащих не более 2–7 % хитозана. Столь малые добавки хитозана несколько улучшают окрашиваемость и гигроскопичность гидратцеллюлозных волокон, но не приводят к появлению у них нового комплекса свойств. При этом себестоимость конечного продукта увеличивается в несколько раз.

Сегодня единственным реальным вариантом промышленного производства волокон состава целлюлоза–хитозан, по-нашему мнению, может быть новая технология, основанная на получении совместных растворов целлюлозы и хитозана в ортофосфорной кислоте в условиях, исключающих интенсивную деструкцию полимеров. Она уже апробирована в опытно-промышленном масштабе Учреждением Белорусского государственного университета «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем» на ОАО «СветлогорскХимволокно» [10–12].

Цель настоящей работы – изучение термических свойств композиционных волокон состава целлюлоза–хитозан, полученных методом мокрого формования из их совместных растворов в ортофосфорной кислоте в водно-солевую осадительную ванну, содержащую гидро- и дигидрофосфат калия.

**Материалы и методы.** В качестве исходных полимеров использовали древесную сульфатную целлюлозу производства ОАО «Байкальский целлюлозно-бумажный комбинат» (Россия) со степенью полимеризации 800–900 и содержанием  $\alpha$ -целлюлозы не менее 92 % и хитозан марки «пищевой» производства ООО «Биопрогресс» (Россия) со степенью ацетилирования 30 % и молекулярной массой  $2 \cdot 10^5$ . Листы целлюлозы перед растворением нарезали на квадраты  $1 \times 1$  см, а хитозан измельчали с помощью ультрацентрибежной мельницы Retsch ZM 200 (Германия) в порошок с размером частиц не более 1 мм.

При получении совместных растворов целлюлозы с хитозаном в ортофосфорной кислоте были опробованы три способа совмещения полимеров: совместное растворение, смешение раз-

дельно приготовленных растворов и растворение второго полимера в предварительно приготовленном растворе первого. Наиболее приемлемым оказался первый способ.

Исходным реагентом для приготовления растворителя служила концентрированная (86 %) ортофосфорная кислота квалификации «ч.» с плотностью  $1,69 \cdot 10^3$  кг/м<sup>3</sup> (ГОСТ 6552-80). На ее основе готовили фосфорную кислоту растворяющего состава, в которую вводили навески измельченных воздушно-сухих полимеров и перемешивали при 40–60 °С со скоростью от 200 до 1000 об/мин в течение 0,05–1 ч до образования однородной суспензии. Затем суспензию охлаждали до температуры от –1 до –10 °С и получали гомогенные высоковязкие растворы с суммарной концентрацией полимеров от 7 до 9 мас.% при отношении целлюлоза : хитозан = 100 : 0; 90 : 10; 80 : 20; 75 : 25 и 70 : 30 (мас. ч.). Формование волокон осуществляли в осадительную ванну, представляющую собой водный раствор гидро- и дигидрофосфата калия при pH 7,0–10,0 и температуре 5–18 °С. Свежесформованные волокна отмывали последовательно водными растворами этих солей с уменьшающейся от 1,18 до 1,001 г/см<sup>3</sup> плотностью. Окончательную отмывку осуществляли обессоленной водой. Сушили волокна при 105–120 °С. В тех же условиях были сформованы пленки состава целлюлоза : хитозан = 100:0; 70:30; 50:50 и 0:100. Термогравиметрический анализ и дифференциальную сканирующую калориметрию образцов осуществляли на приборе STA 449 URITER (NETZSCH, Германия). Масса образцов составляла 2,5–5,0 мг, температурный интервал 20–600 °С, скорость нагрева – 10 °С/мин. Термообработку проводили в атмосфере воздуха. Для съемки рентгенограмм на рентгеновском дифрактометре Empyrean фирмы PANalytical (CuK $\alpha$ -излучение) образцы волокон предварительно измельчали на ультрацентрибежной мельнице ZM 200 – Retsch с ситом 1,0 мм, а затем полученные порошки прессовали в таблетки толщиной 3–5 мм. Фурье-ИК спектры в режиме МНПВО (на кристалле селенида цинка с фиксированным углом падения 45°) регистрировали на спектрометре Nicolet IS10 FT-IR (ThermoScientific, США) при 40-кратном сканировании и разрешении 2 см<sup>-1</sup> при температуре окружающей среды.

Определение кислородного индекса (КИ) волокон было выполнено в ФГБОУ ВО «Российский государственный университет им. А. Н. Косыгина» по ГОСТ 21793-76 «Пластмассы. Метод определения кислородного индекса». Удаление хитозана из композиционных волокон проводили 0,16 М уксусной кислотой при двух температурах: 25 и 100 °С с последующей отмывкой дистиллированной водой до нейтральной реакции.

**Результаты и их обсуждение.** Близость химического строения целлюлозы и хитозана позволила совместить эти полимеры в их общем растворителе на молекулярном и надмолекулярном уровнях, а затем зафиксировать это состояние в твердой фазе. В результате были получены волокна и пленки с улучшенными физико-химическими свойствами по сравнению с индивидуальными компонентами и высоким кислородным индексом.

Как видно из рис. 1 и таблицы, максимальной скорости разложения композиционных волокон состава целлюлоза : хитозан = 80:20 и 75:25 в атмосфере воздуха соответствуют близкие температуры 282 и 285 °С. Они расположены между температурами, характерными для индивидуальных компонентов: 327 °С для целлюлозы и 257 °С для хитозана. На кривых термического разложения как индивидуальных компонентов, так и композиционных волокон проявляются две основные стадии потери массы. Первая обусловлена испарением физически адсорбированной воды, которое происходит в интервале температур 60–70 °С. При повышении температуры процесс термической деструкции идет по двум направлениям: деполимеризации и дегидратации. Термическая деполимеризация приводит к образованию левоглюкозана, который дегидратируется и разлагается с образованием низкомолекулярных летучих соединений и только частично полимеризуется с образованием угля [13]. На кривых ДСК вышеперечисленные процессы характеризуются одним эндо- и двумя экзоэффектами. С ростом содержания хитозана в композиционных волокнах основной экзотермический пик смещается в область более низких температур: от 493 °С, характерной для чисто целлюлозного волокна, до 472 °С для целлюлозного волокна, содержащего 25 % хитозана.

Обращает на себя внимание тот факт, что масса твердого продукта термодеструкции – карбонизованного остатка, образующегося при достижении 600 °С в атмосфере воздуха в случае композиционных волокон, превышает массу остатка, образующегося при термическом разложении немодифицированного целлюлозного волокна (таблица). Так, при 25 %-ном содержании

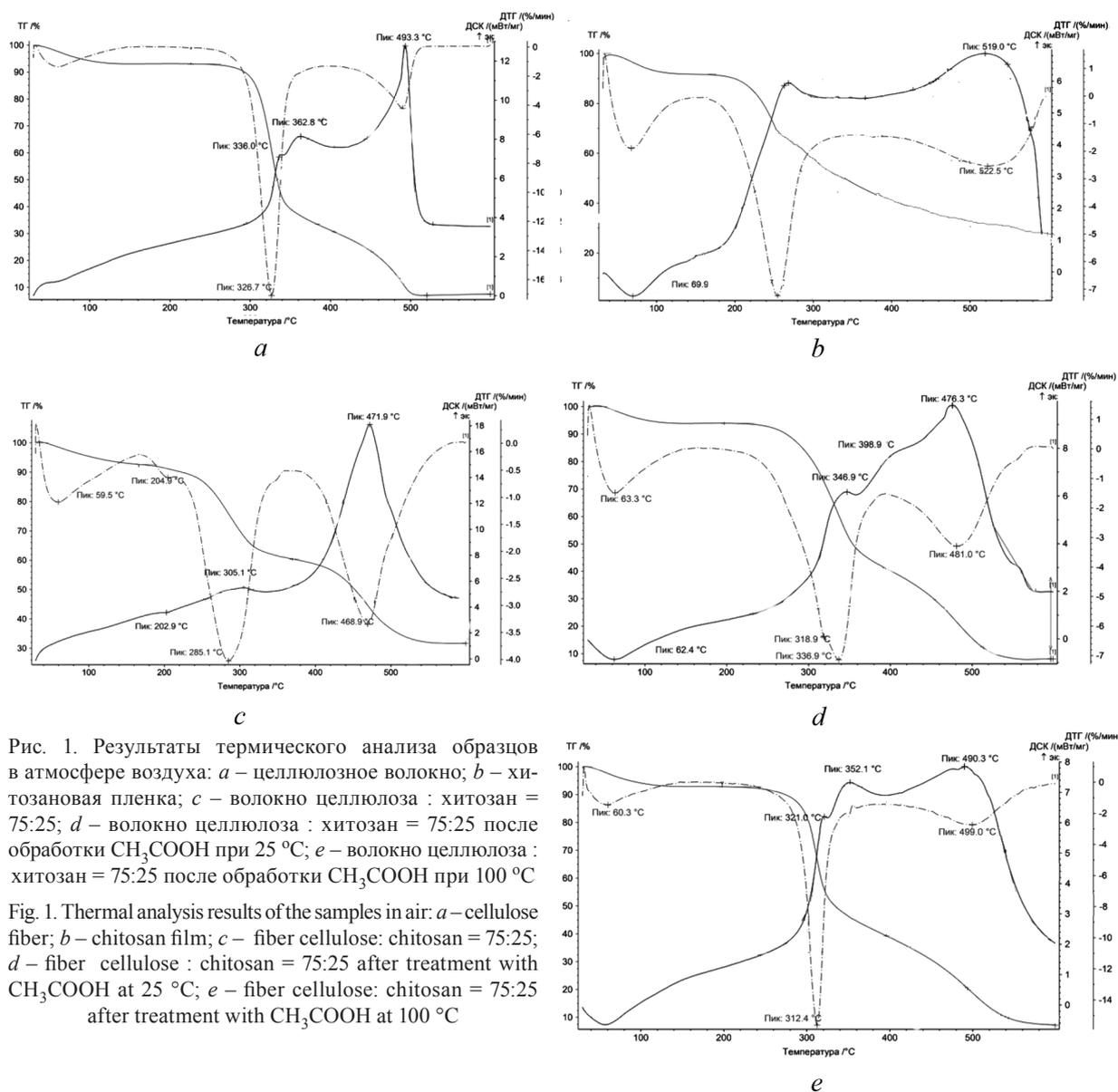


Рис. 1. Результаты термического анализа образцов в атмосфере воздуха: *a* – целлюлозное волокно; *b* – хитозановая пленка; *c* – волокно целлюлоза : хитозан = 75:25; *d* – волокно целлюлоза : хитозан = 75:25 после обработки  $\text{CH}_3\text{COOH}$  при 25 °С; *e* – волокно целлюлоза : хитозан = 75:25 после обработки  $\text{CH}_3\text{COOH}$  при 100 °С

Fig. 1. Thermal analysis results of the samples in air: *a* – cellulose fiber; *b* – chitosan film; *c* – fiber cellulose: chitosan = 75:25; *d* – fiber cellulose: chitosan = 75:25 after treatment with  $\text{CH}_3\text{COOH}$  at 25 °С; *e* – fiber cellulose: chitosan = 75:25 after treatment with  $\text{CH}_3\text{COOH}$  at 100 °С

хитозана в композиционном волокне масса карбонизованного остатка по сравнению с целлюлозным выше в 2,5 раза. Это характеризует композиционные волокна как более термостойкие по сравнению с целлюлозным.

Нами было показано [14], что введение хитозана в состав композиционных волокон приводит к понижению их горючести, которую характеризуют величиной КИ. При удалении источника открытого пламени они самозатухают. Факт повышения КИ при введении хитозана в целлюлозные волокна ранее в научной и патентной литературе не был описан.

#### Характеристики процесса термодеструкции волокон в атмосфере воздуха

#### Characteristics of the fibers thermal degradation process in air

Состав образца	Карбонизованный остаток, %	Температура удаления воды, °С	Количество удаляемой воды, %	Температура максимальной скорости разложения, °С
Целлюлозное волокно	7,53	59	6,96	327
Волокно целлюлоза : хитозан = 80:20	29,64	58	8,32	282
Волокно целлюлоза : хитозан = 75:25	31,71	60	7,35	285
То же после обработки $\text{CH}_3\text{COOH}$ при 25 °С	8,11	63	6,07	336
То же после обработки кипящей $\text{CH}_3\text{COOH}$	7,60	60	7,14	312
Хитозан (пленка)	35,85	70	6,61	257

Как показали результаты определения кислородного индекса, негорючесть модифицированных гидратцеллюлозных волокон закономерно возрастает с увеличением содержания хитозана. Уже при 20 %-ном содержании хитозана волокна обладают пониженной горючестью. Их КИ составляет 28,9 % по сравнению с 18–20 % КИ для целлюлозных волокон. При содержании 25 % хитозана композиционные волокна имеют КИ, равный 35,5 %. При 30 %-ном содержании хитозана волокна перестают гореть и не распространяют пламя. Для них КИ составляет 57 %. Такие волокна относят к классу специальных негорючих волокон. Целлюлозно-хитозановые волокна частично теряют свой КИ только после 5 стирок по ГОСТ 9733.4. Однако и после этого они сохраняют необходимые огнезащитные свойства: КИ равен 29,0 %. Для сравнения: вискозные волокна пониженной горючести фирмы «Ленцинг», модифицированные синтетическими аппретами, имеют КИ 28,5 %. После 5 стирок их КИ падает до уровня обычных вискозных волокон (КИ 20,8 %).

Для достижения такого значительного эффекта снижения горючести при содержании в гидратцеллюлозном волокне 20–30 % хитозана необходима высокая равномерность распределения компонентов друг в друге. Можно предположить, что при формировании композиционных волокон из растворов целлюлозы и хитозана в общем растворителе – ортофосфорной кислоте происходит совмещение этих полимеров на уровне макромолекул и их агрегатов. При этом совмещение на уровне макромолекул реализуется и в межфазных слоях, которые располагаются по границам надмолекулярных образований целлюлозы и хитозана, образуя сетку зацеплений за счет взаимопроникновения сегментов макромолекул обоих полимеров.

Это предположение подтверждают экспериментальные данные. Оказалось, что при обработке композиционного волокна уксусной кислотой, которая не растворяет целлюлозу, но растворяет хитозан, удалить его полностью не удастся. Из таблицы следует, что в результате обработки уксусной кислотой волокна состава целлюлоза : хитозан = 75:25 при температуре 25 °С масса карбонизованного остатка, образующегося при терморазложении, уменьшается с 31,71 до 8,11 %. Только после кипячения композиционного волокна в уксусной кислоте при 100 °С масса его остатка становится практически равна массе остатка чисто целлюлозного волокна. Однако несмотря на близость масс карбонизованных остатков, термические профили кривых ДТГ и ДСК для исходного целлюлозного волокна и целлюлозы, образовавшейся после удаления из композиционного волокна хитозана, не совпадают (рис. 1 *a, d и e*).

Интересно, что в результате удаления хитозана из композиционного волокна уксусной кислотой при 25 °С положение основного пика максимальной скорости разложения на кривой ДТГ смещается от 285 до 336 °С, что выше, чем у исходного целлюлозного волокна (327 °С). Этот факт можно объяснить тем, что в композиционном волокне часть хитозана, которая удаляется при обработке уксусной кислотой, присутствует в виде агрегатов его макромолекул, а другая его часть, которая не удаляется растворителем, включена в состав межфазных слоев, образующихся на границах этих надмолекулярных образований за счет взаимопроникновения макромолекул полимеров. Такая кинетическая совместимость на уровне макромолекул и их агрегатов приводит к формированию физической сетки зацеплений их сегментов. О различных типах структурной организации межфазных слоев свидетельствует наличие небольшого плеча при 319 °С и основного пика, соответствующего 336 °С. В то же время и второй пик на кривых ДТГ также смещается в область более высоких температур: от 469 до 481 °С. Соответствующий этой температурной области экзотермический пик на кривых ДСК смещается при этом в область более низких температур и его положения на кривых ДСК целлюлозного волокна и композиционного волокна после удаления из него хитозана при 25 °С соответствуют 493 и 476 °С.

Даже кипячение в уксусной кислоте при 100 °С не позволяет добиться полного совпадения кривых ДТГ и ДСК исходного целлюлозного волокна и целлюлозы, оставшейся в композиционном волокне после растворения хитозана. Температура максимальной скорости разложения целлюлозного остатка смещена в область более низких температур от 327 до 312 °С. Пик, соответствующий термоокислению летучих низкомолекулярных продуктов разложения полимеров, для композиционного волокна после удаления из него хитозана регистрируется при 499 °С. Для сравнения: у исходного целлюлозного волокна положение этого пика соответствует 490 °С.

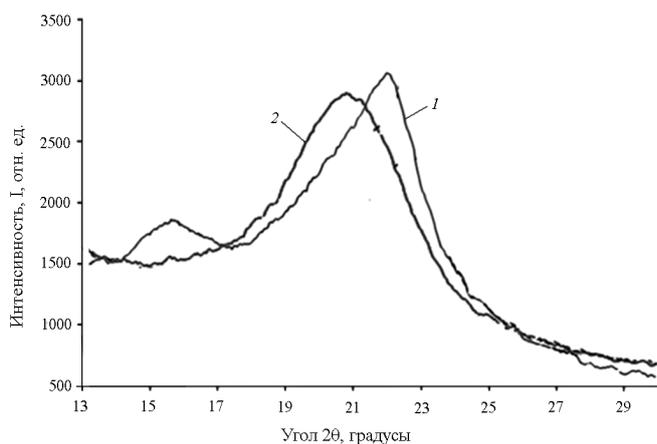


Рис. 2. Рентгенограммы целлюлозного (1) и композиционного волокна состава целлюлоза : хитозан = 75:25 (2)

Fig. 2. X-ray diffraction patterns of cellulose fiber (1) and composite fiber of cellulose: chitosan = 75:25 (2)

Подтверждением факта образования гомогенной композиционной смеси целлюлозы с хитозаном является также резкое уменьшение степени упорядоченности макромолекул целлюлозы, т. е. происходит ее аморфизация (рис. 2). На рентгенограмме композиционного волокна состава целлюлоза : хитозан = 75:25 исчезает дифракционный максимум при  $2\theta = 15,6^\circ$ , а максимум, положение которого в целлюлозном волокне соответствовало  $2\theta = 22,0^\circ$ , смещается до  $2\theta = 20,6^\circ$  и расширяется. Это указывает на гомогенное распределение макромолекул хитозана между макромолекулами целлюлозы, что не позволяет реализоваться процессу упорядочения последних при осаждении из совместного раствора.

На существование в структуре целлюлозно-хитозановых композиций областей совмещения целлюлозы с хитозаном на молекулярном уровне указывает, в частности, и сохранение в Фурье-ИК спектрах композиционных пленок состава целлюлоза : хитозан = 70:30 и 50:50 полосы, принадлежащей деформационным колебаниям связи N-H (полоса «Амид II»  $\sim 1550\text{см}^{-1}$ ) в хитозане, после его частичного удаления из пленки с помощью уксусной кислоты.

В результате такой обработки полоса не исчезает полностью, но уменьшается ее интенсивность. На рис. 3 это показано для композиционных пленок состава целлюлоза : хитозан = 70:30 и 50:50.

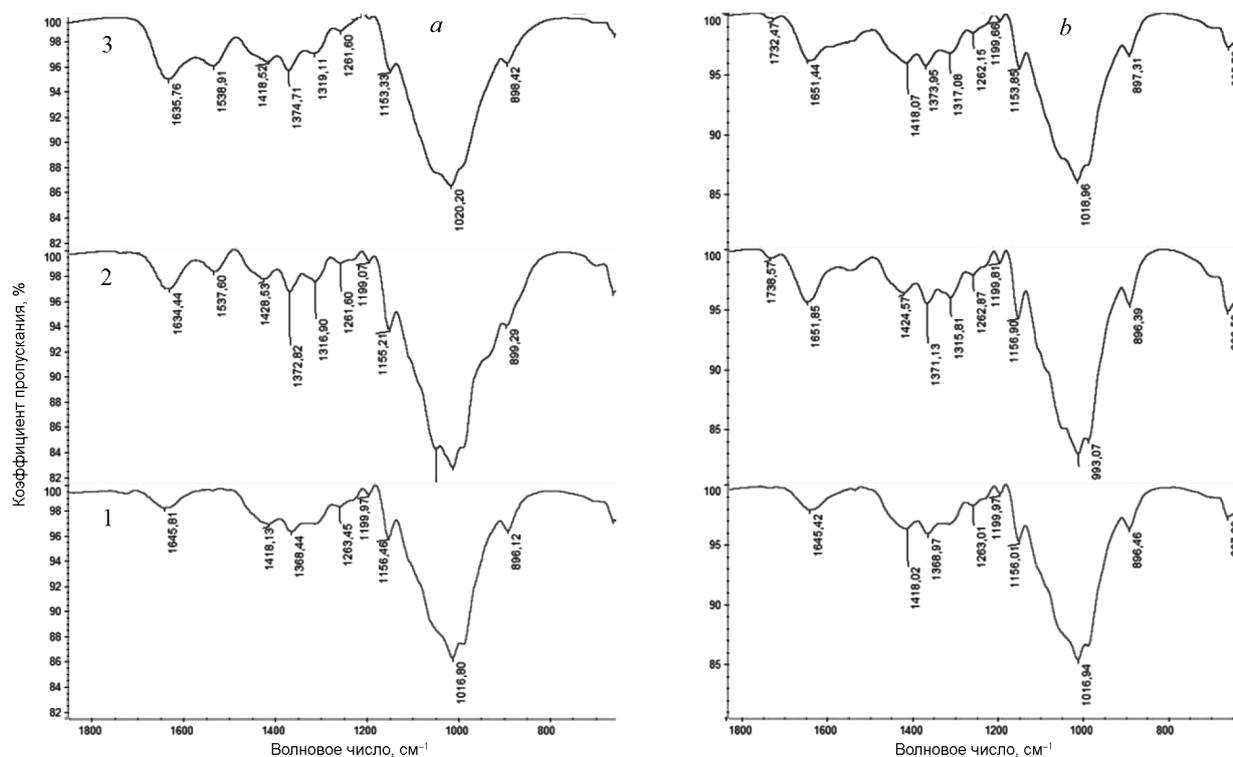


Рис. 3. Фрагменты ИК-Фурье спектров пленок до (a) и после (b) обработки  $\text{CH}_3\text{COOH}$ : 1 – целлюлоза; 2 – целлюлоза: хитозан = 70:30, 3 – целлюлоза: хитозан = 50:50

Fig. 3. Fragments of the IR Fourier spectra of the films before (a) and after (b) treatment with  $\text{CH}_3\text{COOH}$ : 1 – cellulose; 2 – cellulose: chitosan = 70:30; 3 – cellulose: chitosan = 50:50

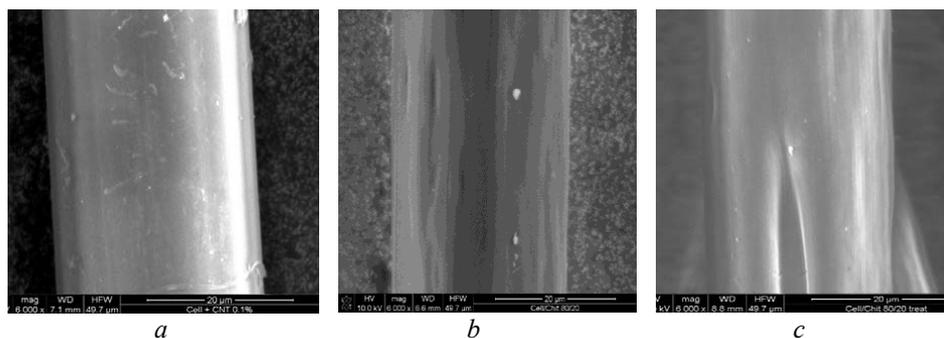


Рис. 4. Сканирующие электронные микрофотографии поверхности волокон: *a* – целлюлозное; *b* – состава целлюлоза : хитозан = 75:25 до и *c* – после кипячения в  $\text{CH}_3\text{COOH}$ .  $\times 6000$   
 Fig. 4. Scanning electron micrographs of the fibers surface: *a* – cellulose; *b* – cellulose: chitosan = 75:25 before and *c* – after boiling in  $\text{CH}_3\text{COOH}$ .  $\times 6000$

На равномерное взаимное распределение компонентов указывает также и тот факт, что после удаления хитозана из композиционного волокна в результате обработки кипящей уксусной кислотой волокно сохраняет целостность (рис. 4).

Результаты химического анализа волокон, полученных нами из совместных растворов целлюлозы и хитозана в ортофосфорной кислоте путем их осаждения в осадительную ванну, состоящую из гидро- и дигидрофосфатов калия, свидетельствуют о том, что композиционное волокно содержит хитозан в виде соли дигидрофосфата хитозония. Это позволяет предположить, что самозатухающие свойства таких волокон обусловлены гомогенным распределением компонентов друг в друге как низкой горючестью самого хитозана (КИ = 30,0 %), обусловленной выделением при его горении азота, так и образованием его не горючей и не вымываемой водой фосфорнокислой соли.

**Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о том, что совмещение целлюлозы с хитозаном в ортофосфорной кислоте позволяет получать композиционные волокна состава целлюлоза–хитозан с повышенной термостойкостью и КИ. Это придает волокнам, содержащим свыше 20 % хитозана, новое свойство самозатухания, а при 30 %-ном содержании хитозана – негорючести. Получение аналогичных смесевых составов целлюлозы с хитозаном путем механического смешения порошков полимеров или текстильного переплетения целлюлозных и хитозановых волокон и нитей в соотношении целлюлоза : хитозан = 80:20; 72:25 ; 70:30 и даже 50:50 не приводит к появлению у таких материалов самозатухающих свойств. Они остаются легкогорючими.

Самозатухаемость целлюлозно-хитозановых волокон открывает широкие возможности их применения в производстве огнезащитных материалов. Существующие сегодня самозатухающие синтетические ткани используются для получения верхней огнезащитной одежды. Такие ткани не пропускают влагу и воздух, и поэтому их не рекомендуют использовать для изготовления бельёвого трикотажа. В отличие от них новые целлюлозно-хитозановые волокна могут быть использованы для производства как нижнего, так и постельного белья. Они представляют большой интерес также при изготовлении тканей, трикотажных и нетканых полотен для одежды повышенной безопасности второго слоя, особенно для детей и подростков (например, школьной формы), обивки для мебели, штор и т. п.

**Благодарности.** Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № X20КИ-010).

**Acknowledgements.** This work has been done with the financial support of Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (grant No. X20КИ-010).

#### Список использованных источников

1. Large-scale additive manufacturing with bioinspired cellulosic materials / N. D. Sanandiya [et al.] // Sci. Rep. – 2018. – Vol. 8, N 1. p. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26985-2>
2. Strnad, S. Cellulose fibres functionalized by chitosan: characterization and application / S. Strnad, O. Šauperl, L. Fras-Zemljič // Biopolymers / ed. by M. Elnashar – London, UK: InTechOpen, 2010. – P. 181–200. <https://doi.org/10.5772/10262>

3. Biologically active fibers based on chitosan-coated lyocell fibers / S. Janjic [et al.] // *Carbohydrate Polymers*. – 2009 – Vol. 78, N 2. – P. 240–246. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.03.033>
4. Dutta, P. K. Chitin and chitosan for versatile applications / P. K. Dutta, M. N. Ravikumar, J. Dutta // *J. Macromol. Sci., Part C: Polymer Review*. – 2002. – Vol. 42. – P. 307–354. <https://doi.org/10.1081/mc-120006451>
5. Shih, C. M. Preparation and characterization of cellulose/chitosan blend films // C. M. Shih, Y. T. Shieh, Y. K. Twu // *Carbohydrate Polymers*. – 2009. – Vol. 78. – P. 169–174. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.04.031>
6. Polysaccharide Blend Fibres Formed from NaOH, N-Methylmorpholine-N-oxide and 1-Ethyl-3-methylimidazolium acetate / F. Wendler [et al.] // *Fibres and Textiles in Eastern Europe*. – 2010. – Vol. 18, N 2. – P. 21–30.
7. Novel materials based on chitosan and cellulose / S. C. Fernandes [et al.] // *Polym. Intern.* – 2011. – Vol. 60, N 6. – P. 875–882. <https://doi.org/10.1002/pi.3024>
8. Biodegradable and sustainable fibres / ed. by R. S. Blackburn. – Boca Raton: CRS Press. 2005. – 414 p. <https://doi.org/10.1533/9781845690991>
9. Parmar, M. S. Comparative Study on Dyeing Behavior of Crabyon and Viscose Rayon Fibres / M. S. Parmar, N. Sisodea, N. Sonee // *Int. J. Eng. Res, Techn.* – 2013 – Vol. 2, N 12. – P. 2338–2331.
10. Получение гидратцеллюлозных волокон из растворов целлюлозы в ортофосфорной кислоте / Д. Д. Гриншпан [и др.] // *Вес. Нац. акад. навук. Беларусі. Сер. хім. навук.* – 2014. – № 2. – С. 115–118.
11. Способ получения формованного целлюлозного материала: патент ЕА № 026035 / Д. Д. Гриншпан, Т. А. Савицкая, А. Н. Гончар, Н. Г. Цыганкова, С. В. Макаревич, В. И. Вовк. – Опубл. 28.02.2017.
12. Способ получения формованных изделий из растворов целлюлозы и ее смесей с хитозаном; авторы: патент ЕА № 029929 / Д. Д. Гриншпан, Т. А. Савицкая, Н. Г. Цыганкова, С. В. Макаревич, Г. Ф. Серебряков, В. В. Костюкевич. – Опубл. 28.02.2017.
13. Schwenker, R. Study of the pyrolytic decomposition of cellulose by gas chromatography / R. Schwenker, L. R. Beck Jr. // *J. Polymer Sci. Part C*. – 1963. – Vol. 1, N 2. – P. 331–340. <https://doi.org/10.1002/polc.5070020133>
14. Самозатухающий материал на основе целлюлозы и способ его получения; авторы: патент ЕА № 028893 / Д. Д. Гриншпан, Т. А. Савицкая, А. Н. Гончар, Н. Г. Цыганкова, С. В. Макаревич, В. И. Вовк. – Опубл. 31.01.2018.

## References

1. Sanandiya N. D. Large-scale additive manufacturing with bioinspired cellulosic materials. *Scientific Reports*. 2018, vol. 8, no. 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26985-2>
2. Strnad S., Šaupert O., Fras-Zemljč L. Cellulose fibres functionalized. *Biopolymers*. London, UK: InTechOpen, 2010, pp. 181–200. <https://doi.org/10.5772/10262>
3. Janjic S., Kostic M., Vucinic V., Dimitrijtovic S., Popovic K., Ristic M., Srundric P. Biologically active fibers based on chitosan-coated lyocell fibers. *Carbohydrate Polymers*. 2009, vol. 78, no. 2. pp. 240–246. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.03.033>
4. Dutta P. K., Ravikumar M. N. V., Dutta J. Chitin and chitosan for versatile applications. *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, 2002, vol. 42, pp. 307–354. <https://doi.org/10.1081/mc-120006451>
5. Shih C. M., Shieh Y. T., Twu Y. K. Preparation and characterization of cellulose/chitosan blend films. *Carbohydrate Polymers*, 2009, vol. 78, pp. 169–174. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.04.031>
6. Wendler F., Meister F., Wawro D., Wesolowska E., Ciechanska D., Saake B., Puls J., Le Moigne N., Navard P. Polysaccharide Blend Fibres Formed from NaOH, N-Methylmorpholine-N-oxide and 1-Ethyl-3-methylimidazolium acetate. *Fibres and Textiles in Eastern Europe*, 2010, vol. 18, no. 2, pp. 21–30.
7. Fernandes S. C., Freire C. S. R., Silvestre A. J. D., Neto C. P., Gandini A. Novel materials based on chitosan and cellulose. *Polymer International*, 2011, vol. 60, no. 6, pp. 875–882. <https://doi.org/10.1002/pi.3024>
8. Blackburn R. S. *Biodegradable and sustainable fibres*. Boca Raton: CRS Press, 2005. 414 p. <https://doi.org/10.1533/9781845690991>
9. Parmar M. S., Sisodea N., Sonee N. Comparative Study on Dyeing Behavior of Crabyon and Viscose Rayon Fibres. *International Journal of Engineering Research and Technology*, 2013, vol. 2, no. 12, pp. 2338–2331.
10. Hrynshpan D. D., Gonchar A. N., Savitskaya T. A., Tsygankova N. G., Makarevich S. E. Regenerated cellulose fiber production from cellulose solutions in orthophosphoric acid. *Vesti Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*, 2014, no. 2, pp. 115–118 (in Russian).
11. Grinshpan D. D., Savitskaya T. A., Gonchar A. N., Tsygankova N. G., Makarevich S. V., Vovk V. I. *A method of obtaining a molded cellulosic material*. Patent EA no. 026035. Publ. date 28 February 2017 (in Russian).
12. Grinshpan D. D., Savitskaya T. A., Tsygankova N. G., Makarevich S. V., Serebryakov G. F., Kostyukevich V. V. *A method of obtaining molded products from solutions of cellulose and its mixtures with chitosan*. Patent EA no. 029929. Publ. date 28 February 2017 (in Russian).
13. Schwenker R., L. R. Beck Jr. Study of the pyrolytic decomposition of cellulose by gas chromatography. *Journal Polymer Science. Part C*, 1963, vol. 1, no. 2. pp. 331–340. <https://doi.org/10.1002/polc.5070020133>
14. Grinshpan D. D., Savitskaya T. A., Gonchar A. N., Tsygankova N. G., Makarevich S. V., Vovk V. I. *Cellulose-based self-extinguishing material and method for producing it*. Patent EA no. 028893. Publ. Date 31 January 2018 (in Russian).

### Информация об авторах

*Савицкая Татьяна Александровна* – канд. хим. наук, доцент, профессор. Белорусский государственный университет (ул. Ленинградская, 14, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: savitskayaTA@bsu.by

*Цыганкова Надежда Георгиевна* – канд. хим. наук, вед. науч. сотрудник. Научно-исследовательский институт физико-химических проблем Белорусского государственного университета (ул. Ленинградская, 14, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: ng-tsyg@mail.ru

*Макаревич Светлана Евгеньевна* – ст. науч. сотрудник. Научно-исследовательский институт физико-химических проблем Белорусского государственного университета (ул. Ленинградская, 14, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: grinshpan@bsu.by

*Гриншпан Дмитрий Давидович* – д-р хим. наук, профессор, зав. лаб. Научно-исследовательский институт физико-химических проблем Белорусского государственного университета (ул. Ленинградская, 14, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: grinshpan@bsu.by

*Ивашкевич Олег Анатольевич* – академик, д-р хим. наук, гл. науч. сотрудник. Научно-исследовательский институт физико-химических проблем Белорусского государственного университета (ул. Ленинградская, 14, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: ivashkevichO@bsu.by

### Information about the authors

*Tatsiana A. Savitskaya* – Ph. D. (Chemistry), Associate Professor. Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: savitskayaTA@bsu.by

*Nadzeia G. Tsyhankova* – Ph. D. (Chemistry), Leading Researcher. Research Institute for Physical Chemical Problems, Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ng-tsyg@mail.ru

*Svetlana E. Makarevich* – Senior Researcher. Research Institute for Physical Chemical Problems, Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: grinshpan@bsu.by

*Dzmitry D. Hrynshpan* – D. Sc. (Chemistry), Professor, Head of the Laboratory. Research Institute for Physical Chemical Problems, Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: grinshpan@bsu.by

*Oleg A. Ivashkevich* – Academician, D. Sc. (Chemistry), Chief Researcher. Research Institute for Physical Chemical Problems, Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ivashkevichO@bsu.by

**ТЭХНІЧНАЯ ХІМІЯ І ХІМІЧНАЯ ТЭХНАЛОГІЯ**  
**TECHNICAL CHEMISTRY AND CHEMICAL ENGINEERING**

УДК 678.643.42.5:667.6:620.18  
<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-482-493>

Поступила в редакцию 18.07.2020  
Received 18.07.2020

**В. Д. Кошевар, В. Г. Шкадрецова, Д. А. Бусел**

*Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь*

**КОМПЛЕКСНОЕ АНТИКОРРОЗИОННОЕ ПОКРЫТИЕ НА ОСНОВЕ  
ВОДНО-ДИСПЕРСИОННЫХ ГРУНТОВКИ И ЛАКА  
ДЛЯ ЗАЩИТЫ МЕТАЛЛОПРОДУКЦИИ**

**Аннотация.** Установлены закономерности изменения физико-химических свойств композиций и получаемых покрытий антикоррозионного грунта от качественного и количественного содержания входящих в их состав ингредиентов. Показано, что наибольшее влияние на их параметры оказывают химическая природа и концентрация полимерных пленкообразователей, пигментов, наполнителей и малых функциональных добавок, в особенности имеющих наноразмерный уровень. Полученные закономерности и зависимости позволили осуществить экспериментально обоснованный подбор компонентов для состава грунтовки и разработать ее предварительную рецептуру, а проведенная оценка свойств композиции и покрытий на ее основе в результате испытаний изготовленного экспериментального образца позволила создать оптимальную ее рецептуру и выпустить в заводских условиях экспериментальную партию. Расширенные испытания этой партии указывают на полное соответствие ее физико-химических, технологических и эксплуатационных параметров техническому заданию. Проведены также экспериментальные исследования по изучению свойств водных дисперсий эпоксидных олигомеров и композиций на их основе, предполагаемых для включения в состав водно-дисперсионного эпоксидного лака. Осуществлен выбор ингредиентов для его изготовления. Так, в качестве пленкообразователя целесообразно использовать 60–70 %-ную водную дисперсию эпоксидного олигомера собственного запатентованного состава, содержащего необходимые поверхностно-активные агенты, а в качестве отвердителя к ней – коммерческий продукт TELALIT 180. Разработана технология нанесения комплексного покрытия с применением водно-дисперсионных, пожаробезопасных грунтовок и лака, продемонстрировавшего высокие противокоррозионные свойства при защите металлоконструкций, эксплуатируемых в условиях повышенной коррозионной опасности.

**Ключевые слова:** латексы, пигменты, наполнители, коалесценты, пеногасители, нанодобавки, диспергаторы, грунтовка, лак, комплексное покрытие, влагопоглощение, твердость, реология, устойчивость, адгезия

**Для цитирования.** Кошевар, В. Д. Комплексное антикоррозионное покрытие на основе водно-дисперсионных грунтовок и лака для защиты металлопродукции / В. Д. Кошевар, В. Г. Шкадрецова, Д. А. Бусел // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2020. – Т. 56, № 4. – С. 482–493. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-482-493>

**V. D. Koshevar, V. G. Shkadretsova, D. A. Busel**

*Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

**INTEGRATED ANTICORROSIVE COATING FOR THE PROTECTION OF METAL PRODUCTS BASED  
ON WATER-DISPERSION PRIMERS AND VARNISHES**

**Abstract.** The regularities of changes in the physicochemical properties of the compositions and the resulting coatings of anticorrosive soil from the qualitative and quantitative content of the ingredients included in them are established. It is shown that the chemical nature and concentration of polymer film-forming agents, pigments, fillers and small functional additives, especially those of a nanoscale level, have the great influence on their parameters. The obtained regularities and dependencies made it possible to experimentally justify the selection of components for the primer composition and to develop its preliminary formulation, and the evaluation of the properties of the composition and coatings based on it as a result of testing the manufactured experimental sample made it possible to create its optimal formulation and to produce an experimental batch in the factory. Extended tests of this batch indicate that its physicochemical, technological and operational parameters fully comply with the technical specifications. Experimental studies have also been carried out to study the properties

of aqueous dispersions of epoxy oligomers and compositions based on them, which are supposed to be included in the composition of water-dispersed epoxy varnish. The selection of ingredients for its manufacture has been done. So, it was advisable to use a 60–70 % aqueous dispersion of an epoxy oligomer of our own patented composition containing the necessary surface-active agents as a film-forming agent, and the commercial product TELALIT 180 as a hardener for it was developed. A technology for applying a complex coating using water-based dispersion, fireproof primers and varnishes, which showed high anticorrosive properties in the protection of metal structures operating in conditions of increased corrosion real danger, has been developed.

**Keywords:** latexes, pigments, fillers, coalescents, defoamers, nanoparticles, dispersants, primer, varnish, complex coating, moisture absorption, hardness, rheology, stability, adhesion

**For citation.** Koshevar V. D., Shkadretsova V. G., Busel D. A. Integrated anticorrosive coating for the protection of metal products based on water-dispersion primers and varnishes. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*, 2020, vol. 56, no. 4, pp. 482–493 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-482-493>

**Введение.** Из всех существующих способов антикоррозионной защиты металлов и металлоизделий на лакокрасочные покрытия (ЛКП) приходится более 60 %. ЛКП относительно дешевы, доступны, дают наибольшую возможность выбора, легко наносятся на поверхность и в ряде случаев достаточно длительное время сохраняют защитные функции. Однако производство и применение лакокрасочных материалов (ЛКМ) часто связано с использованием опасных и вредных для здоровья и окружающей среды химических веществ, поэтому одно из главных современных направлений развития лакокрасочной отрасли связано со снижением опасности ЛКМ (повышение их экологической полноценности за счет создания «зеленых» ЛКМ). При этом наибольший интерес представляют ЛКМ экологически чистых и экономически малозатратных технологий производства и применения (водно-дисперсионные или водоразбавляемые ЛКМ) [1, 2]. Их преимущество не вызывает сомнений в силу следующих причин: очень низкого содержания или полного отсутствия токсичных с резким запахом растворителей; малого времени отверждения покрытий при комнатных температурах; возможности применения для защиты любых конструкций, в том числе и внутри их (емкости, цистерны, труднопроветриваемые помещения) независимо от размеров и конфигурации как в условиях производства, так и непосредственно на монтажных и строительных площадках; возможности восстановления и ремонта сооружений, металлоконструкций, трубопроводов и т.п. непосредственно в процессе их эксплуатации; значительного снижения капитальных затрат на нанесение покрытий и сооружение вытяжного оборудования.

В связи с этим цель данной работы – разработка и исследование физико-химических и технологических свойств экологически полноценных и технически совершенных составов водно-дисперсионных грунтовки и финишного лака для формирования комплексного антикоррозионного покрытия с длительным сроком эксплуатации и пожаробезопасной, энергетически малозатратной технологии их изготовления и применения.

**Экспериментальная часть.** В работе использовали наиболее широко применяемые в качестве пленкообразующих систем для ЛКМ различного назначения водные дисперсии полимеров (латексы): акриловый (АК) марки «СНР 570» (СН-Polymer Оу, Финляндия); стирол-акриловый (СА) марки «Лакротэн Э-241» (ПКФ «Оргхимпром», Россия); стирол-бутадиеновый (СБ) латекс «Lipaton SB 5521» (Synthomer, Германия). Все латексы получены эмульсионной полимеризацией в присутствии анионоактивных ПАВ. Формулы мономерных звеньев латексов представлены в табл. 1, а их характеристики в табл. 2.

Таблица 1. Формулы мономерных звеньев используемых латексов

Table 1. Formulas of monomeric links of used latexes

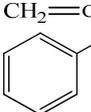
Наименованиепоказателя	Вид латекса		
	акриловый	стирол-акриловый	стирол-бутадиеновый
Формулы мономерных звеньев	$\text{CH}_2=\text{CH}-\text{COOH}$	$\text{CH}_2=\text{CH}-\text{COOH}$ 	 $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$

Таблица 2. Физико-химические параметры латексов

Table 2. Physicochemical parameters of latexes

Наименование показателя	Марка латекса		
	СНР 570	SB 5521	Лакротэн Э-241
Плотность, г/см <sup>3</sup>	1,03	1,01	1,01
Содержание сухих веществ, %	46,0	50,0	40,2
pH	8,0±0,5	8,5±0,5	8,0±0,5
Минимальная температура пленкообразования, °С	21	0	–
Средний размер частиц, мкм	0,08	0,20	0,10

Объектами исследования также были выбраны: пигменты, наполнители (каолин марки П-2, ГОСТ 21285-75); микрослюда фракционированная марки МС-05-80, ТУ 5725-005-40705684, ЗАО «Геоком»; моногидрат метабората бария, ТУ 113-07-014-91 – все производства России; пигмент железоксидный (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) марки MICRONOX черный ВК03; пигмент железоксидный коричневый (гематит) марки MICRONOX BR-01 – производства Испании. Некоторые свойства минеральных порошков приведены в табл. 3.

Таблица 3. Физико-химические характеристики минеральных порошков

Table 3. Physicochemical characteristics of mineral powders

Наименование	Минеральный порошок				
	каолин	пигмент черный	пигмент коричневый	слюда	борат бария
Химическая формула	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ·2SiO <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> (магнетит)	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (гематит)	K <sub>2</sub> O·2Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ·6SiO <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	Ba(BO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O
Форма частиц	Пластина	Сфера	Пластина	Пластина	Сфера
Плотность, г/см <sup>3</sup>	2,58	–	5,10	2,82	3,30
pH 10 %-ной водной вытяжки	8,1	7,9	8,8	8,4	9,2
Средний радиус частиц (0,5 % суспензия), мкм	5,0	3,0	3,0	2,5	6,0

При разработке рецептур антикоррозионной грунтовки и лака применяли диспергаторы, смачиватели анионные и неионогенные, коалесценты, основные показатели которых приведены в табл. 4, 5.

Таблица 4. Физико-химические характеристики диспергаторов

Table 4. Physicochemical characteristics of dispersants

Наименование показателя	Диспергатор			
	оротан 731	оротан 4045	лакротэн В-2	неонол АФ-9
Плотность, г/см <sup>3</sup>	1,10	1,31	1,06	1,04
pH	9,5	11,0	9,6	7,0
Содержание активных веществ, %	25	34	40	100
Активное вещество	Натриевая соль карбоксилата	Соль поликарбоновой кислоты	Натриевая соль полиакрилата	Оксиэтилированный нонилфенол
Тип	Анионный	Анионный	Анионный	Неионогенный

Пигментированные композиции получали методом механического диспергирования неорганических порошков в дисперсионной среде в присутствии соответствующих функциональных добавок на лабораторной установке ЛДУ ЗМПР (Россия) в режиме бисерной мельницы (мельющие тела – стеклянные шарики Ø4 мм) при скорости 700 об/мин в течение 30 мин. Температура диспергирования – (20 ± 2) °С. Необходимые реологические добавки вводили в пигментированные составы на этой же установке, но работающей в режиме диссольтера при скорости 700–1000 об/мин.

Т а б л и ц а 5. Физико-химические свойства коалесцентов

Table 5. Physicochemical properties of coalescents

Торговое название	Химическое соединение	Химическая формула	Молекулярная масса, г/моль	Растворимость в воде, мас. %	$T_{\text{кип}}, ^\circ\text{C}$
Dovanol PnB	<i>n</i> -Бутиловый эфир пропиленгликоля	$\text{C}_7\text{H}_{16}\text{O}_2$	132,2	5,5	171
Dovanol DPnB	Моно <i>n</i> -бутиловый эфир дипропиленгликоля	$\text{C}_{10}\text{H}_{22}\text{O}_3$	190,3	4,5	229
Dalpad Filmer	Смесь бутилового эфира трипропиленгликоля и бутилового эфира тетрапропиленгликоля	–	138,2	2,5	244
Nexcoat 795	Изомерическая смесь 2,2,4-триметил-1,3-пентадиол-моноизобутирата	–	–	0,9	254
Ucar Filmer IBT	2,2,4-Триметил-1,3-пентадиол-моноизобутират	$\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_3$	216	0,12	255

Определение гранулометрического состава композиций производили на автоматическом фотоседиментометре ФСХ-4 с программным обеспечением «Лабнаучприбор» (Россия). Теоретическую основу метода измерений на данном приборе составляет уравнение Стокса, определяющее зависимость установившейся скорости  $V$  гравиметрического осаждения частиц в вязкой среде от их диаметра:  $V = D^2 g (\rho - \rho_0) (18\eta)^{-1}$ , где  $V$  – скорость осаждения частиц;  $D$  – диаметр частиц;  $\eta$  – динамическая вязкость среды;  $g$  – ускорение свободного падения;  $\rho$  и  $\rho_0$  – плотность частиц дисперсной фазы и дисперсионной среды соответственно.

Динамическую вязкость систем определяли при температуре  $(20 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ , варьируя скорость и напряжение сдвига с применением реометра «Physika MCR 101» на воздушных подшипниках (Anton Paar, Австрия) с программным обеспечением «Rheoplus» при использовании системы пластина–пластина с зазором между пластинами 0,05 мм. Измерение производили в стационарном режиме в области скоростей деформации (сдвига)  $0,1\text{--}3000 \text{ c}^{-1}$ , охватывающей диапазоны механического воздействия, испытываемого системой при хранении (гравитационные силы), транспортировке  $(0,1\text{--}5,0) \text{ c}^{-1}$ , перемешивания в ламинарном режиме  $(10\text{--}300) \text{ c}^{-1}$ , нанесения различными методами  $(300\text{--}3000) \text{ c}^{-1}$ . Экспериментальным путем были получены кривые вязкости  $\eta = f(\tau_r)$  и течения  $D_r = f(P)$ , где  $\eta$  – эффективная вязкость, Па·с,  $D_r$  – скорость деформации,  $\text{c}^{-1}$ ;  $P$  – напряжение сдвига, Па.

Водопоглощение свободных пленок определяли по формуле  $W = 100(G_1 - G)/G$ , где  $G_1$  – масса набухшей пленки, г;  $G$  – первоначальная масса пленки, г. Степень отверждения пленок изучали по изменению содержания гель-фракции, которую определяли экстрагированием растворимой части свободных пленок водного эпоксидного лака заданного размера ацетоном в аппарате Сокслета в течение 24 ч.

Широко использовали следующие методы испытаний физико-химических и эксплуатационных ЛКМ: испытание на стойкость к статическому воздействию жидкостей методом погружения образцов (метод А) и выдерживанием в жидкостях в течение заданного времени [4]; определение адгезии методом решетчатых надрезов [5]; определение твердости покрытий [6]; метод определения степени перетира прибором «Клин» [7]; метод определения условной вязкости [8]; блеск покрытий определяли на приборе ФБ-2 под углом 45 град. [8]; стойкость покрытия к воздействию соляного тумана проводили согласно [9]; определение прочности при ударе по методике [10].

Для изучения процесса отверждения, определения твердости и водопоглощения изготавливали индивидуальные пленки по ГОСТ 14243-78 (метод 2) путем отделения слоя отвержденного материала от подложки, в качестве которой использовали листы полиэтилена толщиной 1 мм. Состав наносили в один слой аппликатором с глубиной щели 100 и 200 мкм. Пленки отделяли от подложки после отверждения в течение 7 сут при температуре  $20 ^\circ\text{C}$ . Толщина пленок, измеряемая магнитным толщиномером МТЦ-24-4, составляла 100–150 мкм. Комплексное покрытие на поверхность металла наносили кистью, окунанием или пневмораспылением под давлением воздуха 3–4 атм.

При разработке состава лака в качестве объектов исследования были выбраны 60–70 %-ная водная эпоксидная дисперсия собственной разработки, полученная обратным эмульгированием смолы ЭД-22 или ее аналогов с применением в качестве эмульгатора высокомолекулярного водорастворимого полимера в бутилдигликоле (ТУ ВУ 100029049/087-2015), а также различные промышленные сшивающие агенты (табл. 6).

Т а б л и ц а 6. Физико-химические свойства сшивающих агентов

Table 6. Physicochemical properties of crosslinking agents

Марка отвердителя	Химический состав	Внешний вид	Растворимость	Аминное число
ДТБ-2	Смесь аминоэфиров сложного состава	Невязкая окрашенная жидкость с характерным аминным запахом	Растворим в спиртах, воде и большинстве органических растворителей	–
Эпоксим -М	Олигомерные аминокамиды сложного состава	Вязкая бурая жидкость с характерным аминным запахом	Хорошо растворим в воде (без набухания) и в этаноле	300±20 мг КОН/г
EPILINK701	55 %-ный водный раствор полиаминоамида	Непрозрачная желтая жидкость	Хорошо растворим в воде	130–185 мг КОН/г
TELALIT-180	Растворимый в воде аддукт эпоксидной смолы в смеси с аминами	Вязкая прозрачная бурая жидкость	Хорошо растворим в воде	130–185 мг КОН/г

С применением этих веществ были получены составы отверждаемых лаков, изучены режимы отверждения и сформированы пленки и покрытия. Оптимальное объемное соотношение эпоксидная дисперсия:отвердитель в композициях составляла 1:1. Отверждение проводили при комнатной температуре в течение 2–7 сут и при 50 °С в течение 4 ч.

**Результаты и их обсуждение.** Известно, что уровень водопоглощения латексных пленок зависит от многих факторов, среди которых первоочередную роль играет химический состав полимера и их минимальная температура пленкообразования (МТП).

На рис. 1 представлена зависимость водопоглощения пленок, полученных с использованием исследуемых индивидуальных латексов, а на рис. 2 – некоторых латексов, содержащих коалесцирующую добавку при выдерживании их в воде и в 3 %-ном растворе NaCl. Из рис. 1 следует, что в начальный момент (после 24 ч выдержки в жидкостях) водопоглощение пленок латексов увеличивается в ряду СБ-СА-АК и составляет в воде 7, 38 и 75 % соответственно. После 10 сут воздействия воды пленки СБ латекса имеют наименьшее водопоглощение (40 %). Пленки СА дисперсий занимают промежуточное положение – 50 %. Водопоглощение АК-пленок достигает за это время 150 %.

Вводимый в латексы коалесцент с целью ускорения сушки и повышения качества покрытий может по-разному влиять на их водопоглощение, что хорошо подтверждается зависимостью, отображенной на рис. 2. В частности, добавка классического коалесцента Dovanol PnB увеличивает водопоглощение пленок СБ латекса и значительно снижает его для АК латекса.

Таким образом, проведенные исследования показали, что для каждого пленкообразователя на основе водной дисперсии полимера необходимо проводить отдельное тестирование на предмет влияние на него того или иного коалесцента. При этом следует ожидать, что введение других функциональных малых добавок в свою очередь также будет влиять на макросвойства грунтовок и покрытия, сформированных на ее основе.

Из рис. 1 следует также, что пленки акрилового латекса имеют наибольшее водопоглощение (150 %) и, казалось, использование его в качестве основного или единственного пленкообразователя в составе антикоррозионных грунтовок, по-видимому, будет нецелесообразным. Однако, с другой стороны, хорошо известно, что из всего многообразия представленных на рынке пленкообразователей АК латекс наиболее устойчив к механическому воздействию при диспергировании, особенно в режиме бисерной мельницы, а пленки и покрытия, полученные на его основе, обладают повышенной атмосферостойкостью. Это послужило причиной использования при разработке рецептуры грунтовки гибридного пленкообразователя СБ-АК в массовом соотношении 1:7.

Одним из важнейших свойств ЛКМ является его стабильность при хранении, что достигается введением эффективных диспергаторов. Плохое диспергирование пигментов в составах красок может привести к проблемам, связанным с низким качеством ЛКМ.

Диспергаторы выполняют несколько функций: они смачивают поверхность пигмента (замещают адсорбированные на их поверхности молекулы воздуха и других примесей), уменьшают

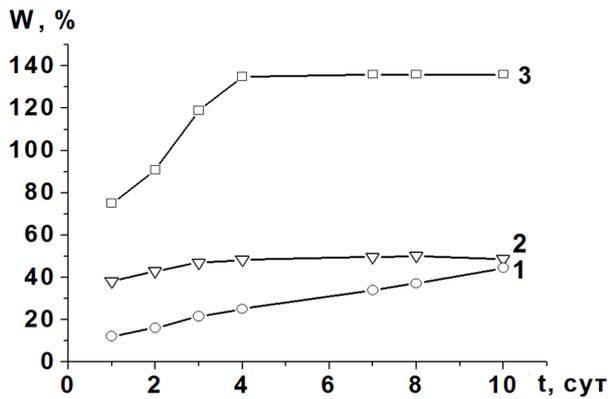


Рис. 1. Водопоглощение свободных пленок латексов:  
 1 – стирол-бутадиеновый (SB 5521);  
 2 – стирол-акриловый (Лакротэн Э-241);  
 3 – акриловый (SCR 570)

Fig. 1. Water absorption of free latex films:  
 1 – styrene butadiene (SB 5521); 2 – styrene acrylic (Lacroten E-241); 3 – acrylic (SCR 570)

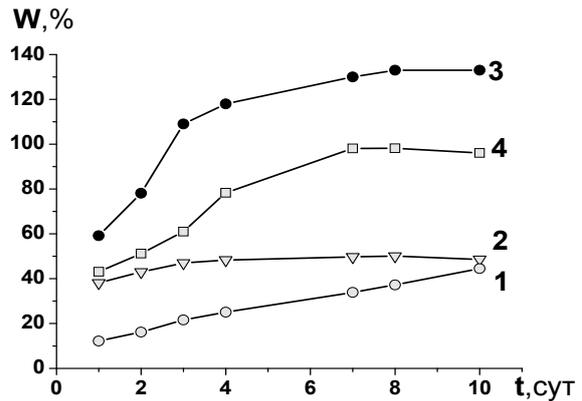


Рис. 2. Водопоглощение свободных латексных пленок и содержащих коалесцент: 1 – SB 5521; 2 – стирол-бутадиеновый SB 5521 с коалесцентом Dovanol PnB; 3 – АК СНР 570; 4 – акриловый СНР 570 с коалесцентом Dovanol PnB

Fig. 2. Water absorption of free and coalescent-containing latex films: 1 – SB 5521; 2 – styrene-butadiene SB 5521 with coalescent Dovanol PnB; 3 – AK СНР 570; 4 – acrylic СНР 570 with Dovanol PnB coalescent

размер частиц пигмента от которого зависит агрегативная и седиментационная устойчивость композиции. Из рис. 3 *a, b*, на котором приведены гранулометрические составы дисперсий магнетита, полученные без применения диспергатора и в его присутствии, видно, что данная добавка не только значительно снижает размер частиц пигмента, но и полидисперсность композиции.

Наряду с антикоррозионным пигментом, таким же важным ингредиентом в составе грунтовок является наполнитель с пластинчатой формой частиц. К таким наполнителям относятся слюда, каолин, тальк, гематит, железная слюда и др. Каждый из перечисленных наполнителей проявляет в составе защитного ЛКМ свои специфические свойства: тальк увеличивает пластичность и мягкость покрытий, каолин повышает химическую стойкость покрытия и стойкость к переменным температурам. Слюда используется для обеспечения специальных свойств композиций при длительной эксплуатации в присутствии влаги и агрессивных сред. Она оказывает резко выраженный упрочняющий эффект – придает наполненным материалам и покрытиям стойкость к деформационным воздействиям и знакопеременным нагрузкам, увеличивает диффузионный

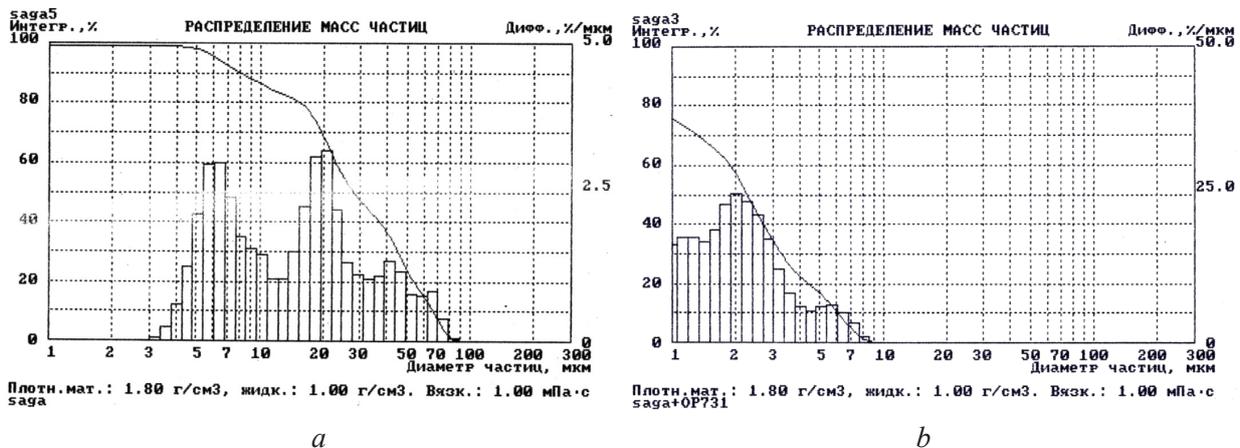


Рис. 3. Гранулометрический состав дисперсии окиси-закиси железа (магнетита) в воде: *a* – без диспергатора и *b* – в присутствии 0,6 мас.% диспергатора Оротан 731 А

Fig. 3. Granulometric composition of the dispersion of iron oxide (magnetite) in water: *a* – without a dispersant and *b* – in the presence of 0.6 wt % dispersant Orotan 731 A

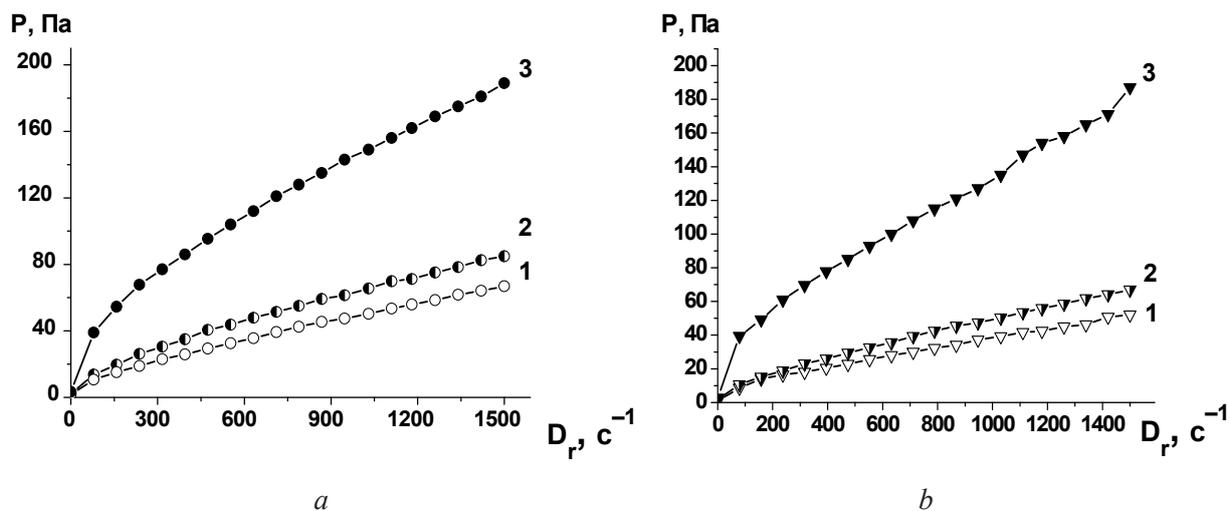


Рис. 4. Зависимость напряжения сдвига от скорости сдвига при различном содержании в гибридном пленкообразователе: *a* – слюды, об.%: 1 – 2, 2 – 2,5, 3 – 3; *b* – метабората бария, об.%: 1 – 2,1, 2 – 3,3, 3 – 4,5

Fig. 4. The dependence of shear stress on shear rate in hybrid film former with different contents of: *a* – mica, vol.%: 1 – 2, 2 – 2.5, 3 – 3; *b* – barium metaborate, vol.% : 1 – 2.1, 2 – 3.3, 3 – 4.5

барьер благодаря пластинчатой форме частиц. Слюда также является эффективной структурирующей добавкой, позволяющей стабилизировать устойчивость дисперсий и толщину получаемых покрытий.

Так, реологические исследования (рис. 4, *a*, *b*) показали, что дисперсии с содержанием слюды до 2 об.% имеют вид реологических кривых, близких к ньютоновским системам, а при ее увеличении до 3,0 об.% композиции приобретают выраженные вязкопластичные свойства со статическим пределом текучести ( $P_{к1}$ ) около 50 Па. Первые из них позволяют добиться изотропного разрушения агрегатов вводимых добавок пигментов и наполнителей, а вторые обеспечивают необходимое качество покрытий при нанесении их на вертикальные поверхности.

Отличительной особенностью антикоррозионных лакокрасочных композиций является обязательное использование в составе антикоррозионного пигмента. В качестве пигментов-ингибиторов находят применение фосфаты, молибдаты цинка и кальция, метаборат бария, хромат и плюмбат кальция, тетраоксихромат цинка. Недостаток хроматов – их токсичность, молибдатов – ограниченность в применении из-за дефицитности. Общим недостатком фосфатных пигментов является низкая эффективность на начальных стадиях развития подпленочного коррозионного процесса, которая связана с их невысокой водорастворимостью [11].

Метабораты отличаются от фосфатов повышенной водорастворимостью. В качестве солеобразующих металлов используют при получении метаборатов цинк [ $Zn(BO_2)_2 \cdot 2H_2O$ ], кальций [ $Ca(BO_2)_2 \cdot 3H_2O$ ], магний [ $Mg(BO_2)_2 \cdot 3H_2O$ ] и барий [ $Ba(BO_2)_2 \cdot H_2O$ ]. Метаборат бария является ингибитором анодного процесса и буферизирует раствор на границе металл–покрытие за счет некоторой его растворимости. Применение этого пигмента обеспечивает пассивирование поверхности металла в воде и образования защитной пленки под воздействием коррозионной среды. Также метаборат бария проявляет свойства тарного консерванта, что позволяет несколько упростить рецептуры ВД ЛКМ. Все это обусловило выбор данного соединения при разработке грунта для комплексного декоративно-защитного покрытия. Заметное влияние на реологические свойства используемого гибридного пленкообразователя может оказывать, как показали исследования, и содержание ингибитора коррозии метабората бария (рис. 4, *b*), поэтому в дальнейшем эти данные учитывались нами при разработке рецептуры антикоррозионной грунтовки. С целью подбора оптимального соотношения используемых для этих целей ингредиентов, исходя из полученных данных, были исследованы составы антикоррозионных композиций с применением гематита. Результаты исследований приведены в табл. 7.

Таблица 7. Составы и свойства гематитсодержащей водно-дисперсионной композиции

Table 7. Compositions and properties of a hematite-containing water-dispersion composition

Компонент	Состав композиций								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Латекс SB 5521	50	40	55	51	45	49	50	51	51
Латекс СНР 570	7,0	19,0	6,0	10,0	13,0	10,0	8,0	9,0	7,5
Гематит	12	12	12	8	14	8	13	11	7
Метаборат бария	8,5	8,0	9,0	10,0	6,0	8,0	9,0	5,0	10,0
Слюда	5,0	5,0	4,0	7,0	4,0	9,0	3,0	6,5	7,0
Нитрит натрия	0,20	0,40	0,40	0,60	0,50	0,40	1,20	0,40	0,60
Коалесцент	3,45	3,00	3,50	0,80	3,15	3,00	2,00	3,00	2,50
Пеногаситель	0,3	0,3	0,3	0,5	0,4	0,3	0,5	0,5	0,2
Уретановый загуститель	0,05	0,15	0,10	0,20	0,05	0,20	0,10	0,10	0,10
Вода	Остальное								
Свойства									
Вязкость по ВЗ-4 при (20±0,5) °С, с	45	78	60	87	42	78	62	67	65
Стойкость покрытия к статическому воздействию жидкостей, ч, не менее:									
воды	300	300	330	350	300	330	300	330	300
минерального масла,	120	120	96	120	120	96	120	120	120
3 %-ного раствора NaCl	96	96	96	120	96	96	96	120	96

Как следует из табл. 7, составы грунтовок, содержащие стирол-бутадиеновый SB 5521 и акриловый СНР 570 латексы, обладают высокой устойчивостью к статическому воздействию жидкостей. На основании анализа данных табл. 7 и визуальной оценки внешнего вида покрытий можно сделать следующие выводы: оптимальное количество метабората бария находится в пределах (8–9) мас.%. При содержании его ниже 8 мас.% ухудшается стойкость к статическому воздействию NaCl, а вводить выше 9 мас.% экономически нецелесообразно; оптимальное количество гематита – 11–15 мас.%. При содержании его менее 11 мас.% ухудшается укрывистость грунтовки, а при увеличении более 15 мас.% образуется дефект покрытия в виде пятен диаметром 1–2 мм.

Известно, что инновационные свойства обычным полимерным материалам и композициям на их основе (антибактериальные, самоочищающие) придают наполнители наноразмерного уровня. Возможной причиной такого действия добавки «Наносинтал» является упорядочение аморфной фазы полимера вокруг сольватированных наночастиц, вследствие чего происходит увеличение кристалличности пленкообразователя. Это обусловлено наличием активных ОН-групп на поверхности наночастиц оксида кремния. Интересным было выяснить, влияет ли присутствие наноразмерного SiO<sub>2</sub> на свойства грунтовочных композиций № 2–7 (состав в табл. 7) и образующихся с их применением покрытий. Результаты исследований композиции, содержащей наночастицы SiO<sub>2</sub>, представлены в табл. 8.

Как следует из табл. 8, присутствие нанодобавки в виде ее дисперсии в бутилацетате несколько снижает твердость покрытия при сохранении адгезии и стойкости к статическому воздействию жидкостей. Внешний вид грунтовки имеет более насыщенный цвет, но при хранении в полимерной таре композиция с течением времени приходит в негодность. Нанодобавка на водной основе, особенно при содержании ее 2,0 мас.%, оказывает положительное воздействие на свойства исследуемой композиции: повышается адгезия, стойкость к удару и статическому воздействию жидкостей.

На основании результатов проведенных исследований был установлен оптимальный состав антикоррозионной водно-дисперсионной грунтовки для создания комплексного декоративно-защитного покрытия. Свойства полученной грунтовки и соответствие их техническому заданию (ТЗ) приведены в табл. 9.

Т а б л и ц а 8. Составы и свойства водно-дисперсионной антикоррозионной композиции, содержащей нанодобавку «Синтал»

Table 8. Compositions and properties of a water-dispersion anticorrosive composition containing nanoparticle “Sintal”

Компонент	Состав грунтовки						
	0	2	3	4	5	6	7
Нанодобавка на водной основе	–	–	0,25	–	–	1,0	2,0
Нанодобавка на бутилацетате	–	0,25	–	1,0	2,0	–	–
Компонент	Свойства грунтовки						
	0	2	3	4	5	6	7
Вязкость по ВЗ-4, с	45	42	62	43	46	64	72
Адгезия, балл	5	1	1	3	5	1	1
Стойкость к удару*, 50 см	–	–	+	–	–	+	+
Твердость**, отн. ед.	0,54	0,57	0,59	0,48	0,48	0,44	0,32
Стойкость покрытия к статическому воздействию жидкостей, ч:							
воды	96	120	120	312	400	400	400
3 %-ного раствора NaCl	48	48	48	48	48	48	300

П р и м е ч а н и е. \* «+» – выдержало испытание; «–» – не выдержало испытание. \*\* Значения получены через 7 сут после нанесения покрытия.

Т а б л и ц а 9. Эксплуатационные параметры водно-дисперсионной грунтовки

Table 9. Operational parameters of the water-dispersion primer

Показатель	Метод испытания	Полученные в результате испытаний	Необходимые по ТЗ
Внешний вид, цвет	ГОСТ 9.407	Покрытие равномерное черного или красно-коричневого цвета	+
Степень перетира, не более, мкм	ГОСТ 6589	30	30–35
Условная вязкость, ВЗ-4, с	ГОСТ 8420	35	30–65
Время высыхания при 20 °С до степени 3, мин, не более	ГОСТ 9007	60	40–90
Адгезия покрытия к стали, балл, не более	ГОСТ 5140	1	1
Стойкость покрытия к статическому воздействию жидкостей, ч, не менее:	ГОСТ 9.403		
воды		400	300
3 %-ного раствора NaCl		300	120

П р и м е ч а н и е. «+» – соответствует ТЗ.

Таким образом, по основным показателям экспериментальный образец грунтовки соответствует ТЗ и может быть использован для создания комплексного декоративно-защитного покрытия «грунт–лак». С применением разработанной нами ранее водной дисперсии эпоксидного олигомера ЭД-22 и промышленных отвердителей были исследованы составы двухкомпонентных композиций для финишного лака комплексного покрытия, различные режимы их отверждения с формированием пленок и покрытий. Отверждение проводили при комнатной температуре в течение 2–7 сут и при 50 °С в течение 4 ч. Некоторые свойства покрытий демонстрируются в табл. 10.

Т а б л и ц а 10. Свойства покрытий, полученных при объемном соотношении дисперсия:отвердитель 1:1

Table 10. Properties of coatings obtained with a dispersion:hardener volume ratio of 1:1

Номер состава	Марка отвердителя	Степень отверждения при 20 °С, %	Степень отверждения при 50 °С, %	Твердость, отн.ед.		
				1 сут	7 сут	30 сут
1	TELALIT-180	86,47	93,77	0,34	0,64	0,74
2	Epilink 701	85,28	92,21	0,30	0,62	0,68
3	Эпоксим-М	81,55	90,30	–	0,47	0,58
4	ДТБ-2	82,55	91,30	–	0,13	0,17
5	Этал 110W	71,40	78,72	–	0,20	0,48

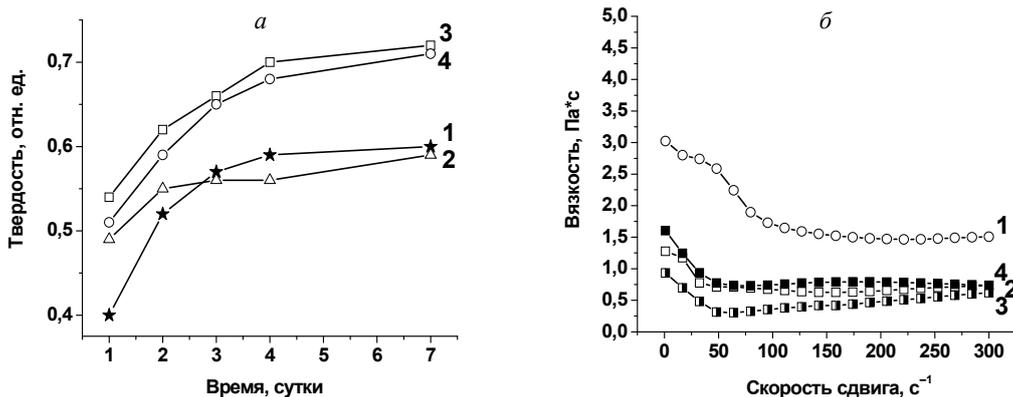


Рис. 5. *a* – изменение твердости покрытий во времени, *b* – зависимость вязкости от скорости сдвига композиций с различным содержанием коалесцента Dovanol PnB, мас.‰: 1 – без коалесцента; 2 – 2,0; 3 – 3,0; 4 – 5,0

Fig. 5. *a* – change in the hardness of coatings over time and *b* – dependence of viscosity on the shear rate of compositions with different Dovanol PnB coalescent contents, wt.‰: 1 – without coalescent; 2 – 2.0; 3 – 3.0; 4 – 5.0

Как видно из табл. 10 покрытия с отвердителями Эпоксим-М, ДТБ-2, Этал 110W (составы № 3, 4, 5) в течение суток не формируются до состояния потери липкости. Степень отверждения этих составов при комнатной температуре заметно ниже, чем составов № 1, 2 с отвердителями TELALIT-180 и Epilink 701. Покрытия составов № 3–5 формируются только при нагревании (степень отверждения при получении покрытия при 50 °С составляет 78,72–91,3 %). Для ускорения процесса образования трехмерной структуры полимера в состав дисперсий были введены коалесценты и исследовано влияние их содержания на динамическую вязкость композиции и твердость формирующихся в течение 7 сут покрытий. Установленные зависимости на примере действия коалесцента Dovanol PnB представлены на рис. 5.

Из рис. 5 следует, что введение Dovanol PnB в количестве до 3 мас.‰ повышает твердость пленок по сравнению с контрольным образцом, а затем при более высоком его содержании кривая выходит на плато (рис. 5, *a*). Кроме того, введение коалесцента благоприятно сказывается на реологии композиций (рис. 5, *b*), т. е. приближает характер ее течения к ньютоновским жидкостям, что дает возможность использовать их для нанесения покрытия различными способами (поливом, окунанием, кистью, распылением). Таким образом, наилучший результат был достигнут при введении в 70 %-ную дисперсию эпоксидной смолы собственного производства в качестве коалесцента *n*-бутилового эфира пропиленгликоля марки Dovanol PnB в количестве 3–4 %. При этом степень отверждения олигомера при комнатной температуре достигла 90,6 %, твердость пленки и покрытий – до 0,7, а водопоглощение пленок при выдержке в воде в течение 30 сут не превышала 3,9 %.

Проведенные испытания покрытий, полученных воздушным распылением композиции, содержащей Dovanol PnB, позволил обнаружить незначительные дефекты поверхности в виде микропузырей, которые удалось устранить введением пеногасителей и неионогенного поверхностно-активного смачивателя ОП-10. В частности, установлено совместное положительное влияние пеногасителей, представляющих собой водную эмульсию полиэфирсилоксанового сополимера марок TEGO Airex 902W, TEGO Foamex 825, ОП-10 на внешний вид лаковых покрытий с сохранением их физико-химических и эксплуатационных свойств. Все эти данные легли в основу разработанных ТУ 100029049.112-2017 «Лак водно-дисперсионный эпоксидный». Разработанный лак методом пневматического распыления наносили на загрунтованные с применением водно-дисперсионной наногрунтовки изделия из черных металлов методом «мокрый по мокрому», а сушку производили в естественных условиях при температуре окружающей среды не менее 20 °С. Оптимальная толщина комплексного декоративно-защитного покрытия, наносимого таким образом, составляла 100–120 мкм. В табл. 11 приведены его основные эксплуатационные характеристики, свидетельствующие о высоких защитных свойствах при воздействиях агрессивных коррозионных сред на изделия из черных металлов.

Т а б л и ц а 11. Свойства комплексного декоративно-защитного покрытия на поверхность стали (сталь 3)

Table 11. Properties of a comprehensive decorative-protective coating on a steel surface (Stal 3)

Измеряемые параметры	Значения
Адгезия покрытия к основанию, балл	0–1
Твердость покрытия по ТМЛ, не менее	0,6
Прочность при ударе при 20 °С, см, не менее	70
Блеск под углом 45°, %	60
Стойкость к машинному маслу, ч, не менее	1000
Стойкость к 3 %-ному раствору NaCl, ч, не менее	400
Устойчивость к солевому туману, ч, не менее	500
Стойкость к воздействию бензина, ч, не менее	300

**Выводы.** Разработанные антикоррозионные водно-дисперсионные наногрунтовка, эпоксидный лак и комплексное покрытие на их основе прошли успешные испытания при защите вала пено-съемника в загустителе Б 356-1 на 4-м рудопроизводстве ОАО «Беларуськалий», а также балок-держателей металлопродукции, подвергаемой горячему цинкованию. Новые ЛКМ рекомендованы также для применения на предприятиях министерства промышленности, нефтехимического комплекса и строительной индустрии.

#### Список использованных источников

1. Безукладникова, Л. Л. Разработка высококачественных антикоррозионных водно-дисперсионных материалов для защитно-декоративной окраски металлов / Л. Л. Безукладникова, С. Г. Митяшина // Практика противокоррозионной защиты. – 2011. – Т. 62, № 4. – С. 12–21.
2. Лобковский, В. П. Новые строительные лакокрасочные материалы на водной основе / В. П. Лобковский // Лакокрасочные материалы и их применение. – 2001. – № 2–3. – С. 56–58.
3. Шрамм, Г. Основы практической реологии и реометрии / Г. Шрамм. – М.: Колосс, 2003. – 312 с.
4. Покрытия лакокрасочные. Методы испытаний на стойкость к статическому воздействию жидкостей: ГОСТ 9.403.-80 ЕСЗКС. – Москва: Издательство Стандартов, 1980. – 7 с.
5. Материалы лакокрасочные. Методы определения адгезии: ГОСТ 15140-78. – Москва: Издательство Стандартов, 1978. – 13 с.
6. Материалы лакокрасочные. Метод определения твердости покрытий по маятниковому прибору ТМЛ 2124: ГОСТ 5233-89. – Москва: Издательство Стандартов, 1989. – 7 с.
7. Материалы лакокрасочные. Метод определения степени перетира прибором «Клин»: ГОСТ 6589-74. – Москва: Издательство Стандартов, 1987. – 7 с.
8. Материалы лакокрасочные. Методы определения условной вязкости: ГОСТ 8420-74. – Москва: Издательство Стандартов, 1974. – 7 с.
9. Покрытия лакокрасочные. Общие требования и методы ускоренных испытаний на стойкость к воздействию климатических факторов: ГОСТ 9.401-91 ЕСЗКС. – Москва: Стандартинформ, 2007. – 105 с.
10. Материалы лакокрасочные. Метод определения прочности при ударе: ГОСТ 4765-73. – Москва: Издательство Стандартов, 1973. – 8 с.
11. Wienand, H. Anorganische Korrosionsschutzpigmente-Uberblick und neuere Entwicklung / H. Wienand, W. Ostertag // Farbe und Lack. – 1982. – Bd. 88, N 3. – P. 183–188.

#### References

1. Bezukladnikova L. L., Mityashina S. G. Development of high-quality anticorrosive water-dispersion materials for protective and decorative painting of metals. *Praktika protivokorroziionnoi zashchity = Practice Corrosion Protection*, 2011, vol. 62, no. 4, pp. 12–21 (in Russian).
2. Lobkovskii V. P. New building water-based paint and varnish materials. *Lakokrasochnye materialy i ikh primeneniye = Russian coatings journal*, 2001, no. 2–3, pp. 56–58 (in Russian).
3. Schramm G. *Apractical approach to rheology and rheometry*. Moscow, Koloss Publ., 2003. 312 p. (in Russian).
4. GOST 9.403.-80 ESZKS. *Paint coatings. Test methods for resistance to static effects of liquids*. Moscow, Izdatel'stvo Standartov Publ., 1980. 7 p. (in Russian).
5. GOST 15140-78. *Paintwork materials. Methods for determining adhesion*. Moscow, Izdatel'stvo Standartov Publ., 1978. 13 p. (in Russian).
6. GOST 5233-89. *Paintwork materials. Method for determining the hardness of coatings by the pendulum device TML 2124*. Moscow, Izdatel'stvo Standartov Publ., 1989. 7 p. (in Russian).

7. GOST 6589. *Paintwork materials. The method of determining the degree of grinding by the device "Wedge"*. Moscow, Izdatel'stvo Standartov Publ., 1987. 7 p. (in Russian).
8. GOST 8420. *Paintwork materials. Methods for determining the conditional viscosity*. Moscow, Izdatel'stvo Standartov Publ., 1974. 7 p. (in Russian).
9. GOST 9.401-91. *ESZKS coatings. General requirements and methods of accelerated tests for resistance to climatic factors*. Moscow, Standartinform Publ., 2007. 105 p. (in Russian).
10. GOST 4765-73. *Paintwork materials. Method for determining impact strength*. Moscow, Izdatel'stvo Standartov Publ., 1973. 8 p. (in Russian).
11. Wienand H., Ostertag W. Anorganische Korrosionsschutzpigmente-Uberblick und neuere Entwicklung. *Farbe und Lack*, 1982, vol. 88, no. 3, pp. 183–188 (in German).

### Информация об авторах

*Косефар Василий Дмитриевич* – д-р хим. наук, профессор, зав. отделом. Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: koshevar@igic.bas-net.by

*Шкадрецова Валентина Георгиевна* – науч. сотрудник. Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: shvg@igic.bas-net.by

*Бусел Дмитрий Алексеевич* – науч. сотрудник. Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: dmitrybenator@gmail.com

### Information about the authors

*Vasily D. Koshevar* – D. Sc. (Chemistry), Professor, Head of the Department. Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: koshevar@igic.bas-net.by

*Valentina G. Shkadretsova* – Researcher. Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shvg@igic.bas-net.by

*Dmitry A. Busel* – Researcher. Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dmitrybenator@gmail.com

**АГЛЯДЫ**  
**REVIEWS**

УДК 577.152.3  
<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-494-512>

Поступила в редакцию 16.08.2020  
Received 16.08.2020

**Н. М. Литвинко**

*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь*

**МНОГОЦЕЛЕВЫЕ БИОРЕАКТОРЫ НА ОСНОВЕ ФОСФОЛИПОЛИЗА**

**Аннотация.** Представлен обзор основных экспериментальных результатов в области новых направлений (энзимотерапия и энзимодиагностика) практического использования ферментативного гидролиза фосфолипидов (фосфолиполиза), нарушение которого приводит к развитию ряда социально опасных заболеваний: онкологических, сердечно-сосудистых, инфекционных, воспалительных и т. д. Разработан ряд многоцелевых биореакторов на основе использования ферментов фосфолипаз  $A_2$  (ФЛА<sub>2</sub>), принимающих участие в фосфолиполизе: одноферментные нанореакторы ФЛА<sub>2</sub>-лиганд и сопряженные биферментные нанореакторы; ФЛА<sub>2</sub>-гемоглобин; ФЛА<sub>2</sub>-миоглобин; ФЛА<sub>2</sub>-цитохром P-450 (СУР2В4) и ФЛА<sub>2</sub>-цитохром P-450 (СУР3А4).

**Ключевые слова:** фосфолипаза  $A_2$ , фосфолиполиз, диагностические биосистемы

**Для цитирования.** Литвинко, Н. М. Многоцелевые биореакторы на основе фосфолиполиза / Н. М. Литвинко // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2020. – Т. 56, № 4. – С. 494–512. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-494-512>

**N. M. Litvinko**

*Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

**MULTI-PURPOSE BIOREACTORS BASED ON PHOSPHOLIPOLYSIS**

**Abstract.** Overview of the main experimental results in the field of new directions of phospholipolysis practical applications – enzyme therapy and diagnostics are presented. Phospholipases, which are enzymes that hydrolyze phospholipids, are known as markers of socially dangerous diseases: oncological, cardiovascular, infectious, inflammatory, etc. We proposed a number of diagnostic biosystems based on phosphatideacylhydrolases and hemoproteins: Phospholipase  $A_2$ -ligand, Phospholipase  $A_2$ -cytochrome P450, Phospholipase  $A_2$ -myoglobin, Phospholipase  $A_2$ -hemoglobin. The latter system was used to produce and implement for the first time in the clinical practice the diagnostic kit PLA<sub>2</sub>-PHOA for identifying patients with necrotic pancreatitis. The results of preclinical and clinical testing of the PLA<sub>2</sub>-PHOA kit for the detection of pancreatitis based on the determination of the activity of phospholipase  $A_2$  of blood are presented and discussed.

**Keywords:** phospholipase  $A_2$ , phospholipolysis, diagnostic biosystems

**For citation.** Litvinko N. M. Multi-purpose bioreactors based on phospholipolysis. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*, 2020, vol. 56, no. 4, pp. 494–512 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-4-494-512>

**Введение.** Фосфолиполиз или расщепление фосфолипидов в организме осуществляется гидролазами липидного метаболизма, относящимися к классу фосфолипаз, среди которых наиболее изучено суперсемейство фосфолипаз  $A_2$  (ФЛА<sub>2</sub>, КФ 3.1.1.4), включающих 16 таксономических типов [1–4]. Так, по имеющимся в настоящее время сведениям, геном человека кодирует более 30 (даже 50) ФЛА<sub>2</sub> или сходных по функции ферментов [5]. Фосфолипазы и продукты осуществляемых ими ферментативных процессов участвуют в многоэтапном каскаде биохимических реакций, имеющих большое значение в обеспечении жизнедеятельности организма и, в частности, отвечающих за передачу внешних сигналов на межклеточном уровне. ФЛА<sub>2</sub> – липолитический фермент, катализирующий гидролиз сложноэфирной связи во втором положении глицеринового скелета молекулы фосфолипидов, составляющих более 60 % клеточной мембраны.

Метаболические функции ФЛА<sub>2</sub> разнообразны: от участия в осуществлении барьера кожных покровов [6], переваривания фосфолипидов пищи, до генерации важнейших внутриклеточных мессенджеров, а также модуляции апоптоза при патологиях [5]. При воздействии ФЛА<sub>2</sub> на фосфолипиды клеточных мембран образуются биоактивные лизофосфолипиды и жирные кислоты, в том числе арахидоновая кислота, которая в дальнейшем превращается в мощные медиаторы биохимических процессов – простагландины (ПГ), лейкотриены и тромбоксаны. Простагландины увеличивают скорость тока крови и инфильтрацию лейкоцитов к очагам воспаления, чем способствуют развитию воспалительного процесса. Лизофосфолипид, образующийся при гидролизе фосфатидилхолинов под действием фосфолипазы А<sub>2</sub>, является предшественником фактора активации тромбоцитов – еще одного медиатора воспаления.

Значительное увеличение активности ФЛА<sub>2</sub> в органах и тканях происходит при многих заболеваниях, угрожающих жизни человека, – остром некротическом панкреатите, развитии воспалительных [7] и онкологических процессов, тромбообразовании, ишемии тканей, астмы и аллергии [8], язвенной болезни, отеках вследствие радиационного поражения и др. [9, 10]. Многие заболевания, например такие, как атеросклероз, диабет, ревматоидный артрит, инсульт, инфаркт миокарда, острые и хронические воспалительные процессы, характеризуются сочетанием перекисного окисления липидов с повышенной ферментативной активностью ФЛА<sub>2</sub> [11].

**1. Фосфолипазы А<sub>2</sub> и их взаимосвязь с воспалительными процессами, как основа клинико-диагностических методов.** Как известно, воспалительный процесс – это комплексный ответ организма на болезнетворное действие, включающий на фоне активации иммунной системы изменение проницаемости сосудов и накопление внеклеточной жидкости, содержащей широкий круг биоактивных компонентов, в том числе белков и пептидов острой фазы. Полагают, что активизирующиеся при воспалении клетки, в том числе нейтрофилы, моноциты и макрофаги, являются источником циркулирующей фосфолипазы А при непанкреатических заболеваниях.

Индикатором воспаления в клинической практике в настоящее время считается уровень С-реактивного белка (CRP) в крови больного. При многих патологических состояниях отмечается тесная корреляция между концентрацией фосфолипазы А<sub>2</sub> и уровнем CRP. Поэтому фосфолипазу А<sub>2</sub> также относят к белкам острой фазы. Хотя традиционное определение уровня CRP методически проще, определение фосфолипазной активности позволяет лучше понять патологические состояния и дать дополнительную информацию относительно прогноза различных нарушений [11]. Наибольший вклад в развитие и распространение воспалительных процессов в организме среди липолитических ферментов вносят низкомолекулярные секреторные фосфолипазы А<sub>2</sub> (типа ІВ, ІА и схожие с ними типы V, X) и высокомолекулярная липопротеин-ассоциированная фосфолипаза А<sub>2</sub> (ЛП-ФЛА<sub>2</sub>) [12].

Клиническое значение определения фосфолипазной активности в сыворотке крови больных и использование этих данных в прогностических целях для лечения пациентов интенсивной терапии обсуждается в работе [13].

В связи с этим ферменты суперсемейства ФЛА<sub>2</sub> используются как биомаркеры ряда заболеваний. Например, на сегодняшний день ЛП-ФЛА<sub>2</sub> рассматривается как важный сердечно-сосудистый маркер, независимый предиктор риска развития ишемической болезни сердца, ФЛА<sub>2</sub> типа ІВ – острого некротического панкреатита, а ФЛА<sub>2</sub> типа ІА предлагается как биомаркер множественных патологий, таких как сепсис, рак простаты, желудка и легких [14]. Ряд примеров использования фосфолипаз в медицине для диагностики представлен в таблице.

Из изложенного в таблице видно, что имеющиеся способы определения активности фосфолипаз А<sub>2</sub> в биологических объектах достаточно разнообразны. В них используют прямое определение продуктов реакции или опосредованное воздействие этих продуктов на специфические агенты, идентифицируемые с помощью титрования, флуорометрии, колориметрии и других физико-химических методов. Однако приведенные выше методы отличаются многостадийностью, разной степенью чувствительности, воспроизводимости, пригодности к определению фосфолипаз разной специфичности (А<sub>1</sub> и А<sub>2</sub>) в биологических жидкостях, а также имеют другие недостатки. В них используются неприродные синтетические субстраты, требующие трудозатратных сложных синтезов, ферментативный гидролиз которых отличается от нативного субстрата и не всегда адекватно отражает активность фосфолипаз.

**Применение фосфолипаз A<sub>2</sub> в медицине для диагностики**  
**Applications of phospholipases A<sub>2</sub> in medicine for diagnostics**

Фермент	Диагностика	Способ детекции	Источник
ФЛА в сыворотке крови	Вирусных гепатитов и подпеченочных желтух	Титриметрический (ацидометрический) метод-титрование жирных кислот щелочью	[15]
ФЛА <sub>2</sub> в синовиальной жидкости и в сыворотке крови	Воспалительных процессов	Спектрофотометрический метод с использованием окрашенных (хромофорных) субстратов	[16]
ФЛА <sub>2</sub> в бронхо-альвеолярной жидкости	Кистозного фиброза	Радиометрический метод	[17]
Цитозольная ФЛА <sub>2</sub> IV типа в сыворотке крови	Дисфункции клеточной сигнальной системы, психических заболеваний	Иммуноферментный анализ (ELISA), радиоиммунный, иммунолюминисцентный, иммунофлуоресцентный и иммунологический методы с элементами биосенсорной технологии	[18]
ФЛА <sub>2</sub> IB типа в сыворотке крови	Воспалительных процессов, в том числе панкреатита	Иммуноферментный анализ, флуориметрический и фотометрический метод с использованием хромофорного субстрата	[19–24]
ФЛА <sub>2</sub> IIА типа в сыворотке крови	Рака простаты и доброкачественной гиперплазии простаты	Радиоиммунный, иммуногистохимический, иммунохимический (ELISA) методы, метод гибридизации, анализ конкурентного связывания, Вестерн-блоттинг и др.	[25]
ФЛА <sub>2</sub> в биологическом объекте	Ревматоидного артрита	Уровень белка, активирующего фосфолипазу А	[26]
Общая активность iФЛА, iФЛАβ и цФЛА <sub>2</sub> в биологическом объекте	Онкозаболеваний гинекологической сферы, в том числе эпителиального рака яичников	Флуорометрический анализ	[27]
ФЛА <sub>2</sub> в спинномозговой жидкости	Состояния проницаемости гематоэнцефалического барьера	Флуорометрический анализ	[28]
Липопротеид-ассоциированная ФЛА <sub>2</sub> (ЛП-ФЛА <sub>2</sub> ), или ФАТ-гидролаза в крови	Риска развития инфарктов и инсультов	Колориметрический анализ	[29–32]
ЛП-ФЛА <sub>2</sub>	Риска развития инфарктов и инсультов	Иммунохимический метод с использованием гибридного иммунозахвата	[33]
ЛП-ФЛА <sub>2</sub>	Заболеваний коронарных артерий	Флуорометрический анализ	[34]
ЛП-ФЛА <sub>2</sub>	Спинально-опосредованных воспалительных процессов	Радиометрический метод – использование радиоактивно меченных синтетических фосфолипидов, содержащих <sup>14</sup> C либо <sup>3</sup> H-меченные жирные кислоты по sn-2 положению	[35]
ЛП-ФЛА <sub>2</sub>	Спинально-опосредованные воспалительные процессы	Позитрон-эмиссионная томография или компьютерная томография на основе эмиссии одиночного фотона	[36]

**2. Структурно-функциональные особенности фосфолипаз и их использование для прикладных исследований.** В лаборатории прикладной энзимологии Института биоорганической химии НАН Беларуси накоплен значительный потенциал в изучении важнейших практически значимых аспектов структурной химии 10 фосфолипаз разных классов (ФЛА<sub>2</sub> ядов трех змей и пчелы, панкреаса свиньи, человека; трех изоформ микробных ФЛС и D<sub>1</sub> – из капусты), а также в области их взаимодействия с ферментами стероидогенеза (CYP2B4 и CYP3A4) на основе углубленных исследований взаимосвязи структура–функция в условиях воздействия внутренних и внешних факторов на гидролиз фосфолипидов (фосфолиполиз) [37].

Фосфолипазы уникальные ферменты: они являются хорошо растворимыми в воде белками, а субстрат – гидрофобные фосфолипиды, образующие в воде супрамолекулярные комплексы – мицеллы, двухслойные и многослойные образования, так называемые липосомы или ламеллы (рис. 1). Поэтому у этих катализаторов, которые работают на поверхности раздела «липид–вода»

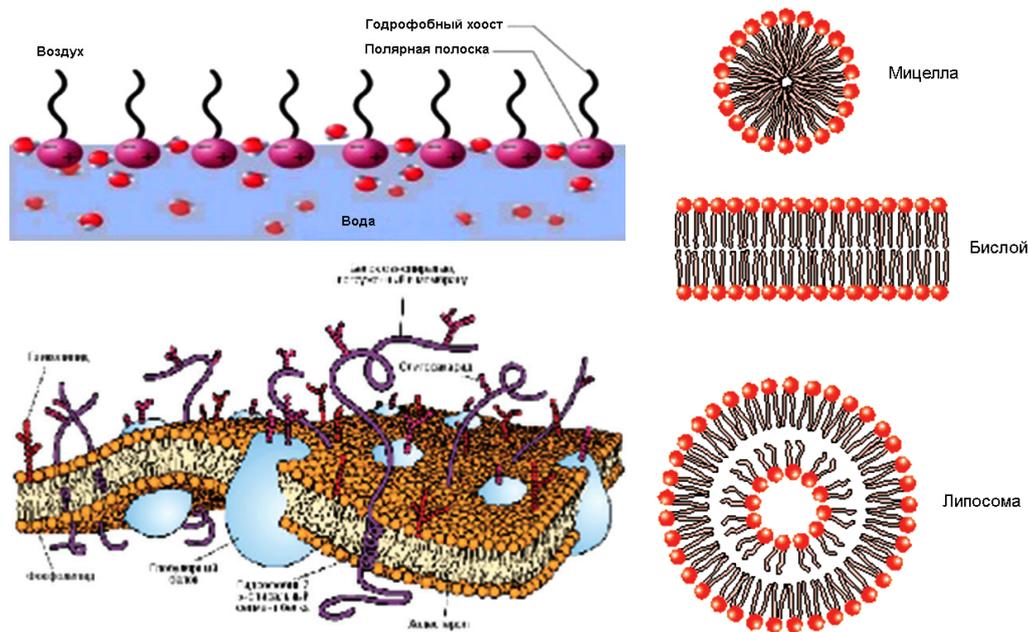


Рис. 1. Надмолекулярная структура субстрата фосфолипаз

Fig. 1. Supramolecular structure of the phospholipase substrate

и являются ферментами межфазного катализа, в отличие от других ферментов в молекуле, кроме традиционного каталитически активного центра, имеется дополнительный участок на поверхности глобулы для прикрепления к межфазной поверхности – сайт распознавания поверхности (СРП). Лимитирующей стадией в фосфолиполизе является стадия взаимодействия ФЛА<sub>2</sub> с поверхностью раздела фаз, т. е. с СРП.

Мы установили в структуре фосфолипаз новые, исключительно важные для катализа элементы и их свойства: анионный сайт в каталитическом центре фермента, более значимый для фосфолипаз С, чем для фосфолипаз А<sub>2</sub>; не только одинаковые участки на поверхности белка, отвечающие за взаимодействие с антителами, впервые полученными для фосфолипаз, но и наличие отличающихся областей на поверхности, которые и обуславливают разную специфичность одного типа фосфолипаз; сходство первичной структуры фосфолипаз и пептидаз, особенно в области активного центра, что позволило впервые отнести фосфолипазы к типу «сериновых катализаторов»; наличие белок-белкового взаимодействия между фосфолипазами и цитохромом Р450 как прямого, так и опосредованного при утилизации лекарственных средств [38]. При моделировании клеточной мембраны в виде протеолипосом установлено, что включение белков (интегральных, периферических, растворимых) в модельные мембраны модулирует фосфолиполиз, особенно в прибелковом слое.

Что касается функции, то нами установлено, что при взаимодействии фермента с субстратом роль химического строения субстрата второстепенна. На первый план при фосфолиполизе выходит супрамолекулярная организация субстрата. По степени ускорения химической реакции в зависимости от организации межфазной поверхности формы субстрата можно расположить следующим образом: одиночные молекулы, липосомы (в виде сэндвича), монослой на поверхности раздела липид–воздух, смешанные мицеллы с детергентами.

Количественно фосфолиполиз оценивается не одной константой Михаэлиса, характеризующей каталитический процесс у других ферментов, а также константой связывания фермента с поверхностью раздела «липид–вода» [39]. Их активность зависит от надмолекулярной структуры, заряда, физико-химического состояния (кристаллическое или жидкокристаллическое) и упаковки (цилиндрическая, гексагональная, конусообразная) фосфолипидов в межфазной поверхности. Например, с увеличением отрицательного заряда в составе мицеллярной межфазной поверхности начальная скорость панкреатической ФЛА<sub>2</sub> увеличивается в 2–2,5 раза [40]. Благодаря их

стерической и позиционной специфичности  $\Phi\text{LA}_2$  являются ценным инструментом в химии и биохимии липидов. Ферменты суперсемейства  $\Phi\text{LA}_2$  и  $\Phi\text{ЛС}$  используют для установления позиционного распределения жирных кислот при анализе фосфоглицеридов, для разделения рацемических смесей липидов, а также в синтезе липидов для получения фосфоглицеридов со смешанным составом жирных кислот [41].

Липолитические ферменты, как показано на примере 1,3-циклогександионов [40], обладают особым видом специфичности – поверхностной специфичностью, которая характеризует способность липолитического фермента присоединяться лишь к одной или нескольким организованным поверхностям раздела липид–вода и осуществлять предпочтительный гидролиз, т. е. с более высокими скоростями одного и того же липида в составе одной или нескольких супрамолекулярных формах организации субстрата (мономолекулы, супрамолекулярные агрегаты – мицеллы, ламеллы, липопротеиновые комплексы, цельные клеточные мембраны).

При этом обнаружено, что поверхностная специфичность фосфолипаз, строго соблюдаемая в обычных условиях, может кардинально изменяться под действием ксенобиотиков, например циклогександионов. А при изменении заряда межфазной поверхности субстрата фосфатидилинозитспецифичная фосфолипаза С (ФИ-ФЛС) теряет свою абсолютную специфичность – высший неизменяемый тип специфичности, известный для ферментов (рис. 2). Изменение организации молекул ФЛ от бислоя к мицелле, а также усиление отрицательного заряда мицеллы за счет дезоксихолата натрия (ДОХ) или замена на положительный в мицеллах с цетилтриметиламмоний бромидом (ЦТАБ) приводит к потере ФИ-ФЛС ее специфичности: хотя ФИ гидролизуются на том же уровне, происходит разрушение и других ФЛ [42].

Таким образом, полученные новые фундаментальные знания привели нас к развитию прикладных исследований в таких направлениях, как использование этих ферментов для обнаружения потенциальных, терапевтически важных соединений (энзимотерапия) и определение активности энзимов как маркеров патологических процессов (энзимодиагностика). В рамках первого направления решались следующие задачи: определение физиологической активности химических соединений; противоэнзимная устойчивость липосом как контейнеров для лекарств; установление безопасных доз антибиотиков. В рамках второго направления решаются такие задачи: диагностика панкреатита; контроль биобезопасности пестицидов; оценка антиоксидантного потенциала организма; вирулентность фосфолипаз.

Для обеспечения исследований в этих направлениях разработан ряд биокаталитических систем: одноферментные нанореакторы  $\Phi\text{LA}_2$ -лиганд и сопряженные биферментные нанореакторы;  $\Phi\text{LA}_2$ -гемоглобин [44–49];  $\Phi\text{LA}_2$ -миоглобин;  $\Phi\text{LA}_2$ -СУР2В4 и  $\Phi\text{LA}_2$ -СУР3А4 [50], ФЛ-миоглобин [51] (рис. 3).

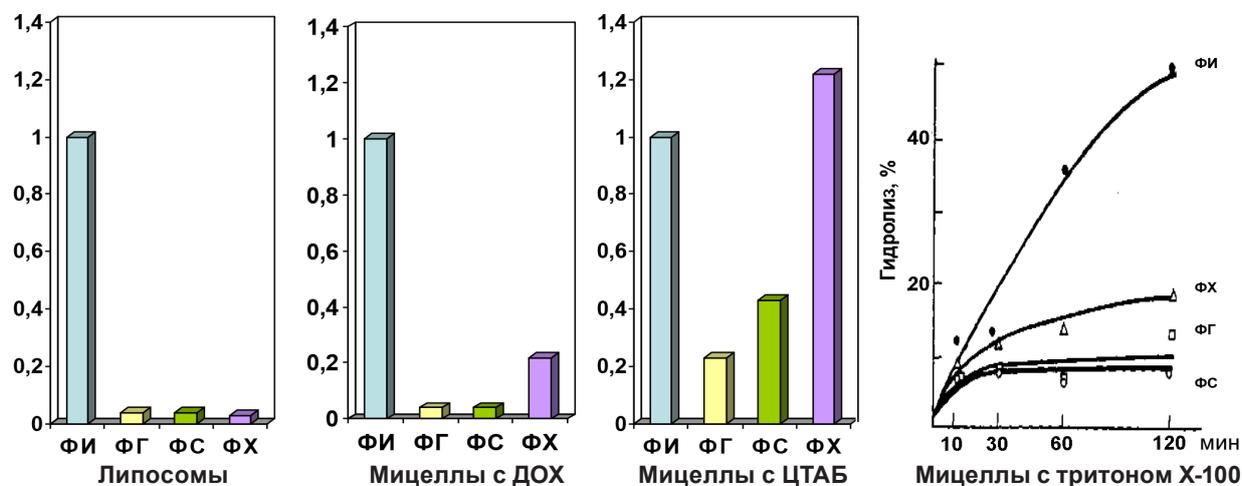


Рис. 2. Специфичность ФИ-ФЛС к глицерофосфолипидам в составе ламеллярной и мицеллярной межфазной поверхности разного заряда (за единицу принята скорость гидролиза ФИ) [42]

Fig. 2. Specificity of PI-PLC to glycerophospholipids in the composition of lamellar and micellar interfacial surfaces of different charges (the rate of PI hydrolysis is taken as a unit) [42]

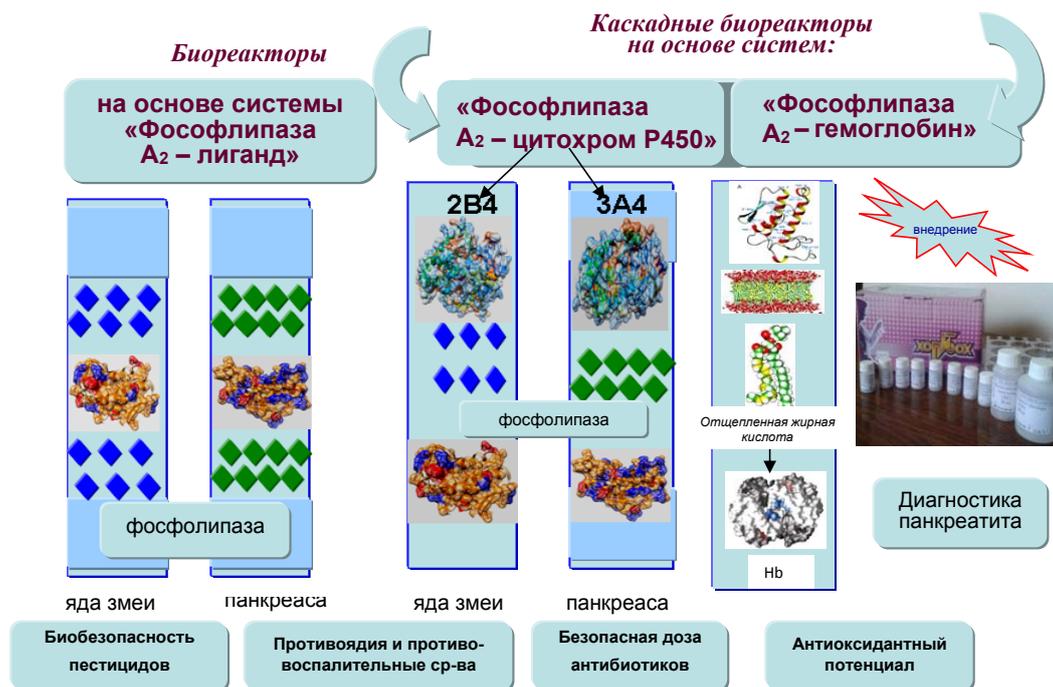


Рис. 3. Разработанные многоцелевые биореакторы на основе фосфолиполиза. Структуры белков взяты из Базы данных белков (PDB: PLA<sub>2</sub> (4g5i), Hb (3odq))

Fig. 3. Developed multipurpose bioreactors based on phospholipolysis. Protein structures are taken from the Protein Database (PDB: PLA<sub>2</sub> (4g5i), Hb (3odq))

**3. Одноферментные нанореакторы ФЛА<sub>2</sub>-лиганд.** Одним из распространенных современных методов изучения фермент-лигандных взаимодействий, в том числе и представителей семейства ФЛА<sub>2</sub>, является их оценка путем компьютерного моделирования (докинга) [52], которое впоследствии обязательно требует экспериментального подтверждения.

Участие внутриклеточных, секреторных и кальций-независимых ФЛА<sub>2</sub> (iФЛА<sub>2</sub>) в воспалительных процессах делает их привлекательными мишенями для разработки мощных и селективных ингибиторов [53, 54]. Для понимания связывания и взаимодействия ингибиторов внутриклеточных и кальций-независимых iФЛА<sub>2</sub> использовалось моделирование HD-XMS и молекулярной динамики [55]. Фторокетоновые ингибиторы были идентифицированы как мощные ингибиторы в 2010 г. [56]. Был обнаружен новый класс ингибиторов iФЛА<sub>2</sub>, который содержит гетероциклическое кольцо вместо фторметиловой группы [57]. Моделирование молекулярной динамики показало, что карбонильная группа ингибитора образует водородные связи с оксианионным отверстием (Gly486/Gly487) и гетероциклическим кольцом с Asp658 (рис. 4). Гидрофобный «хвост» ингибитора связывается в кармане, где обычно связывается *sn*-2 жирная кислота.

Вместе с тем фосфолипазы уже давно используются напрямую в эксперименте как индикаторы ингибиторов фосфолиполитических процессов. Так, описаны фармацевтические композиции для выявления специфических высокоэффективных ингибиторов ФЛА<sub>2</sub> [35–58] таких, как производное 2-оксоамида [24], дарапладиб [35] и другие ингибиторы [59]. В наших исследованиях, например, для выявления среди химических соединений потенциальных антипанкреатитных или антигемолитических средств в качестве индикаторов таких взаимодействий целенаправленно применялись фосфолипазы с учетом источников их получения (панкреатическая железа, яд змеи) и специфичности.

### 3.1. Определение физиологической активности химических соединений на фосфолиполиз.

Осуществлялся скрининг десятков тестируемых веществ, которые химически не связаны с субстратом ФЛА<sub>2</sub>, на их способность подавлять фосфолиполиз: сначала полуколичественным методом с использованием гель-диффузии ферментов в агарозный гель, содержащий эмульсию яичного желтка [60] или эритроциты [61]. Затем среди выявленных образцов с наиболее выраженным

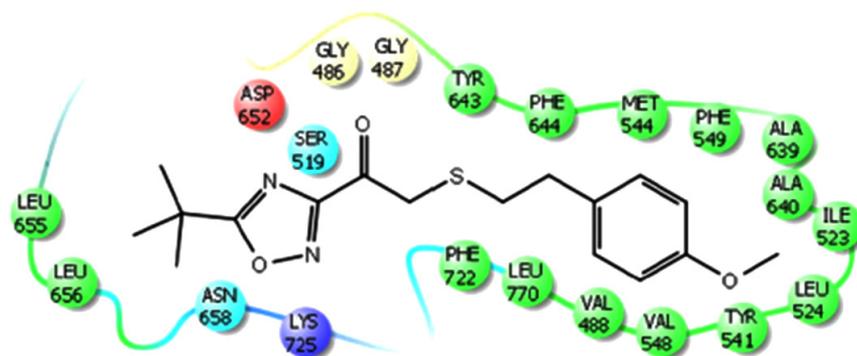


Рис. 4. Связывание ингибитора, содержащего гетероциклическое кольцо при взаимодействии с кальций-независимыми ФЛА<sub>2</sub> (iФЛА<sub>2</sub>) по [1]

Fig. 4. Binding of an inhibitor containing a heterocyclic ring under interacting with calcium-independent PLA2 (iPLA2) according to [1]

ингибирующим ферменты эффектом проводили углубленное изучение их действия количественно с помощью кинетики ферментативной реакции [62, 63].

В качестве лиганда выступали низкомолекулярные биорегуляторы: производные простагландинов [64], циклогександионов, нуклеозидов, лизолипидов [65], органических кислот и др. Среди них при внесении в реактор ФЛА<sub>2</sub> кобры путем установления эффекта ингибирования были выявлены соединения с антигемолитической активностью – потенциальные противоядия. При внесении ФЛА<sub>2</sub> поджелудочной железы – потенциальные противовоспалительные соединения с предполагаемыми антипанкреатитными свойствами [66] (рис. 5).

Благодаря ингибиторному анализу в процессе изучения действия различных низкомолекулярных биорегуляторов нами установлены конкретные механизмы катализа: прямой, опосредо-

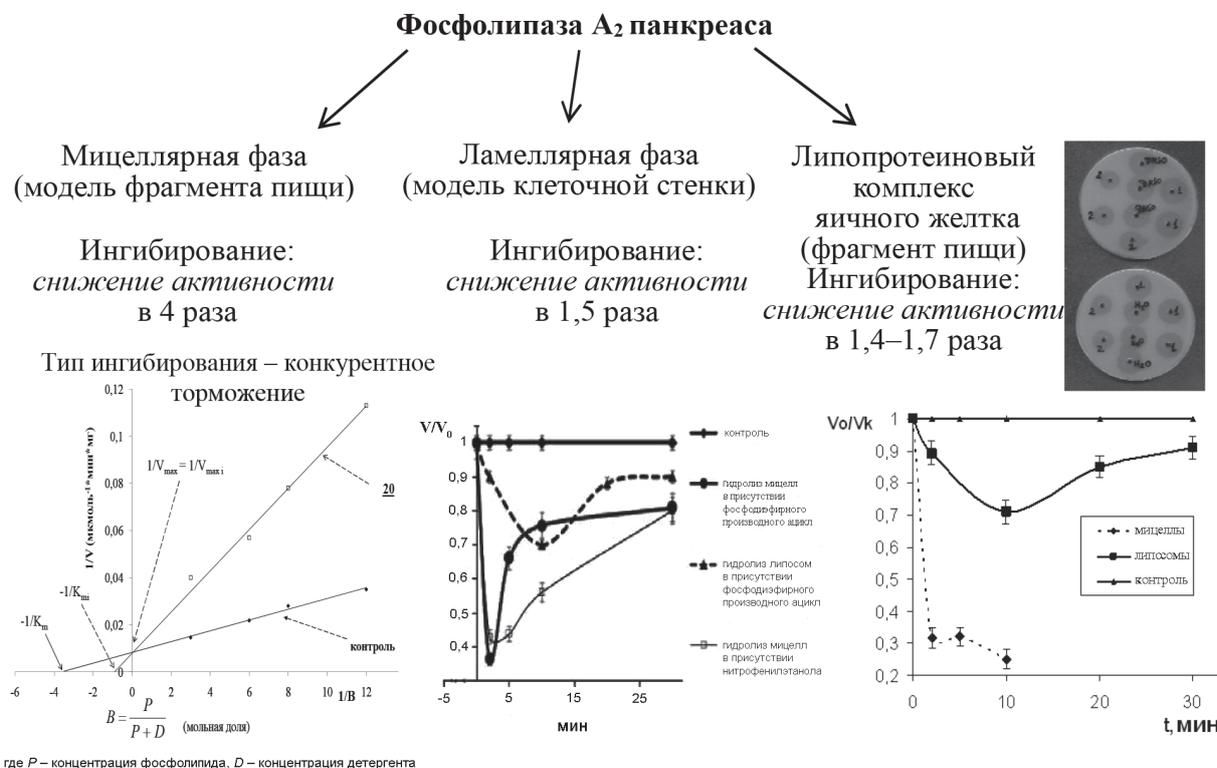


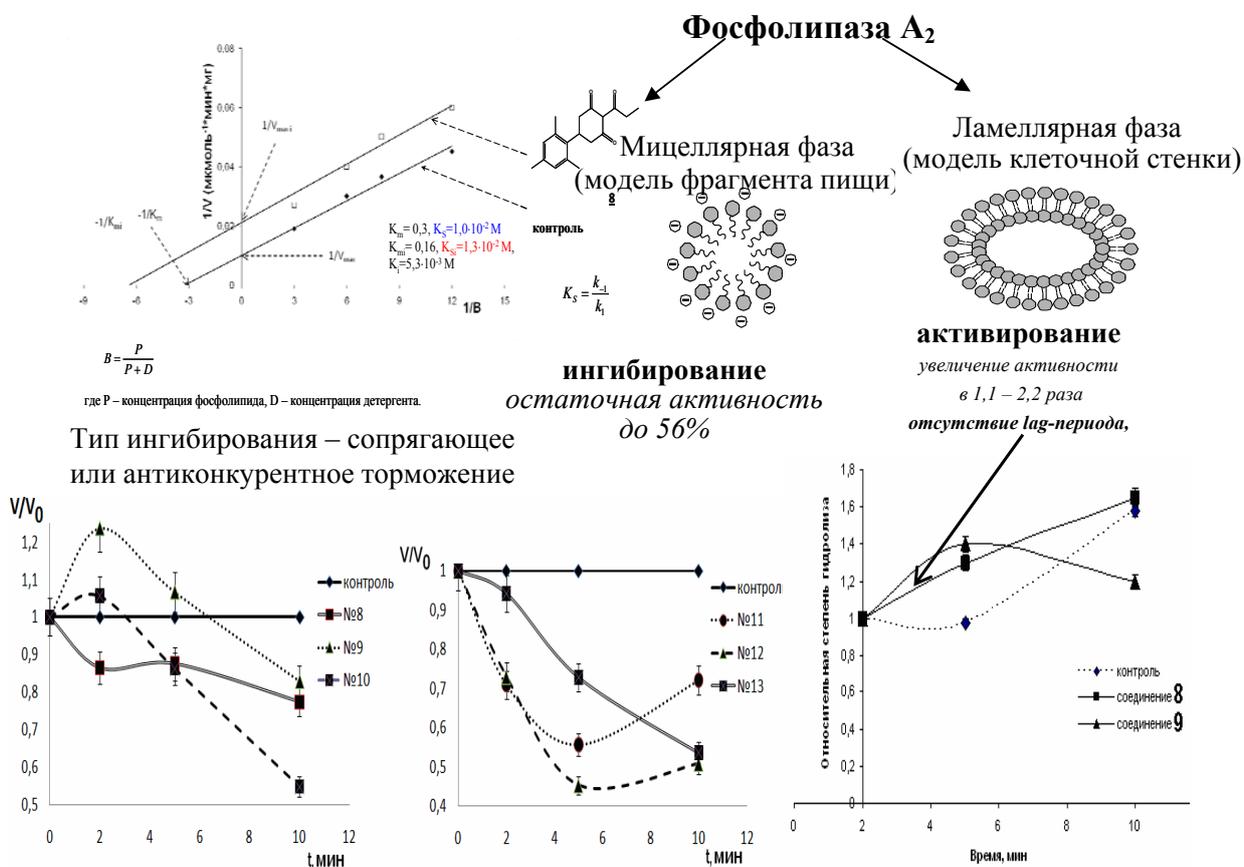
Рис. 5. Липолиз в присутствии фосфорорганических производных нуклеозидов как потенциальных антипанкреатитных средств [40]

Fig. 5. Phospholipolysis in the presence of organophosphorus derivatives of nucleosides as potential antipancreatitis agents [40]

ванной и обратной связи. Обнаружены неизвестные ранее ингибиторы фосфолиполиза среди амидов жирных кислот, 9-Ме, 10-Ме, 11-Ме аналогов простагландинов, производных тиотетровой кислоты, оксазола, 1-, 3-циклогександионов, фосфодиэфирных производных ацикловира и аденозина и др. [62, 63, 66].

**3.2. Контроль безопасности пестицидов.** На основе биореактора «ФЛА<sub>2</sub>-лиганд» предложена система контроля безопасности пестицидов для пищеварительной системы. Нами показано, что при внесении ряда производных 1,3-циклогександиона в биореактор «ФЛА<sub>2</sub>-лиганд» наблюдается снижение активности пищеварительного фермента панкреатической ФЛА<sub>2</sub> по отношению к одной форме организации субстрата (липосомы) и увеличение по отношению к другой (смешанные мицеллы с ДОХ) (рис. 6). Это в практическом плане очень важно, поскольку предполагает при экстраполяции на живой организм возможное ингибирование процесса фосфолиполиза при пищеварении (ФХ в мицеллярной фазе) и нежелательный гидролиз клеточных мембран кишечной стенки (ФХ в ламеллярной фазе).

На основе анализа полученных результатов в совокупности с литературными данными предложена схема (рис. 7) взаимодействия между ФЛА<sub>2</sub> и субстратом в мицеллярной и ламеллярной фазах при различном значении рН в присутствии эфффекторов на примере производных циклогександиона. Предположительно может идти конкуренция двух процессов: образование комплекса фермент–мицелла **1** в соответствии с моделью Денниса [40, 67, 68] и образование Шиффового основания **3** между кетогруппами циклогександиона и аминогруппами сайта распознавания поверхности (СРП) раздела фаз ФЛА<sub>2</sub>. Промежуточной стадией между двумя конкурирующими процессами является протонирование-депротонирование аминогрупп СРП раздела фаз **2**. Исходя из предложенной схемы, возможна регуляция смещения идущих процессов в ту или иную сторону при помощи рН.



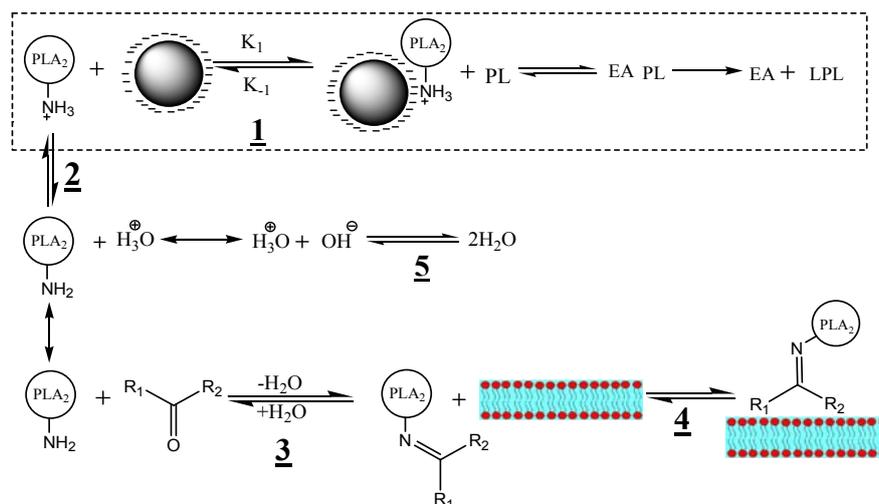


Рис. 7. Взаимодействие ФЛА<sub>2</sub> с субстратом в мицеллярной и ламеллярной фазах в присутствии производных 1,3 циклогександиона [40]

Fig. 7. Interaction of PLA<sub>2</sub> with substrate in micellar and lamellar phase in the presence of derivatives of 1,3 cyclohexandione [40]

При высоких концентрациях производных 1,3 циклогександиона (100 мкг/мл) наблюдаемое ингибирование фосфолиполиза в мицеллярной фазе, по нашему мнению, обусловлено смещением равновесия в направлении  $1 \rightarrow 2 \rightarrow 3$  с образованием Шиффовых оснований. В описанных взаимодействиях, согласно литературным данным, играют определенную роль аминогруппы сайта распознавания поверхности раздела фаз. Модификация гидрофильного СРП пестицидами, или другими соединениями (ацилирование) с приданием большей гидрофобности может изменять специфичность к надмолекулярной форме организации субстрата (равновесия  $1, 4$ ), что подтверждается нашими экспериментами. Показано, что реакции липолиза в присутствии пестицидов циклогександионового ряда регулируются при помощи pH (равновесие  $5$ ).

**3.3. Противознзимная устойчивость конъюгатов фосфолипидов с компонентами нуклеиновых кислот.** Конъюгаты фосфолипидов с компонентами нуклеиновых кислот, обладающих противовирусным или противоопухолевым действием, являются новыми лекарственными формами с пониженной токсичностью и повышенной биодоступностью. Однако появляется проблема сохранения их целостности в организме при доставке к органу мишени из-за наличия в пищеварительном тракте панкреатической ФЛА<sub>2</sub> с высокой активностью, которая может разрушить фосфолипидную составляющую конъюгата. Поэтому возникает необходимость тестирования таких конъюгатов, как возможных субстратов для ФЛА<sub>2</sub> панкреаса. Это направление исследований с использованием биореактора «ФЛА<sub>2</sub>-лиганд», предусматривающего химически связанный с субстратом лиганд, показало, что устойчивость к ферментативной деградации конъюгатов фосфолипидов с компонентами нуклеиновых кислот зависит от нуклеозидной составляющей [66].

Так, отсутствие фосфолиполиза в случае использования в качестве фосфолипазного субстрата в виде липосом конъюгата фосфатидилэтаноламина с модифицированным нуклеозидом позволило нам предложить его в качестве средства с потенциальной биологической активностью, повышающего устойчивость к действию панкреатической фосфолипазы А<sub>2</sub> [69]. Обнаружено, что липоконъюгат мощного противоонкологического средства клофарабин (фосфатидилклофарабин) также полностью устойчив к действию этого фермента [70], что обеспечивает его лучшую биодоступность.

**3.4. Противознзимная устойчивость липосом, как контейнеров для лекарств.** В отсутствие лиганда при условии использования липосом в качестве субстрата для ФЛА<sub>2</sub> панкреаса проведена оценка их противознзимной устойчивости в целях применения как потенциальных контейнеров для лекарств и предложены составы липосом, наименее подверженные ферментативному разрушению (рис. 8).

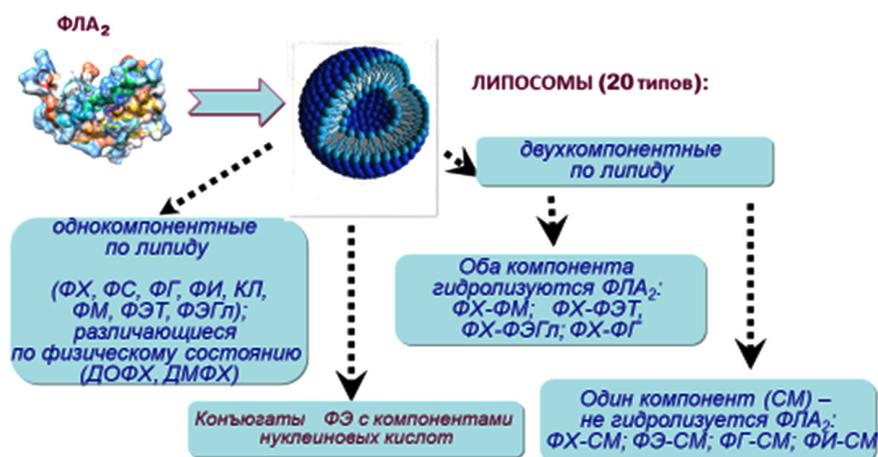


Рис. 8. Стратегия оценки устойчивости к атаке панкреатической фосфолипазой А<sub>2</sub> липосом, включающих фосфатидил: -холин (ФХ); -этаноламин (ФЭ); -этанол (ФЭТ); -инозит (ФИ); -глицерол (ФГ); -серин(ФС); -этиленгликоль (ФЭГл); -метанол (ФМ), а также кардиолипин (КЛ); -диолеил- (ДОФХ) и димиристоилфосфатидилхолин (ДМФХ); сфингомиелин (СМ)

Fig. 8. The strategy for assessing the resistance to attack by pancreatic phospholipase A<sub>2</sub> of liposomes containing phosphatidyl: -choline (PC); -ethanolamine (PE); -ethanol (PET); -inositol (PI); -glycerol (PG); -serine (PS); -ethylene glycol (PEG), -methanol (PM), as well as cardiolipin (CL); dioleoyl- (DOPC) and dimyristoylphosphatidylcholine (DMPC); sphingomyelin (SM)

Наибольшую устойчивость к ферментативному разрушению, по нашим данным, проявили фосфолипиды в составе двухкомпонентных липосом со сфингомиелином. По скорости ферментативного расщепления однокомпонентных липосом наблюдается следующий ряд: ФИ = ФЭ > ФХ > ФГ. Степень гидролиза ДОФХ снижалась практически вдвое в эквимольной смеси с ДОФГ. Не желательно включение вторым компонентом в липосомы анионных фосфолипидов (ФМ, ФЭТ, ФЭГл), поскольку обнаружен их стимулирующий эффект (в соотношении 1:3 моль/моль) на деградацию цвиттер-ионного – основы липосомального контейнера [38].

**3.5. Вирулентность фосфолипаз и липосомальные контейнеры.** В качестве белка острой фазы ФЛА<sub>2</sub> группы ПА преимущественно активируется при развитии воспалительных процессов или бактериальной инвазии. ФЛА<sub>2</sub> группы ПА млекопитающих способны проникать в клеточную стенку бактерий. Клеточная стенка грамположительных бактерий состоит из множества слоев пептидогликана, сшитых пептидными межклеточными перемычками. Отрицательно заряженные тейхоевые и липотейхоевые кислоты прикрепляются к пептидогликану или мембране соответственно, создавая отрицательный заряд, который притягивает ФЛА<sub>2</sub>-ПА через электростатические взаимодействия. После первоначального связывания ФЛА<sub>2</sub>-ПА проникает в клеточную стенку для гидролиза бактериальной мембраны, содержащей фосфатидилглицерин и фосфатидилэтаноламин. Грамотрицательные бактерии обладают тонким пептидогликановым слоем, покрытым наружной мембраной, которая покрыта липополисахаридом (ЛПС). Покрытие из ЛПС препятствует внедрению ФЛА<sub>2</sub>-ПА в клеточную стенку, значительно снижая бактерицидность действия ФЛА<sub>2</sub> по отношению к грамотрицательным бактериям [14]. Из-за своей способности к элиминации множественных патогенов ФЛА<sub>2</sub>-ПА долгое время считалась антибиотикоподобным белком [71].

Однако поскольку некоторые патогены, такие как *Pseudomonas aeruginosa* и *Porphyromonas gingivalis*, продуцируют его для элиминации окружающих бактерий, полагают, что ФЛА<sub>2</sub>-ПА микроорганизмов играет ключевую роль в дисбактериозе [72]. При этом на первый план выходит проблема устойчивости липосомальных контейнеров лекарств к микробной ФЛА<sub>2</sub>, которая требует особого внимания и отдельного изучения в перспективе.

**4. Сопряженные каскадные биореакторы, включающие два белка.** Имеются единичные сообщения об использовании спаренного действия двух ферментов для определения активности фосфолипазы А<sub>2</sub>: сначала под действием ФЛА<sub>2</sub> от субстрата отщепляется линолевая кислота, которая окисляется далее липоксигеназой с образованием гидроперекисного производного, что

сопровождается увеличением поглощения при 234 нм, которое измеряется спектрофотометрически [73].

Нами разработаны сопряженные каскадные биореакторы, также содержащие два белка, вступающих в действие поэтапно. Во-первых, на основе системы фосфолипаза  $A_2$ –цитохром P450, перспективной в отношении определения безопасной для желудочно-кишечного тракта дозы антибиотиков [74]. Во-вторых, фосфолипаза  $A_2$ –гемоглобин, использованная для создания и внедрения в клиническую практику не имеющего аналогов в мире диагностического набора «ФЛА $_2$ -ФОА» для выявления больных некротическим панкреатитом и определения общей антиоксидантной активности крови. В-третьих, фосфолипаза  $A_2$ –миоглобин для определения общей антиоксидантной способности крови.

**4.1. Биореактор на основе системы фосфолипаза  $A_2$ –цитохром P450.** Ранее нами было обнаружено с помощью кругового дихроизма наличие белок-белкового взаимодействия между цитохромом P450 и секреторными ФЛА $_2$  из различных источников [74]. Далее проведенное исследование на кинетическом уровне активности ФЛА $_2$  в условиях повышающейся концентрации цитохрома P450 (моль/моль) в присутствии и в отсутствие эконазола – антибиотика нового поколения (рис. 9) показало, что преинкубация с эконазолом цитохрома P450 3A4 человека повышает активирующее действие последнего на фосфолипазную реакцию.

Полученные данные при масштабировании могут стать основой для методики тест-системы определения *in vitro* безопасных доз антибиотиков, чтобы последние при биологически несовместимых концентрациях не модулировали фосфолиполилиз клеточной стенки кишечника.

**4.2. Биореактор на основе системы фосфолипаза  $A_2$ –гемоглобин.** В литературе имеются данные об определении активности ФЛА $_2$  с использованием системы фосфолипаза  $A_2$ –гемоглобин, которая основана на гемолизе эритроцитов под действием лизолецитина, образующегося из фосфолипидов под действием ФЛА $_2$ , и последующем определении высвобождающегося при этом гемоглобина. Свободный гемоглобин измеряется либо феррицианидным методом по Нейману,

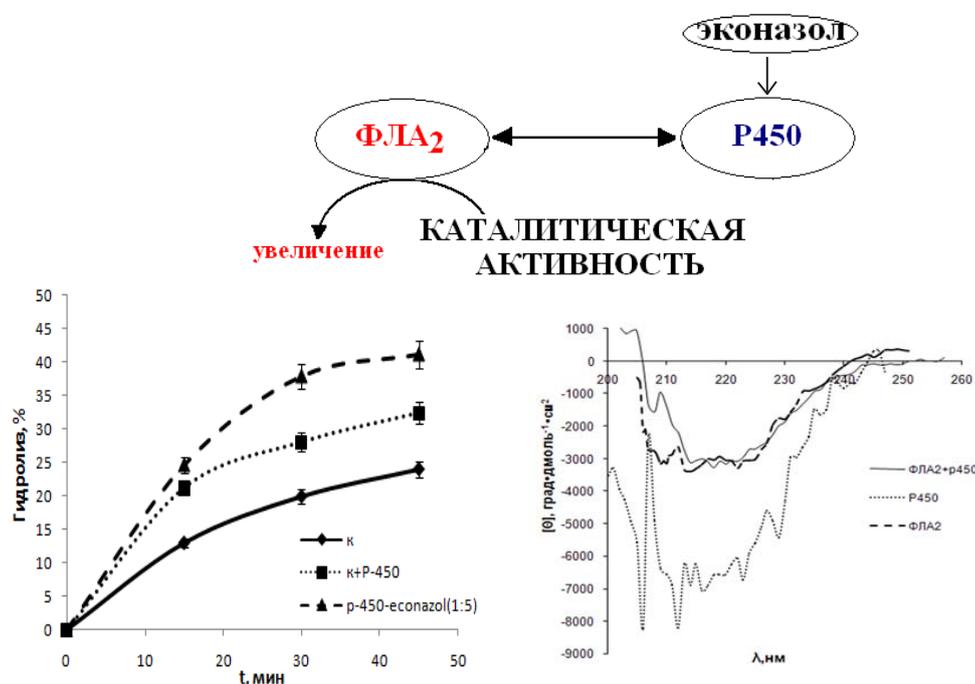


Рис. 9. Схема сопряженности биохимических процессов антибиотик ↔ цитохром P450 ↔ фосфолипаза  $A_2$ : эконазол действует на активность ФЛА $_2$  предположительно через конформационные изменения цитохрома P450, которые влияют на взаимодействие цитохрома и фосфолипазы  $A_2$  [74] и приводят к активации фосфолиполиза

Fig. 9. Scheme of the interconnection of biochemical processes antibiotic ↔ cytochrome P450 ↔ phospholipase  $A_2$ : econazole affects the activity of PLA $_2$  presumably through conformational changes in cytochrome P450, which affect the interaction of cytochrome and phospholipase  $A_2$  [74] and lead to phospholipolysis activation

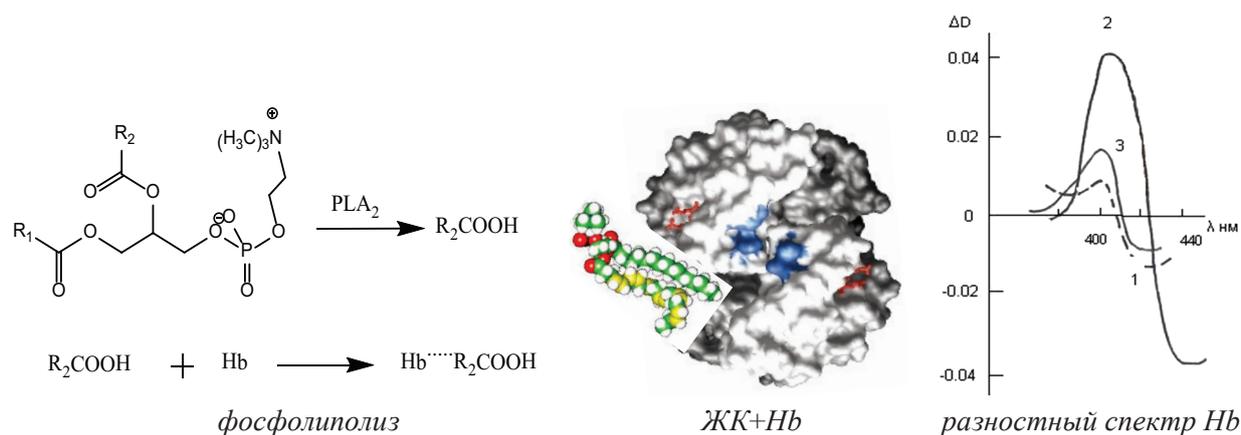


Рис. 10. Экспериментальная модель определения активности ФЛА<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) в биологических жидкостях с использованием спектральных изменений гемоглобина (Hb) под действием жирной кислоты, как продукта реакции фосфолиполиза

Fig. 10. Experimental model for determining the activity of PLA<sub>2</sub> in biological fluids using spectral changes in hemoglobin (Hb) under the action of a fatty acid as a phospholipolysis reaction product

или используется пероксидазоподобная активность гемоглобина по изменению окраски тетраметилбензидина в присутствии перекиси водорода [24].

В нашем биореакторе в качестве индикатора фосфолиполиза используются спектральные изменения непосредственно гемоглобина под влиянием жирных кислот [75], высвобождаемых из фосфатидилхолина под действием ФЛА<sub>2</sub>.

Сначала при взаимодействии фермента ФЛА<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) с фосфолипидами (субстрат, PL) отщепляется жирная кислота (ЖК). Затем во время образования супрамолекулярного комплекса гемоглобина (Hb) с ЖК, образованной в процессе фосфолиполиза, гемопротейн превращается в окисленную низкоспиновую форму – гемихром, что выражается в развитии на третьем этапе разностного спектра, который измеряется спектрофотометрически (рис. 10).

При этом интенсивность возникающего спектра является количественным показателем активности панкреатической ФЛА<sub>2</sub> в сыворотке крови. Все этапы проходят в кювете спектрофотометра в одну стадию. На этой основе разработана уникальная методология определения активности ФЛА<sub>2</sub> в биологических жидкостях [76], а также создана не имеющая аналогов в мире соответствующая тест-система и организовано совместное с ХОП ИБОХ производство наборов реагентов ФЛА<sub>2</sub>–ФОА для диагностики острого некротического панкреатита [77].

Эта же система в случае использования совместного УФ-облучения липидной фазы совместно с сывороткой крови позволяет определять с помощью активности ФЛА<sub>2</sub>, обладающей антиоксидантными свойствами [78], и стандартного антиоксиданта Тролокса общую антиоксидантную активность организма [46]. Биореактор на основе системы фосфолипиды–миоглобин послужил основой для определения не энзиматическим путем общей антиоксидантной способности сыворотки крови, как более точного интегрального показателя устойчивости организма к действию активных форм кислорода [51].

**Заключение.** Высокая чувствительность, селективность и прямая корреляционная зависимость спектрального ответа гемопротейнов на действие жирной кислоты, как продукта фосфолиполиза под действием ФЛА<sub>2</sub> в представленных выше биореакторах, позволяет решать широкий круг задач, в том числе определять физиологическую активность химических соединений (биореактор «ФЛА<sub>2</sub>–лиганд»); проводить контроль биобезопасности для желудочно-кишечного тракта пестицидов (биореактор «ФЛА<sub>2</sub>–лиганд»); диагностировать панкреатит (биореактор «ФЛА<sub>2</sub>–гемоглобин»); осуществлять оценку антиоксидантного потенциала организма путем определения в крови общей антиоксидантной активности (биореакторы «ФЛА<sub>2</sub>–миоглобин», «ФЛА<sub>2</sub>–гемоглобин») и общей антиоксидантной способности (неэнзиматический биореактор «фосфолипиды–миоглобин»). При этом в отличие от других исследователей в наших биореакторах целенаправленно использовались надмолекулярные формы субстрата ФЛА<sub>2</sub>, характерные

для функционирования организма человека при пищеварении: смешанные мицеллы фосфолипидов с желчными кислотами и липопротеиновый комплекс яичного желтка, а также бислойные липосомы, сформированные из фосфатидилхолина, как модель клеточной стенки кишечника.

Приоритет этих направлений применения фосфолиполиза подтвержден более полутора десятков патентов, в том числе двумя патентами Евразийского патентного ведомства. Фундаментальные исследования, положенные в основу разработок указанных выше биореакторов, удостоены Государственной премии Республики Беларусь (в составе коллектива); поддержаны Фондом Сороса и рядом проектов Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований; включены в ТОП-10 (2017 г.) научных достижений Национальной академии наук Беларуси; отмечены сертификатами и свидетельствами о признании на международном уровне (Рим–2018, Дубай–2019, Сингапур–2019, Лондон–2019, Рим–2020).

**Благодарность.** Автор выносит благодарность всем коллегам, участвовавшим в выполнении перечисленных выше исследований. Значительный вклад в эту работу внесли ст. науч. сотрудник Скоростецкая Л. А., магистры А. Н. Мартынюк, Ю. Ш. Ермакович и Е. А. Ремеева, канд. биол. наук С. В. Кучуро, канд. хим. наук Г. Н. Антончик, канд. хим. наук Д. О. Герловский.

**Acknowledgements.** Author expresses her gratitude to all colleagues who participated in the implementation of the above studies. A significant contribution to this work was made by Senior Researcher L. A. Skorostetskaya, Masters A. N. Martynyuk, Yu. Sh. Ermakovich and E. A. Remeeva, Ph. D. (Biology) S. V. Kuchuro, Ph. D. (Chemistry) G. N. Antonchik, Ph. D. (Chemistry) D. O. Gerlovsky.

#### Список использованных источников

1. Mouchlis, V. D. Phospholipase A<sub>2</sub> catalysis and lipid mediator lipidomics / V. D. Mouchlis, E. A. Dennis // *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*. – 2019. – Vol. 1864, N 6. – P. 766–771 <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.010>
2. Kita, Y. Cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> and lysophospholipid acyltransferases / Y. Kita, H. Shindou, T. Shimizu // *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*. – 2019. – Vol. 1864, N 6. – P. 838–845. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.006>
3. Kono, N. Platelet-activating factor acetylhydrolases: An overview and update / N. Kono, H. Arai // *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipid*. – 2019. – Vol. 1864, N 6. – P. 922–931. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.07.006>
4. Murakami, M. Group IID, IIE, IIF and III secreted phospholipase A<sub>2</sub>s / M. Murakami, Y. Taketomi, K. Yamamoto // *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*. – 2019. – Vol. 1864, N 6. – P. 803–818. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.014>
5. Murakami, M. Novel functions of phospholipase A<sub>2</sub>s: Overview / M. Murakami // *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*. – 2019. – Vol. 1864, N 6. – P. 763–765. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2019.02.005>
6. Hirabayashi, T. The role of PNPLA1 in  $\omega$ -O-acylceramide synthesis and skin barrier function / T. Hirabayashi, M. Murakami, A. Kihara // *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*. – 2019. – Vol. 1864, N 6. – P. 869–879. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.09.010>
7. Hui, D. Y. Group 1B phospholipase A<sub>2</sub> in metabolic and inflammatory disease modulation / D. Y. Hui // *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*. – 2019. – Vol. 1864, N 6. – P. 784–788. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.07.001>
8. Function of secreted phospholipase A<sub>2</sub> group-X in asthma and allergic / J. D. Nolina [et al.] // *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*. – 2019. – Vol. 1864, N 6. – P. 827–837. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.11.009>
9. Tappia, P. S. Phospholipases in Health and Disease / P. S. Tappia, N. S. Dhalla. – New York: Springer, 2014. – 410 p. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0464-8>
10. Samuchiwal, S. K. Harmful and protective roles of group V phospholipase A<sub>2</sub>: Current perspectives and future directions / S. K. Samuchiwal, B. Balestrieri // *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*. – 2019. – Vol. 1864, N 6. – P. 819–826. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.10.001>
11. Kaiser, E. Phospholipase A<sub>2</sub>: its usefulness in laboratory diagnostics / E. Kaiser // *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* – 1999. – Vol. 36, N 2. – P. 65–163. <https://doi.org/10.1080/10408369991239187>
12. Камышников, В. С. Липопротеин-ассоциированная и секреторная фосфолипазы A<sub>2</sub>: особенности метаболического влияния и клиническая значимость / В. С. Камышников [и др.] // *Лаб. диагностика. Восточная Европа*. – 2017. – Т. 6, № 2. – С. 44–55.
13. Serum phospholipase A and prognosis in intensive care patients / R. Schaefer [et al.] // *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* – 1990. – Vol. 28, N 4. – P. 253–254.
14. Dore, E. Roles of secreted phospholipase A<sub>2</sub> group IIA in inflammation and hostdefense / E. Dore, E. Boilard // *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*. – 2019. – Vol. 1864, N 6. – P. 789–802. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.017>
15. Способ дифференциальной диагностики вирусного гепатита и подпеченочной желтухи: а. с. 1296936 СССР / В. Н. Никифоров, М. В. Шмавонян, П. А. Казарян, А. Л. Мхитарян, Д. С. Волян. – Оpubл. 15.03.87.
16. Light-generating methods using dioxyethanes activated by anchimeric cleavage: Patent no. 5248618 USA / A. Haces. – Publ. date 28.09.1993.

17. Degradation of annexin I in bronchoalveolar lavage fluid in patients with cystic fibrosis / F. H. C. Tsao [et al.] // *Am. J Respir. Cell. Mol. Biol.* – 1998. – Vol.18, N 1. – P. 120–128. <https://doi.org/10.1165/ajrcmb.18.1.2808>
18. Diagnostic test for the detection of type IV cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>): UK Patent GB19990005417 / A. C. A. Glen, D. J. McDonald. – Publ. date: 27.02.2004.
19. Nevalainen, T. J. Serum phospholipases A<sub>2</sub> in inflammatory diseases / T. J. Nevalainen // *Clin. Chem.* – 1993. – Vol. 39, no. 12. – P. 2453–2459. <https://doi.org/10.1093/clinchem/39.12.2453>
20. Nevalainen, T. The role of phospholipase A<sub>2</sub> in acute pancreatitis / T. Nevalainen // *Z. Med. Lab. Diagn.* – 1989. – Vol. 30, N 6. – P. 299–303.
21. Application of a new monoclonal antibody for time-resolved fluoroimmunoassay of human pancreatic phospholipase A<sub>2</sub> / S. A. Santavuori [et al.] // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 1991. – Vol. 29, N 12. – P. 819–826. <https://doi.org/10.1515/cclm.1991.29.12.819>
22. Фосфолипазы плазмы крови при ожоговом шоке / Т. Л. Заец [и др.] // *Бюлл. эксп. биол. мед.* – 1987. – Т. 103. – С. 403–404.
23. Makela, A. Serum phospholipase A<sub>2</sub>, amylase, lipase, and urinary amylase activities in relation to the severity of acute pancreatitis / A. Makela, T. Kuusi, T. Schroder // *Eur. J. Surg.* – 1997. – Vol. 163, N 12. – P. 915–922.
24. Photometric test to measure the enzymatic activity of pancreatic phospholipase A<sub>2</sub> to distinguish between mild and severe (necrotizing) forms of acute pancreatitis in serum or plasma: DE Patent № DE19530410.1 / U. Helfrich. – Publ. date 20.02.1997.
25. Measurement of Phospholipase A<sub>2</sub> Polypeptide in Tissue Cells: Patent 5747264 USA / C. J. Schmidt, F. Tobin, F. E. Wilkinson. – Publ. date 05.05.1998.
26. Human phospholipase activating protein and methods for diagnosis of rheumatoid arthritis: Patent № US 626589 / J. Bomalaski, S. Clark, M. A. Shorr, Robert G. L.; applicant and patent holder J. Bomalaski, S. Clark, M. A. Shorr, G. L. Robert. – Publ. date 25.06.92.
27. PLA<sub>2</sub> activity as a marker for ovarian and other gynecologic cancers: Patent USA №US20130045947 / Yan Xu. – Publ. date 21.02.2013.
28. Method for evaluating blood-neural barrier permeability: US Patent no. 8349577 / Kh. Iqbal, S. Chalbot, I.Grundke-Iqbal. – Publ. date 08.01.2013.
29. Methods for detecting Lp-PLA<sub>2</sub> activity and inhibition of Lp-PLA<sub>2</sub> activity / Yaping Shou, Yin-Fai Siu, George T. Walker. – Publ. date 01.11. 2012.
30. Methods for detecting Lp-PLA<sub>2</sub> activity and inhibition of Lp-PLA<sub>2</sub> activity: US Patent no. US8846309B2 / Yaping Shou, Yin-Fai Siu, George T. Walker. – Publ. date 30.09. 2014.
31. Methods for detecting Lp-PLA<sub>2</sub> activity and inhibition of Lp-PLA<sub>2</sub> activity: US Patent no. US20150017671 / Yaping Shou, Yin-Fai Siu, George T. Walker. – Publ. date 15.01. 2015.
32. Methods for detecting Lp-PLA<sub>2</sub> activity and inhibition of Lp-PLA<sub>2</sub> activity: US Patent no. US20150247858 / Yaping Shou, Yin-Fai Siu, George T. Walker. – Publ. date 03.09. 2015.
33. Methods of detecting Lp-PLA<sub>2</sub> activity: Patent no. WO2005074604A2 / Xiaozhu Duan, Nam Kim, Robert L. Wolfert. – Publ. date 18.08.2005.
34. Phospholipid oxidation and Lp-PLA<sub>2</sub> as predictors of coronary artery disease. Patent US20090317819/ SotiriosTsimikas, JosephWitztum. – Publ. date 24.12.2009.
35. Compositions and methods for inhibition of phospholipase A<sub>2</sub> mediated inflammation. Patent no. WO2003076389A1/ E. Dennis, T. Yaksh, K. Killermann Lucas, C. Svensson, D. A. Six, G. Kokotos, V. Constantinou-Kokotou. – Publ. date 18.09.2003.
36. Single-photon emission computed tomography Positron Emission Tomography (PET): Patentno. 2019063634 USA / O. Melina, E. Jestin, F. Guibbal, S. Benard. – Publ. date 4.04.2019.
37. Литвінко, Н. М. Прикладная энзимология фосфатацилгидролаз в изучении взаимосвязи структура-функция в ряду биополимеров и низкомолекулярных биорегуляторов / Н. М. Литвінко // *Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук.* – 2017. – № 3. – С. 115–128.
38. Литвінко, Н. М. Активность фосфолипаз A<sub>2</sub> и C при биохимическом моделировании / Н. М. Литвінко. – Минск: Технопринт, 2003. – 350 с.
39. Литвінко, Н. М. Межфазный катализ липолитических реакций в биорганической химии: особенности и практическое применение / Н. М. Литвінко // *Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук.* – 2015. – № 4. – С. 109–121.
40. Герловский, Д. О. Активность панкреатической фосфолипазы A<sub>2</sub> в присутствии ряда производных 1,3-циклогександиона и некоторых органофосфатов: дис. ... канд. хим. наук: 03.01.04 /Д. О. Герловский. – Минск, 2012. – 194 с.
41. Брокерхофф, Х. Липолитические ферменты / Х. Брокерхофф, Р. Дженсен. – М.: Мир, 1978. – 330 с
42. Litvinko, N. M. Hydrolysis of glycerophospholipids by the phosphatidylinositol-specific phospholipase // *Biophosphates and Their Analogous – Synthesis, Structure, Metabolism and Activity* / N. M. Litvinko. – Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1987. – P. 315–320.
43. Litvinko, N. M. Phospholipolysis: research and new approaches to practical use / N. M. Litvinko // *Abstr. of International Conf. Innovations in Food Science and Human Nutrition (IFHN-2018), 13–15 September 2018.* – Rome, Italy, 2018. – P. 59.
44. Litvinko, N. M. Diagnostic biosystems based on phosphatidacylhydrolases and hemoproteins / N. M. Litvinko, L. A. Skorostetskaya, D. O. Gerlovsky // *Frontiers in Life Sciences. Signaling and Metabolism, 1st Belarussian-Polish-Lithuanian Conf., 8–9 November 2018.* – Grodno, 2018. – P. 209–210.

45. Новые инновационные технологии клинко-биохимического исследования как фундаментальная основа лабораторной медицины и дальнейшего становления экономики знаний / В. С. Камышников [и др.] // Инновационные технологии в медицине. – 2018. – Т. 6, № 1. – С. 72–82.
46. Litvinko, N. M. The interaction of phospholipase A<sub>2</sub> with oxidized phospholipids at the lipid-water surface with different structural organization / N. M. Litvinko, L. A. Skorostetskaya, D. O. Gerlovsky // Chemistry and Physics of Lipids. – 2018. – Vol. 211. – P. 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2017.10.010>
47. Litvinko, N. M. A new approach toward the application of biochemical systems based on phospholipolysis / N. M. Litvinko, L. A. Skorostetskaya, D. O. Gerlovsky // Current Research in Bioorganic and Organic Chemistry. – 2019. – Vol. 3. – P.19.
48. Differential Spectroscopy in Studying of the Phospholipolysis: Results and New Approaches to Practical Use as Enzyme Therapy and Diagnostics / N. M. Litvinko [et al.] // Proceedings of BIT's 7th Annual Conference of AnalytiX-2019, Singapore, 12–15 April 2019. – P. 59.
49. Phosphatideacylhydrolases: priority role in digestion and a new application for the detection of pancreatitis / N. M. Litvinko [et al.] // Abstr. 2 nd conference on innovations in food science& human nutrition. 12–14 Sep, 2019. – London, 2019. – P. 55.
50. Диагностические биосистемы на основе фосфатацилгидролаз и гемопротеинов // Н. М. Литвинко [и др.] // Биохимия и молекулярная биология: сб. науч. тр. – Минск: ИВЦ Минфина, 2019. – Вып. 3. Механизмы регуляции процессов жизнедеятельности в норме и патологии. – С. 34–39.
51. Эффект УФ-облученных жирных кислот на спектральные свойства миоглобина / Н. М. Литвинко [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2019. – Т. 63. № 1. – С. 44–54.
52. Computer-aided drug design guided by hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry: A powerful combination for the development of potent and selective inhibitors of Group VIA calcium-independent phospholipase A<sub>2</sub> / V. D. Mouchlis [et al.] // Bioorg. Med. Chem. – 2016. – Vol. 24. – P. 4801–4811. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.05.009>
53. Phospholipase A<sub>2</sub> enzymes: physical structure, biological function, disease implication, chemical inhibition, and therapeutic intervention / J. Cao [et al.] // Chem. Rev. – 2011. – Vol. 111, no. 10. – P. 6130–6185. <https://doi.org/10.1021/cr200085w>
54. Small-molecule inhibitors as potential therapeutics and as tools to understand the role of phospholipases A<sub>2</sub> / A. Nikolaou [et al.] // BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids. – 2019. – Vol. 1864, N 6. – P. 941–956. <http://doi:10.1016/j.bbailip.2018.08.009>
55. Mouchlis, V. D. Design of new secreted phospholipase A<sub>2</sub> inhibitors based on docking calculations by modifying the pharmacophore segments of the FPL67047XX inhibitor / V. D. Mouchlis, T. M. Mavromoustakos, G. Kokotos // J. Comput.-Aided Mol. Des. – 2010. – Vol. 24, N 2. – P. 107–115. <https://doi.org/10.1007/s10822-010-9319-7>
56. Potent and selective fluoroketone inhibitors of group VIA calcium-independent phospholipase A<sub>2</sub> / G. Kokotos [et al.] // J. Med. Chem. – 2010. – Vol. 53, N 9. – P. 3602–3610. <https://doi.org/10.1021/jm901872v>
57. Development of potent and selective inhibitors for group VIA calcium-independent phospholipase A<sub>2</sub> guided by molecular dynamics and structure-activity relationships / D. Mouchlis [et al.] // J. Med. Chem. – 2016. – Vol. 59, no. 9. – P. 4403–4414. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00377>
58. Phospholipase inhibitors: US Patent no. 2003153751 USA / J. S. Seehra, N. Kaila, J. S. Mckew, F. Lovering, J. E. Bemis, Y. Xiang. – Publ. date 14.08.2003.
59. Inhibition of secretory phospholipase A<sub>2</sub>. 1-Design, synthesis and structure-activity relationship studies starting from 4-tetradecyloxybenzamidinone to obtain specific inhibitors of group II sPLA<sub>2</sub>s/ L. Assogbaa [et al.] // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2005. – Vol. 40, N 9. – P. 850–861. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2005.03.027>
60. Способ определения эффекторных свойств физиологически активных соединений: патент BY №5752 / Н. М. Литвинко, С. В. Кучуро, Т. А. Желдакова, Е. Р. Филич. – Оpubл. 30.12.2003
61. Способ определения антигемолитической активности химического соединения: патент BY №10604 / Н. М. Литвинко, С. В. Кучуро, Г. Н. Рахуба, Д. Б. Рубинов, Т. А. Желдакова. – Оpubл. 30.06.2008
62. 3,5-дизамещенные производные тиотетрановой кислоты, проявляющие антифосфолипазную активность антипанкреатического профиля действия, и способ их получения: патент BY №10191 / Д. Б. Рубинов, Т. А. Желдакова, Н. М. Литвинко, С. В. Кучуро, Г. Н. Рахуба. – Оpubл. 28.02.2008.
63. Производные β-трикетонов тиофенового ряда, проявляющие антифосфолипазную активность антигемолитического профиля действия: патент BY №10192 / Д. Б. Рубинов, Т. А. Желдакова, Н. М. Литвинко, С. В. Кучуро, Г. Н. Рахуба. – Оpubл. 28.02.2008.
64. Кучуро, С. В. Механизмы взаимодействия фосфолипазы A<sub>2</sub>, простагландинов и этанола в регуляции липолиза в биологических мембранах: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.04 / С. В. Кучуро. – Минск, 2001. – 130 с.
65. Рахуба, Г. Н. Липолитические реакции с участием фосфолипаз A<sub>2</sub> и механизмы их регуляции по принципу обратной связи: дис. ... канд. хим. наук: 03.00.04 / Г. Н. Рахуба. – Минск, 2007. – 143 с.
66. Фосфодизфирные производные ацикловира – новые ингибиторы панкреатической фосфолипазы A<sub>2</sub> / Д. О. Герловский [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2010. – Т. 54, № 1. – С. 75–82.
67. Deems, R. A. Kinetic analysis of phospholipase A<sub>2</sub> activity toward mixed micelles and its implications for the study of lipolytic enzymes / R. A. Deems, B. R. Eaton, E. A. Dennis // J. Biol. Chem. – 1975. – Vol. 250, N 23. – P. 9013–9020.
68. Hendrickson, H. S. Analysis of the kinetics of phospholipid activation of cobra venom phospholipase A<sub>2</sub> / H. S. Hendrickson, E. A. Dennis // J. Biol. Chem. – 1984. – Vol. 259, N 9. – P. 5740–5744.
69. Конъюгат фосфолипида с модифицированным нуклеозидом, фармацевтическая композиция и средство, повышающее устойчивость к действию панкреатической фосфолипазы A<sub>2</sub>: Патент BY №11905 / Н. М. Литвинко, Е. Н. Калиниченко, Е. В. Жерносек, С. В. Кучуро. – Оpubл. 28.02.2008.

70. The enzymatic synthesis of Phospholipide-Nucleoside conjugates and study of their substrate activity for the digestive phospholipase A<sub>2</sub> / N. M. Litvinko [et al.] // *Journal of Nanotechnology: Nanomedicine & Nanobiotechnology*. – 2020. – Vol. 7. – P. 55–56.
71. Type-IIA secreted phospholipase A<sub>2</sub> is an endogenous antibiotic-like protein of the host / Y. Wu [et al.] // *Biochimie*. – 2010. – Vol. 92. – P. 583–587. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2010.01>
72. Activation of Notch-1 in oral epithelial cells by *P. gingivalis* triggers the expression of the antimicrobial protein PLA<sub>2</sub>-IIA / A. Al-Attar [et al.] // *Mucosal Immunol.* – 2018. – Vol. 11, N 4. – P. 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41385-018-0014-7>
73. Jimenez, M. A continuous spectrophotometric assay for phospholipase A(2) activity / M. Jimenez // *Anal. Biochem.* – 2003. – Vol. 319. – P. 131–137.
74. Особенности взаимодействия цитохрома P450 и фосфолипаз A<sub>2</sub> разной специфичности, обнаруживаемые КД-спектроскопией / Н. М. Литвинко [и др.] // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси*. – 2016. – Т. 60, № 6. – С. 64–71.
75. Супрамолекулярный комплекс жирной кислоты с гемоглобином как индикатор фосфолиполиза для выявления экспериментального панкреатита / Н. М. Литвинко [и др.] // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси*. – 2016. – Т. 60, № 4. – С. 82–88.
76. Способ определения активности фосфолипазы A<sub>2</sub> в сыворотке крови: патент ВУ № 12552 / Н. М. Литвинко, Л. А. Скоростецкая, С. В. Кучуро, Г. Н. Рахуба. – Оpubл. 30.06.2009.
77. Способ диагностики панкреатита по уровню A<sub>2</sub> фосфолипазной активности сыворотки крови: патент ВУ №13143 / Н. М. Литвинко, Л. А. Скоростецкая. – Оpubл. 30.04.2010.
78. Булакова, Е. Б. Биоантиоксиданты / Е. Б. Булакова // *Рос. хим. журн.* – 2007. – Т. LI, № 1. – С. 3–12.

## References

1. Mouchlis V. D., Dennis E. A. Phospholipase A<sub>2</sub> catalysis and lipid mediator lipidomics. *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2019, vol. 1864, no 6, pp. 766–771. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.010>
2. Kita Y., Shindou H., Shimizu T. Cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> and lysophospholipid acyltransferases. *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2019, vol. 1864, no. 6, pp. 838–845. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.006>
3. Kono N., Arai, H. Platelet-activating factor acetylhydrolases: An overview and update. *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2019, vol. 1864, no. 6, pp. 922–931. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.07.006>
4. Murakami M., Miki Y., Sato H., Murase R., Taketomi Y., Yamamoto K. Group IID, IIE, IIF and III secreted phospholipase A<sub>2</sub>s. *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2019, vol. 1864, no. 6, pp. 803–818. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.014>
5. Murakami M. Novel functions of phospholipase A<sub>2</sub>s: Overview. *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2019, 2019, vol. 1864, no. 6, pp. 763–765. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2019.02.005>
6. Hirabayashi T., Murakami M. Kihara A. The role of PNPLA1 in ω-O-acylceramide synthesis and skin barrier function. *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2019, vol. 1864, no. 6, pp. 869–879. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.09.010>
7. Hui D. Y. Group 1B phospholipase A<sub>2</sub> in metabolic and inflammatory disease modulation. *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2019, vol. 1864, no. 6, pp. 784–788. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.07.001>
8. Nolina J. D., Murphy R. C., Gelbb M. H., Altemeiera W.A., Henderson W. R. Jr., Hallstrand T. S. Function of secreted phospholipase A<sub>2</sub> group-X in asthma and allergic. *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2019, vol. 1864, no. 6, pp. 827–837. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.11.009>
9. Tappia P. S., Dhalla N. S. *Phospholipases in Health and Disease*. New York: Springer, 2014, 410 p. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0464-8>
10. Samuchiwal S. K., Balestrieri B. Harmful and protective roles of group V phospholipase A<sub>2</sub>: Current perspectives and future directions. *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2019, vol. 1864, no. 6, pp. 819–826. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.10.001>
11. Kaiser E. Phospholipase A<sub>2</sub>: its usefulness in laboratory diagnostics // *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 1999, vol. 36, no. 2, pp. 65–163. <https://doi.org/10.1080/10408369991239187>
12. Kamyshnikov V., Litvinko N., Pekhtereva N., Yakovlev-Malykh N., Yuraga T. Lipoprotein-associated and secretory phospholipase A<sub>2</sub>: features of metabolic influence and clinical significance of research. *Laboratornaya diagnostika. Vostochnaya Evropa=Laboratory diagnostics. Eastern Europe*, 2017, vol. 6, no. 2, pp. 44–55 (in Russian).
13. Schaefer R., Teschner M., Penzel W., Habscheid W., Heidland A., Hoffmann G. E. Serum phospholipase A and prognosis in intensive care patients. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical biochemistry*, 1990. vol. 28, no. 4, pp. 253–254.
14. Dore E., Boilard E. Roles of secreted phospholipase A<sub>2</sub> group IIA in inflammation and host defense. *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2019, vol. 1864, no. 6, pp. 789–802. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.017>
15. Nikiforov V. N., Shmavonyan M. V., Kazaryan P. A., Mkhitarian A. L., Vopyan D. S. *Method of differential diagnosis of viral hepatitis and subhepatic jaundice*. Author's certificate 1296936 USSR. Publ. date 15.03.1987 (in Russian).
16. Haces A. *Light-generating methods using dioxethanes activated by anchimeric cleavage*. Patent no. 5248618 USA. Publ. date 28.09.1993.
17. Tsao F. H. C., Meyer K. C., Chen X., Rosenthal N. S., Hu J. Degradation of annexin I in bronchoalveolar lavage fluid in patients with cystic fibrosis. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 1998, vol. 18, no. 1, pp. 120–128. <https://doi.org/10.1165/ajrcmb.18.1.2808>
18. Glen A. C. A., McDonald D. J. *Diagnostic test for the detection of type IV cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>)*. UK Patent GB19990005417. Publ. date 27.02.2004.

19. Nevalainen T. J. Serum phospholipases A<sub>2</sub> in inflammatory diseases. *Clinical Chemistry*, 1993, vol. 39, no. 12, pp. 2453–2459. <https://doi.org/10.1093/clinchem/39.12.2453>
20. Nevalainen T. The role of phospholipase A<sub>2</sub> in acute pancreatitis. *Zeitschrift für medizinische Laboratoriums diagnostik*, 1989, vol. 30, no. 6, pp. 299–303.
21. Santavuori S. A., Korteso P. T., Eskola J. U., Nevalainen T. J. Application of a new monoclonal antibody for time-resolved fluoroimmunoassay of human pancreatic phospholipase A<sub>2</sub>. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 1991, vol. 29, no. 12, pp. 819–826. <https://doi.org/10.1515/cclm.1991.29.12.819>
22. Zayets T.L., Lavrov V.A., Marchuk A.I., Nosova I. M. Phospholipases of blood plasma in burn shock. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 1987, vol. 103, pp. 403–404 (in Russian).
23. Makela A. Kuusi T., Schroder T. Serum phospholipase A<sub>2</sub>, amylase, lipase, and urinary amylase activities in relation to the severity of acute pancreatitis. *European journal of surgery*, 1997, vol. 163, no. 12, pp. 915–922.
24. Helfrich U. *Photometric test to measure the enzymatic activity of pancreatic phospholipase A<sub>2</sub> to distinguish between mild and severe (necrotizing) forms of acute pancreatitis in serum or plasma*. DE Patent № DE19530410.1. Publ. date 20.02.1997.
25. Schmidt C. J., Tobin F., Wilkinson F. E. Measurement of Phospholipase A<sub>2</sub> Polypeptide in Tissue Cells. US Patent no. 5747264. Publ. date 05.05.1998.
26. Bomalaski J., Clark S., Shorr M. A., Robert G. L.; applicant and patent holder Bomalaski J., Clark S., Shorr M. A., Robert G. L. *Human phospholipase activating protein and methods for diagnosis of rheumatoid arthritis*. Patent № US 626589. Publ. date 25.06.92.
27. Yan Xu. *PLA-2 activity as a marker for ovarian and other gynecologic cancers*. Patent no. US20130045947. Publ. date 21.02.2013.
28. Iqbal Kh., Chalbot S., Grundke-Iqbal I. *Method for evaluating blood-neural barrier permeability*. US Patent no. 8349577. Publ. date 08.01.2013.
29. Yaping Shou, Yin-Fai Siu, George T. Walker. *Methods for detecting Lp-PLA<sub>2</sub> activity and inhibition of Lp-PLA<sub>2</sub> activity*. US Patentno. US20120276569. Publ. date 01.11. 2012.
30. Yaping Shou, Yin-Fai Siu, George T. Walker. *Methods for detecting Lp-PLA<sub>2</sub> activity and inhibition of Lp-PLA<sub>2</sub> activity*. US Patent no. US8846309B2. Publ. date 30.09. 2014.
31. Yaping Shou, Yin-Fai Siu, George T. Walker. *Methods for detecting Lp-PLA<sub>2</sub> activity and inhibition of Lp-PLA<sub>2</sub> activity*. US Patent no. US20150017671. Publ. date 15.01. 2015.
32. Yaping Shou, Yin-Fai Siu, George T. Walker. *Methods for detecting Lp-PLA<sub>2</sub> activity and inhibition of Lp-PLA<sub>2</sub> activity*. US Patent no US20150247858. Publ. date 03.09. 2015.
33. Xiaozhu Duan, Nam Kim, Robert L Wolfert. *Methods of detecting Lp-PLA<sub>2</sub> activity*. Patentno. WO2005074604 A2. Publ. date. 18.08.2005.
34. Sotirios Tsimikas, Joseph Witztum. Phospholipid oxidation and LP-PLA<sub>2</sub> as predictors of coronary artery disease. Patent no. US20090317819. Publ. date 24.12.2009.
35. Dennis E., Yaksh T., Killermann Lucas K., Svensson C., Six D. A., Kokotos G., Constantinou-Kokotou V. *Compositions and methods for inhibition of phospholipase A<sub>2</sub> mediated inflammation*. Patent no. WO2003076389A1. Publ. date 18.09.2003.
36. Melina O., Jestin E., Guibbal F., Benard S. *Single-photon emission computed tomography Positron Emission Tomography (PET)*. US Patent no. 2019063634. Publ. date 04.04.2019.
37. Litvinko N. M. Applied enzymology of phosphatidacylhydrolases in a study of the structure–function relationship in the series of biopolymers and low-molecular bioregulators. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*, 2017, no. 3, pp. 115–128 (in Russian).
38. Litvinko N. M. Activity of phospholipases A<sub>2</sub> and C in biochemical modeling. Minsk, Technoprint Publ., 2003. 350 p. (in Russian).
39. Litvinko N. M. Interphase catalysis of lipolytic reactions in bioorganic chemistry: features and practical application. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*, 2015, no. 4, pp. 109–121 (in Russian).
40. Gerlovsky D. O. *Activity of pancreatic phospholipase A<sub>2</sub> in the presence of a number of 1,3-cyclohexanedione derivatives and some organophosphates*. Minsk, 2012. 194 p. (in Russian).
41. Brockerhoff H., Jensen R. *Lipolytic enzymes*. Academic Press, Inc. 1974.
42. Litvinko N. M. Hydrolysis of glycerophospholipids by the phosphatidylinosite-specific phospholipase. *Biophosphates and Their Analogous – Synthesis, Structure, Metabolism and Activity*. Amsterdam, Elsevier Science Publishers, 1987, pp. 315–320.
43. Litvinko N. M. Phospholipolysis: research and new approaches to practical use. *Abstr. of International Conf. Innovations in Food Science and Human Nutrition (IFHN-2018)*, 13–15 September 2018, Rome, Italy, pp. 59.
44. Litvinko N. M., Skorostetskaya L. A., Gerlovsky D. O. Diagnostic biosystems based on phosphatideacylhydrolases and hemoproteins *Frontiers in Life Sciences. Signaling and Metabolism. 1st Belarussian–Polish–Lithuanian. Conf., 8–9 November 2018. Grodno*, 2018, pp. 209–210.
45. Kamyshnikov V. S., Kiselev P. A., Litvinko N. M., Vorobey A. V., Skorostetskaya L. A., Juraha T. M. New innovative technologies of clinical and biochemical research as a fundamental basis of translational laboratory medicine and further development of the “knowledge-based economy”. *Innovatsionnye tekhnologii v meditsine = Innovative Technologies in Medicine*, 2018, vol. 6, no. 1, pp. 72–82 (in Russian).

46. Litvinko N. M., Skorostetskaya L. A., Gerlovsky D. O. The interaction of phospholipase A<sub>2</sub> with oxidized phospholipids at the lipid-water surface with different structural organization. *Chemistry and Physics of Lipids*, 2018, vol. 211, pp. 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2017.10.010>
47. Litvinko N. M., Skorostetskaya L. A., Gerlovsky D. O. A new approach toward the application of biochemical systems based on phospholipolysis. *Current Research in Bioorganic and Organic Chemistry*, 2019, vol. 3, pp. 19.
48. Litvinko N. M., Yermakovich Yu. Sh., Skorostetskaya L. A., Gerlovsky D. O. Differential Spectroscopy in Studying of the Phospholipolysis: Results and New Approaches to Practical Use as Enzyme Therapy and Diagnostics. *Proceedings of BIT's 7th Annual Conference of AnalytiX-2019*, Singapore, 12–15 April 2019, pp. 59.
49. Litvinko N. M., Skorostetskaya L. A., Gerlovsky D. O., Kamyshnikov V. S. Phosphatidacylhydrolases: priority role in digestion and a new application for the detection of pancreatitis. *Abstr. 2nd conference on innovations in food science & human nutrition, Sep. 12–14, 2019*, London, 2019, pp. 55.
50. Litvinko N. M., Skorostetskaya L. A., Ermakovich Yu. Sh., Gerlovsky D. O. *Diagnostic biosystems based on phosphatidacylhydrolases and hemoproteins. Biokhimiya i molekulyarnaya biologiya: sb. nauch. tr.* [Biochemistry and Molecular Biology. Collection of proceedings]. Minsk, DCCof the Ministry of Finance, 2019, vol. 3. Mechanisms of regulation of vital processes in health and disease, pp. 34–39 (in Russian).
51. Litvinko N. M., Skorostetskaya L. A., Gerlovsky D. O., Ermakovich Yu. Sh., Evdokimova G. S. Effect of UV-irradiated fatty acids on the spectral properties of myoglobin. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2019, vol. 63, no. 1, pp. 44–54 (in Russian).
52. Mouchlis V. D., Morisseau C., Hammock B. D., Li S., McCammon J. A., Dennis E. A. Computer-aided drug design guided by hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry: A powerful combination for the development of potent and selective inhibitors of Group VIA calcium-independent phospholipase A<sub>2</sub>. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2016, vol. 24, no. 20, pp. 4801–4811. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.05.009>
53. Dennis E., Cao J., Hsu Y.-H., Magrioti V., Kokotos G. Phospholipase A<sub>2</sub> enzymes: physical structure, biological function, disease implication, chemical inhibition, and therapeutic intervention. *Chemical Reviews*, 2011, vol. 111, no. 10, pp. 6130–6185. <https://doi.org/10.1021/cr200085w>
54. Nikolaou A., Kokotou M. G., Vasilakaki S., Kokotos G. Small-molecule inhibitors as potential therapeutics and as tools to understand the role of phospholipases A<sub>2</sub>. *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2019, vol. 1864, no. 6, pp. 941–956. <http://doi:10.1016/j.bbalip.2018.08.009>
55. Mouchlis V. D., Mavromoustakos T. M., Kokotos G. Design of new secreted phospholipase A<sub>2</sub> inhibitors based on docking calculations by modifying the pharmacophore segments of the FPL67047XX inhibitor. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 2010, vol. 24, no. 2, pp. 107–115. <https://doi.org/10.1007/s10822-010-9319-7>
56. Kokotos G., Hsu Y.-H., Burke J., Baskakis C., Kokotos C., Magrioti V., Dennis E. Potent and selective fluoroketone inhibitors of group VIA calcium-independent phospholipase A<sub>2</sub>. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2010, vol. 53, no. 9, pp. 3602–3610. <https://doi.org/10.1021/jm901872v>
57. Mouchlis V. D., Limnios M. G., Kokotou E., Barbayianni G., Kokotos J. A., McCammon E. A., Dennis. Development of potent and selective inhibitors for group VIA calcium-independent phospholipase A<sub>2</sub> guided by molecular dynamics and structure-activity relationships. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, vol. 59, no. 9, pp. 4403–4414. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00377>
58. Seehra J. S., Kaila N., Mckew J. S., Lovering F., Bemis J. E., Xiang Y. *Phospholipase inhibitors*. US Patent no. 2003153751 USA. Publ. date 14.08.2003.
59. Assogbaa L., Ahamada-Himidia A., Meddad-Bel Habicha N., D. Aouna D., Bouklia L., Massicota, F., Mounier C. M., Hueta J., Lamouri A., Ombetta J.-E., Godfroid J.-J., Donga, C.-Z., Heymans F. Inhibition of secretory phospholipase A<sub>2</sub>. 1-Design, synthesis and structure-activity relationship studies starting from 4-tetradecyloxybenzamide to obtain specific inhibitors of group II sPLA<sub>2</sub>s. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2005, vol. 40, no. 9, pp. 850–861. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2005.03.027>
60. Litvinko N. M., Kuchuro S. V., Zheldakova T. A., Filich E. R. *Method for determining the effector properties of physiologically active compounds*. Patent BY no. 5752. Publ. date 30.12.2003 (in Russian).
61. Litvinko N. M., Kuchuro S. V., Rakhuba G. N., Rubinov D. B., Zheldakova T. A. *Method for determining the anti-hemolytic activity of a chemical compound*. Patent BY no. 10604. Publ. date 30.06.2008 (in Russian).
62. Rubinov D. B., Zheldakova T. A., Litvinko N. M., Kuchuro S. V., Rakhuba G. N. *3,5-isubstituted thiotetronic acid derivatives exhibiting antiphospholipase activity with an antipancreatic profile of action, and a method for their preparation*. Patent BY no. 10191. Publ. date 28.02.2008 (in Russian).
63. Rubinov D. B., Zheldakova T. A., Litvinko N. M., Kuchuro S. V., Rakhuba G. N. *Derivatives of β-triketones of the thiophene series, exhibiting antiphospholipase activity of the antihemolytic action profile*. Patent BY №10192. Publ. date 28.02.2008 (in Russian).
64. Kuchuro S. V. *Mechanisms of interaction of phospholipase A<sub>2</sub>, prostaglandins and ethanol in the regulation of lipolysis in biological membranes*. Minsk, 2001. 130 p. (in Russian).
65. Rakhuba G. N. *Lipolytic reactions involving phospholipases A<sub>2</sub> and mechanisms of their regulation according to the principle of feedback*. Minsk, 2007. 143 p. (in Russian).
66. Gerlovsky D. O., Litvinko N. M., Skorostetskaya L. A., Kuchuro S. V., Kalinichenko E. N., Farina A. V. Phosphodiesterases of acyclovir – new inhibitors of pancreatic phospholipase A<sub>2</sub>. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2010, vol. 54, no. 1, pp. 75–82 (in Russian).
67. Deems R. A., Eaton B. R., Dennis E. A. Kinetic analysis of phospholipase A<sub>2</sub> activity toward mixed micelles and its implications for the study of lipolytic enzymes. *Journal of Biological Chemistry*, 1975, vol. 250, no. 23, pp. 9013–9020.

68. Hendrickson H. S., Dennis E. A. Analysis of the kinetics of phospholipid activation of cobra venom phospholipase  $A_2$ . *Journal of Biological Chemistry*, 1984, vol. 259, no. 9, pp. 5740–5744.

69. Litvinko N. M., Kalinichenko E. N., Zhernosek E. V., Kuchuro S. V. *Konjugate of phospholipid with modified nucleoside, pharmaceutical composition and agent that increases resistance to the action of pancreatic phospholipase  $A_2$* . Patent BY № 11905. Publ. date 28.02.2008 (in Russian).

70. Litvinko N. M., Remeeva E. A., Artsemyeva J. N., Zinchenko A. I., Gerlovsky D. O., Birichevskaya L. L., Pavluchenko N. I., Mikhailopulo I. A. The enzymatic synthesis of Phospholipide-Nucleoside conjugates and study of their substrate activity for the digestive phospholipase  $A_2$ . *Journal of Nanotechnology: Nanomedicine & Nanobiotechnology*, 2020, vol. 7, pp. 55–56.

71. Wu Y., Raymond B., Goossens P. L., Njamkepo E., Guiso N., Paya M., Touqui L. Type-IIA secreted phospholipase  $A_2$  is an endogenous antibiotic-like protein of the host. *Biochimie*, 2010, vol. 92, pp. 583–587. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2010.01>

72. Al-Attar A., Alimova Y., Kirakodu S., Kozal A., Novak M. J., Stromberg A. J., Orraca L., Gonzalez-Martinez J., Martinez M., Ebersole J. L., Gonzalez O. A. Activation of Notch-1 in oral epithelial cells by *P. gingivalis* triggers the expression of the antimicrobial protein PLA<sub>2</sub>-IIA. *Mucosal Immunology*, 2018, vol. 11, no. 4, pp. 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41385-018-0014-7>

73. Jimenez M. A continuous spectrophotometric assay for phospholipase  $A_2$  activity. *Analytical Biochemistry*, 2003, vol. 319, no. 1, pp. 131–137. [https://doi.org/10.1016/s0003-2697\(03\)00331-2](https://doi.org/10.1016/s0003-2697(03)00331-2)

74. Litvinko N. M., Antonchik G. N., Glushakova T. G., Gerlovsky D. O. Features of the protein-protein interaction of cytochrome P450 and PLA<sub>2</sub> of different nature revealed using circular dichroism spectroscopy. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2016, vol. 60, no. 6, pp. 64–71 (in Russian).

75. Litvinko N. M., Skorostetskaya L. A., Gudko T. G., Tsimokhova M. M., Kamyshnikov V. S., Vizhinis E. I., Vorobey V. A. Supramolecular complex of fatty acid with hemoglobin as an indicator of phospholipolysis to identify experimental pancreatitis. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2016, vol. 60, no. 4, pp. 82–88 (in Russian).

76. Litvinko N. M., Skorostetskaya L. A., Kuchuro S. V., Rakhuba G. N. *Method for determining the activity of phospholipase  $A_2$  in blood serum*. Patent BY № 12552. Publ. date 30.06.2009 (in Russian).

77. Litvinko N. M., Skorostetskaya L. A. *Method for diagnosing pancreatitis by  $A_2$  level of serum phospholipase activity*. Patent BY № 13143. Publ. date 30.04.2010 (in Russian).

78. Burlakova E. B. Bioantioxidants. *Russian Journal of General Chemistry*, 2007, vol. 77, no. 11, pp. 1983–1993. <https://doi.org/10.1134/s107036320711028x>

### Информация об авторах

Литвинко Наталья Михайловна – д-р хим. наук, доцент, зав. лаб. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Акад. В. Ф. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: al\_h@mail.ru

### Information about the authors

Natalia M. Litvinko – D. Sc. (Chemistry), Associate Professor, Head of the laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Science of Belarus (5/2, Acad. V. F. Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: al\_h@mail.ru