



БЕЛОРУССКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ

ЖУРНАЛ  
БЕЛОРУССКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

# ХИМИЯ

---

JOURNAL  
OF THE BELARUSIAN STATE UNIVERSITY

# CHEMISTRY

Издается с января 1969 г.  
(до 2017 г. – под названием «Вестник БГУ.  
Серия 2, Химия. Биология. География»)

Выходит один раз в полугодие

---

# 1

# 2022

---

МИНСК  
БГУ

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

**Главный редактор** **ИВАШКЕВИЧ О. А.** – академик НАН Беларуси, доктор химических наук; главный научный сотрудник учреждения БГУ «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем», Минск, Беларусь.  
E-mail: ivashkevich@bsu.by

**Ответственный секретарь** **ВОРОБЬЕВА С. А.** – кандидат химических наук; ведущий научный сотрудник учреждения БГУ «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем», Минск, Беларусь.  
E-mail: vorobyova@bsu.by

- Агабеков В. Е.** Институт химии новых материалов Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь.
- Бильдюкевич А. В.** Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь.
- Гапоник Н.** Дрезденский технический университет, Дрезден, Германия.
- Кокотей В.** Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, Киев, Украина.
- Кокорин А.** Институт химической физики им. Н. Н. Семенова Российской академии наук, Москва, Россия.
- Кулак А. И.** Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь.
- Левчик С.** Научно-исследовательский центр компании «Израэл кэмикл лимитэд – индастриэл продуктс», Крев-Кёр, США.
- Пармон В.** Сибирское отделение Российской академии наук, Новосибирск, Россия.
- Рогач А.** Городской университет Гонконга, Гонконг, Китай.
- Свиридов Д. В.** Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь.

## EDITORIAL BOARD

**Editor-in-chief** **IVASHKEVICH O. A.**, academician of the National Academy of Sciences of Belarus, doctor of science (chemistry); chief researcher at the Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University, Minsk, Belarus.  
E-mail: ivashkevich@bsu.by

**Executive secretary** **VOROBYOVA S. A.**, PhD (chemistry); leading researcher at the Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University, Minsk, Belarus.  
E-mail: vorobyova@bsu.by

- Agabekov V. E.** Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus.
- Bildyukevich A. V.** Institute of Physical and Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus.
- Gaponik N.** Technische Universität Dresden, Dresden, Germany.
- Kokorin A.** Semenov Institute of Chemical Physics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia.
- Kokotay V.** Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine.
- Kulak A. I.** Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus.
- Levchik S.** Research Centre of Israel Chemicals Limited – Industrial Products, Creve Coeur, USA.
- Parmon V.** Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia.
- Rogach A.** City University of Hong Kong, Hong Kong, China.
- Sviridov D. V.** Belarusian State University, Minsk, Belarus.

УДК 544.77+544.032.12

## АГРЕГАТИВНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ КОЛЛОИДНЫХ 3D- И 2D-НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА, СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ 11-МЕРКАПТОУНДЕКАНОВОЙ КИСЛОТОЙ, В ПРИСУТСТВИИ ОДНОЗАРЯДНЫХ КАТИОНОВ

П. О. МАЛАХОВСКИЙ<sup>1)</sup>, А. В. РАШКЕВИЧ<sup>2)</sup>, Е. А. МИНАКОВ<sup>2)</sup>, М. В. АРТЕМЬЕВ<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Научно-исследовательский институт физико-химических проблем БГУ,  
ул. Ленинградская, 14, 220006, г. Минск, Беларусь

<sup>2)</sup>Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Изучена агрегативная устойчивость коллоидных квазисферических наночастиц и двумерных нанопластин серебра, стабилизированных 11-меркаптоундекановой кислотой, в присутствии фосфатных буферов, содержащих различные однозарядные катионы ( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ), а также трис-буфера с pH 8,0 и концентрацией 0,02 моль/л, которые соответствуют условиям конъюгации наночастиц с биомолекулами посредством карбодимидной реакции. Выявлено, что в присутствии Na-фосфатного буфера наблюдается агрегация нанопластин серебра, тогда как квазисферические наночастицы при тех же условиях остаются коллоидно-стабильными. Различие в агрегативной устойчивости 3D- и 2D-наночастиц серебра связано с возрастанием показателя константы диссоциации 11-меркаптоундекановой кислоты на базальных гранях нанопластин и увеличением специфического мостикового

---

### Образец цитирования:

Малаховский ПО, Рашкевич АВ, Минаков ЕА, Артемьев МВ. Агрегативная устойчивость коллоидных 3D- и 2D-наночастиц серебра, стабилизированных 11-меркаптоундекановой кислотой, в присутствии однозарядных катионов. *Журнал Белорусского государственного университета. Химия*. 2022;1:3–17.  
<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2022-1-3-17>

### For citation:

Malakhovsky PO, Rashkevich AV, Minakov EA, Artemyev MV. Aggregative stability of colloidal 3D and 2D silver nanoparticles, stabilised by 11-mercaptoundecanoic acid, in the presence of singly charged cations. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry*. 2022;1:3–17. Russian.  
<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2022-1-3-17>

---

### Авторы:

**Павел Олегович Малаховский** – младший научный сотрудник лаборатории нанохимии.  
**Алексей Владимирович Рашкевич** – студент химического факультета. Научный руководитель – М. В. Артемьев.  
**Егор Андреевич Минаков** – выпускник химического факультета. Научный руководитель – М. В. Артемьев.  
**Михаил Валентинович Артемьев** – доктор химических наук, профессор; заведующий лабораторией нанохимии.

### Authors:

**Pavel O. Malakhovsky**, junior researcher at the laboratory of nanochemistry.  
[pashkamusic@gmail.com](mailto:pashkamusic@gmail.com)  
**Alexey V. Rashkevich**, student at the faculty of chemistry.  
[alexraschkewitsch@gmail.com](mailto:alexraschkewitsch@gmail.com)  
**Egor A. Minakov**, graduate at the faculty of chemistry.  
[admiral.vorcosigan@gmail.com](mailto:admiral.vorcosigan@gmail.com)  
**Mikhail V. Artemyev**, doctor of science (chemistry), full professor; head of the laboratory of nanochemistry.  
[m\\_artemyev@yahoo.com](mailto:m_artemyev@yahoo.com)

взаимодействия наночастица – катион – наночастица, которое можно устранить путем введения в лигандную оболочку наночастицы неионогенного спейсера 11-меркаптоундеканола. Нанопластины серебра со смешанной лигандной оболочкой из 11-меркаптоундекановой кислоты и 11-меркаптоундеканола обладают повышенной коллоидной стабильностью в широком диапазоне pH.

**Ключевые слова:** коллоидные наночастицы серебра; нанопластины серебра; коллоидная стабильность; лигандный слой.

**Благодарность.** Работа выполнена в рамках задания 2.1.04.01 государственной программы научных исследований «Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биоорганическая химия». Частичная финансовая поддержка осуществлялась за счет гранта Всемирной федерации ученых (CERN, Швейцария). Авторы выражают благодарность К. В. Скроцкой за помощь в проведении ПЭМ-исследований.

## AGGREGATIVE STABILITY OF COLLOIDAL 3D AND 2D SILVER NANOPARTICLES, STABILISED BY 11-MERCAPTOUNDECANOIC ACID, IN THE PRESENCE OF SINGLY CHARGED CATIONS

P. O. MALAKHOVSKY<sup>a</sup>, A. V. RASHKEVICH<sup>b</sup>, E. A. MINAKOV<sup>b</sup>, M. V. ARTEMYEV<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Research Institute for Physical Chemical Problems, Belarusian State University,  
14 Leningradskaya Street, Minsk 220006, Belarus

<sup>b</sup>Belarusian State University, 4 Nezavisimosti Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: P. O. Malakhovsky (pashkamusic@gmail.com)

We studied the aggregative stability of colloidal silver quasi-spherical nanoparticles and two-dimensional nanoplates, stabilised by 11-mercaptoundecanoic acid, in the presence of phosphate buffers containing different singly charged cations ( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ) and tris-HCl at pH 8.0 and concentration 0.02 mol/L which mimics the carbodiimide conjugation conditions of nanoparticles with biomolecules. Aggregation of silver nanoplates occurs in the presence of Na-phosphate buffer whereas at the same conditions the quasi-spherical nanoparticles retain colloidal stability. The difference in colloidal stability between 3D and 2D silver nanoparticles is due to the increase of the apparent acid dissociation constant on the nanoplates' basal faces and the subsequent increase in specific bridging interactions nanoparticle – cation – nanoparticle which can be eliminated by introducing of non-ionic spacer (11-mercapto-1-undecanol) in the ligand layer. Silver nanoplates with mixed ligand layer have increased colloidal stability across the pH.

**Keywords:** colloidal silver nanoparticles; silver nanoplates; colloidal stability; ligand layer.

**Acknowledgements.** This work was conducted under the project 2.1.04.01 of the state program of scientific research «Chemical processes, reagents and technologies, bioregulators and bioorganic chemistry». We thank World Federation of Scientists (CERN, Switzerland) for partial financial support. We are grateful to K. V. Skrotskaya for transmission electron microscopic investigation.

### Введение

Коллоидные плазмонные наночастицы серебра (НЧС) и нанопластины серебра (НПС) находят широкое применение в качестве субстратов для гигантского (поверхностно-усиленного) комбинационного рассеяния, поверхностно-усиленной люминесценции, а также материалов для биомедицины (например, фототермической терапии) [1–3]. Коллоидные НЧС и НПС используются как активные элементы колориметрических биоаналитических экспресс-систем, позволяющих визуально детектировать присутствие аналита в пробах. Колориметрические биосенсоры условно можно разделить на два типа. Принцип действия биосенсоров первого типа основывается на изменении локального диэлектрического окружения в близости от поверхности НЧС либо НПС, что вызывает спектральные сдвиги пиков локализованного поверхностного плазмонного резонанса (ЛППР) [4; 5]. Аналитическим сигналом в биосенсорах второго типа являются агрегация коллоидных НЧС либо НПС в результате специфического взаимодействия их лигандных оболочек с молекулами аналита и визуально детектируемое изменение цвета коллоидного раствора [6].

Коллоидная стабильность НЧС и НПС на всех этапах создания биосенсора является критическим параметром для их практического использования [7]. Для улучшения коллоидной и химической стабильности поверхность НЧС и НПС функционализируют  $\gamma$ -меркаптокарбоксикислотами, которые формируют

плотнупакованные самоорганизованные монослои (СОМ) на поверхности НЧС и НПС [8]. Было показано, что коллоидные наночастицы золота с лигандной оболочкой из 11-меркаптоундекановой кислоты (МУК) могут играть роль сенсора на ионы  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$  [9]. Для детектирования молекул аналита карбоксильные группы лигандного слоя дополнительно конъюгируют с биомолекулами (антителами), обладающими специфической аффинностью. Для этого широко используется карбодиимидная реакция между карбоксильными группами на поверхности наночастиц и первичными группами биомолекул в фосфатных буферных растворах с pH 6,0–9,0 и ионной силой 0,01–0,02 моль/л [10–13]. Содержание катионов щелочных металлов в таких системах может вызывать агрегацию НЧС и НПС, так как согласно теории коллоидной стабильности Дерягина – Ландау – Фервея – Овербека (ДЛФО) критическая концентрация агрегации (ККА) для однозарядных ионов находится в пределах 0,025–0,150 моль/л [14; 15]. Из дополненной теории ДЛФО следует, что ККА зависит от природы катиона, в частности монотонно возрастает с увеличением его размера, что соответствует эмпирическому лиотропному ряду Гофмейстера ( $Li^+ < Na^+ < K^+ < Rb^+ < Cs^+$ ). Однако ранее на примере латексных микрочастиц было продемонстрировано отклонение от ряда Гофмейстера за счет ион-специфических эффектов [16]. Считается, что противоионы вызывают агрегацию посредством суммы взаимодействий – вандерваальсового, электростатического, мостикового (частица – противоион – частица), из которых наибольший вклад вносит мостиковое взаимодействие [17]. Ранее было продемонстрировано, что ККА катионов щелочных металлов для коллоидных наночастиц золота со средними размерами 4,5 и 6,5 нм, стабилизированных МУК, ввиду мостикового взаимодействия нелинейно зависит от размера катиона при pH 11,5, увеличиваясь в ряду  $Rb^+ < Na^+ < Li^+ < K^+ \ll Cs^+$  [17]. Показано, что ККА катионов уменьшается с увеличением размера наночастиц. Однако коллоидная стабильность коллоидных НПС и НЧС размером 35–40 нм в условиях карбодиимидного присоединения детально не изучалась и методы предотвращения агрегации НПС в таких условиях не разработаны.

В данной работе исследовалась агрегативная устойчивость коллоидных НЧС двух геометрий – квазисферических 3D-НЧС размером 35 нм и 2D-НПС диаметром 42 нм и толщиной 8 нм, стабилизированных МУК или смесью МУК и 11-меркаптоундеканола (МУН). Агрегативная устойчивость наночастиц изучалась в присутствии фосфатных буферов, содержащих в качестве противоиона катионы лития, натрия, калия, цезия, а также трис(гидроксиметил)аминометан-гидрохлоридного буфера (далее – трис-буфер) с pH 8,0 и концентрацией 0,02 моль/л и растворов карбонатов калия и натрия аналогичной концентрации с pH 10,2–10,3.

### Материалы и методы исследования

**Синтез НПС.** Коллоидный раствор НПС был получен по двухстадийной методике, в которой в качестве серебряных зародышей использовали НЧС размером 4,5 нм, синтезированные по модифицированной технологии, представленной в работах [18; 19]. При комнатной температуре в 49 мл дистиллированной воды последовательно смешивали 0,2 г полимера Pluronic® F-127, 0,15 ммоль трехзамещенного цитрата натрия и 1 мл 10 моль/л водного раствора  $AgNO_3$ . Через 5 мин в смесь при интенсивном перемешивании добавляли 0,6 мл охлажденного водного тетрагидридобората натрия с концентрацией 0,067 моль/л. Реакционную смесь дополнительно перемешивали в течение 30 мин и хранили при 4 °С. Далее 0,34 ммоль трехзамещенного цитрата натрия растворяли при перемешивании в 170 мл дистиллированной воды, к полученному раствору приливали 30 мл свежего коллоидного раствора зародышевых НЧС, а затем добавляли 13 мкл гидразингидрата. После этого при интенсивном перемешивании к реакционной смеси по каплям прибавляли 11,2 мл 0,3 моль/л водного раствора  $AgNO_3$  со скоростью 20 мл/ч до достижения спектрального положения пика дипольной моды продольного ЛППР НПС  $\lambda \approx 615$  нм.

**Синтез квазисферических НЧС.** Коллоидный раствор квазисферических НЧС диаметром 35 нм получали по методике, описанной в работе [20]. К 100 мл 0,16 моль/л водного раствора трилона Б добавляли 4 мл 0,1 моль/л раствора NaOH. Реакционную смесь нагревали до 95 °С, при интенсивном перемешивании добавляли 1 мл 0,026 моль/л водного раствора  $AgNO_3$  и дополнительно перемешивали при 95 °С в течение 1 ч, а затем охлаждали раствор до комнатной температуры.

**Химическая модификация поверхности НЧС и НПС.** Сначала 1 мг МУК растворяли в 1 мл 0,1 моль/л водного раствора  $NaHCO_3$ , содержащего 5 % изопропанола. Полученную смесь центрифугировали при 4500 об/мин в течение 5 мин, затем аликвоту надосадочного раствора прибавляли при перемешивании к 20 мл коллоидного раствора квазисферических НЧС либо НПС. После перемешивания в течение 20 мин полученный коллоидный раствор квазисферических НЧС очищали центрифугированием (7800 об/мин, 10 мин), а коллоидный раствор НПС – посредством диализа в 1 ммоль/л К-фосфатном буфере с pH 7,0 в течение 48 ч. Для функционализации НПС смесями МУК и МУН в 1 мл изопропанола растворяли 1 мг МУК и 2 мг МУН (молярное соотношение МУК и МУН – 1 : 1) либо 1 мг МУК и 3 мг МУН (молярное соотношение МУК и МУН – 1 : 3). Аликвоты полученных растворов

(100 мкл) прибавляли при перемешивании к аликвотам коллоидного раствора НПС (10 мл), которые после перемешивания в течение 20 мин очищали диализом в 1 ммоль/л К-фосфатном буфере с pH 7,0 в течение 48 ч.

**Приготовление буферных систем и растворов электролитов.** Фосфатные буферы получали по стандартным методикам растворением смесей солей моно- и дизамещенных фосфатов щелочных металлов в дистиллированной воде [21]. Были приготовлены Na-, K-, Cs-фосфатные буферы с концентрацией 0,2 моль/л, Li-фосфатный буфер с концентрацией 0,02 моль/л, а также трис-буфер с pH 8,0 и растворы карбонатов калия и натрия с концентрацией 0,2 моль/л.

**Исследование агрегативной устойчивости НЧС и НПС.** Аликвоты коллоидных растворов НЧС и НПС, стабилизированных МУК и смесью МУК и МУН, объемом 60–90 мкл разбавляли в 1,74–1,71 мл дистиллированной воды до конечной концентрации наночастиц 0,08 нмоль/л. К полученным аликвотам прибавляли 200 мкл фосфатных буферов либо трис-буфера при быстром перемешивании. В течение 24 ч периодически регистрировали спектры экстинкции коллоидных растворов в видимой области, измеряли гидродинамический диаметр и дзета-потенциал НЧС и НПС методом динамического рассеяния света (ДРС). Спустя 3 ч аликвоты смесей наносили на сеточки для ПЭМ-исследования с коллоидиевой поддерживающей пленкой. Методика незначительно отличалась в случае Li-фосфатного буфера, обладающего низкой растворимостью: аликвоты коллоидных растворов наночастиц объемом 60–90 мкл разбавляли в 1,94–1,91 мл Li-фосфатного буфера с ионной силой 0,02 моль/л до концентрации наночастиц 0,08 нмоль/л.

Морфологию НЧС исследовали с помощью просвечивающего электронного микроскопа LEO-906E (Zeiss, Германия). Спектры экстинкции коллоидных растворов регистрировали спектрофотометром HR2000+ с источником света DH-2000 (Ocean Optics Inc., Великобритания). Измерение гидродинамических диаметров и дзета-потенциалов наночастиц проводили методом ДРС на приборе Zetasizer Nano ZS90 (Malvern, Великобритания).

### Результаты и их обсуждение

На рис. 1 представлены просвечивающие электронные микрофотографии (ПЭМ-снимки) НЧС и НПС, а также спектры экстинкции коллоидных растворов НЧС и НПС до и после обработки МУК, а также смесями МУК и МУН. Согласно данным ПЭМ-исследований средний размер квазисферических НЧС составляет  $(34,6 \pm 12,4)$  нм, средний латеральный размер НПС –  $(42,4 \pm 10,6)$  нм, а толщина –  $(8,4 \pm 1,1)$  нм. На рис. 1, в, г, представлены спектры экстинкции коллоидных растворов квазисферических НЧС и НПС до и после обработки МУК либо смесями МУК и МУН. В спектрах экстинкции необработанных квазисферических НЧС наблюдается пик ЛППР при  $\lambda = 405$  нм (см. рис. 1, в). После обработки коллоидных НЧС МУК были зафиксированы длинноволновый сдвиг пика ЛППР на  $\approx 3$  нм и снижение его интенсивности. В спектре экстинкции необработанных НПС наблюдаются три пика ЛППР (при  $\lambda = 454$  нм,  $\lambda = 638$  нм и  $\lambda = 335$  нм), относящихся к различным модам ЛППР в двумерных НПС [22]. При обработке коллоидных НПС МУК также отмечаются длинноволновые сдвиги и падение интенсивностей пиков ЛППР, что связано с образованием на поверхности НЧС и НПС плотноупакованного СОМ МУК, приводящего к изменению локального диэлектрического окружения [23]. В спектрах экстинкции не наблюдается значительного уширения пиков ЛППР, появления дополнительных пиков и плеч. Это свидетельствует о том, что в процессе лигандного обмена квазисферические НЧС и НПС сохраняют коллоидную стабильность и агрегация отсутствует.

На рис. 2 представлены спектры экстинкции коллоидных растворов квазисферических НЧС и НПС, обработанных МУК, в присутствии фосфатных буферов с pH 8,0 и концентрацией 0,02 моль/л, а также изменение их гидродинамического диаметра и дзета-потенциала спустя 24 ч после смешения.

В спектрах экстинкции коллоидных растворов квазисферических НЧС видно, что в присутствии Li-, K-, Na-, Cs-фосфатных буферов и трис-буфера с концентрацией 0,02 моль/л происходит снижение интенсивности пика ЛППР в пределах 15 % (по степени снижения в ряду  $K^+ > Cs^+ \approx Na^+ > \text{трис} > Li^+$ ). При этом в спектрах не наблюдается значительного уширения пиков, появления дополнительных длинноволновых пиков и плеч ЛППР, что может указывать на отсутствие агрегации квазисферических НЧС. Для детектирования возможной агрегации исследовался гидродинамический диаметр НЧС методом ДРС (см. рис. 2, в). Из рис. 2, в, видно, что в течение 24 ч гидродинамический диаметр НЧС увеличивается с 18 до 25–35 нм во всех коллоидных растворах, кроме Li-фосфатного буфера. Для Li-фосфатного буфера измеренный гидродинамический диаметр снижается до 15 нм, что может быть связано со сжатием сольватной оболочки НЧС [15]. Таким образом, в коллоидных растворах квазисферических НЧС в присутствии буферов с pH 8,0 и концентрацией 0,02 моль/л агрегация не наблюдается, и НЧС сохраняют коллоидную стабильность.

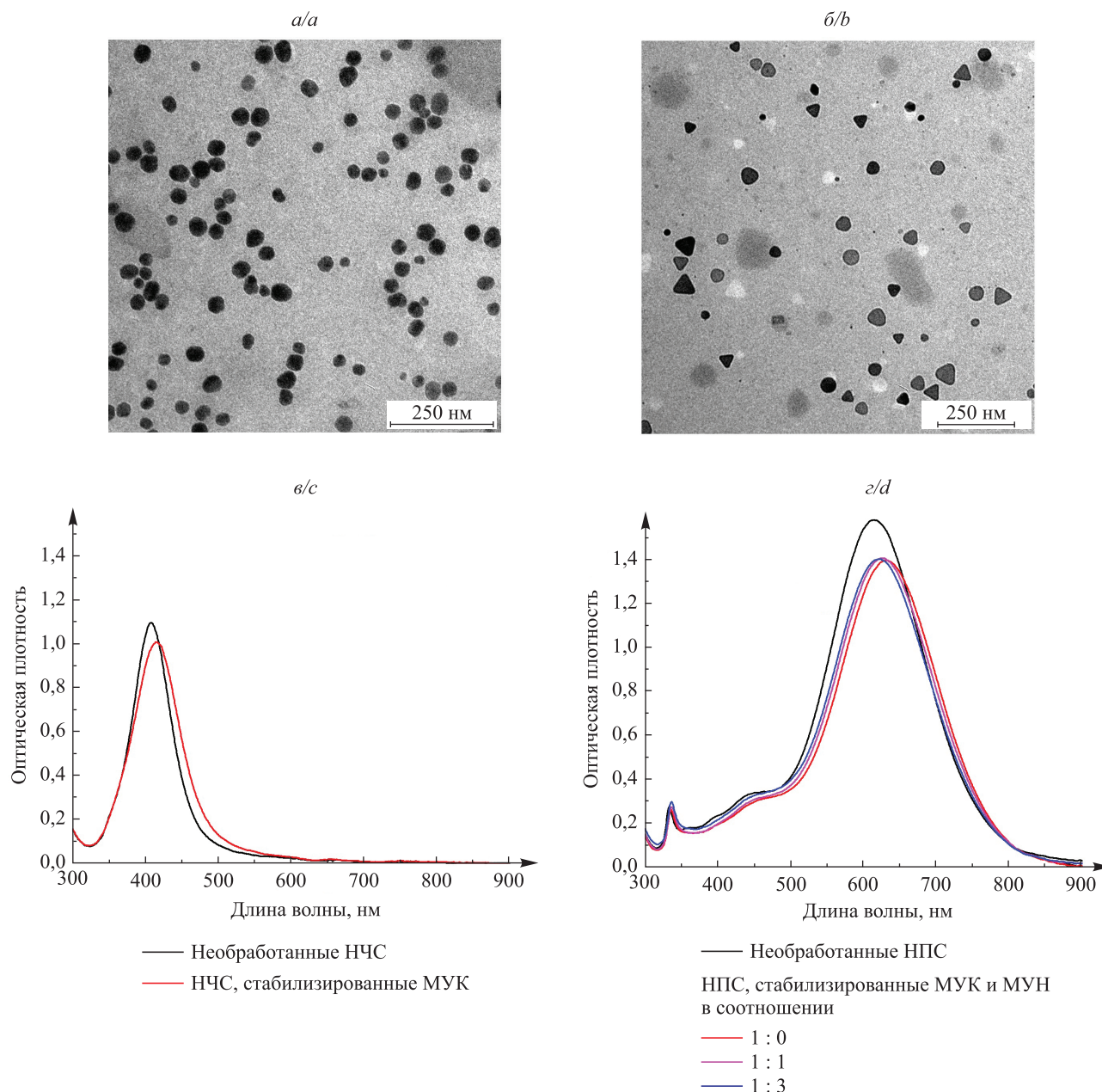
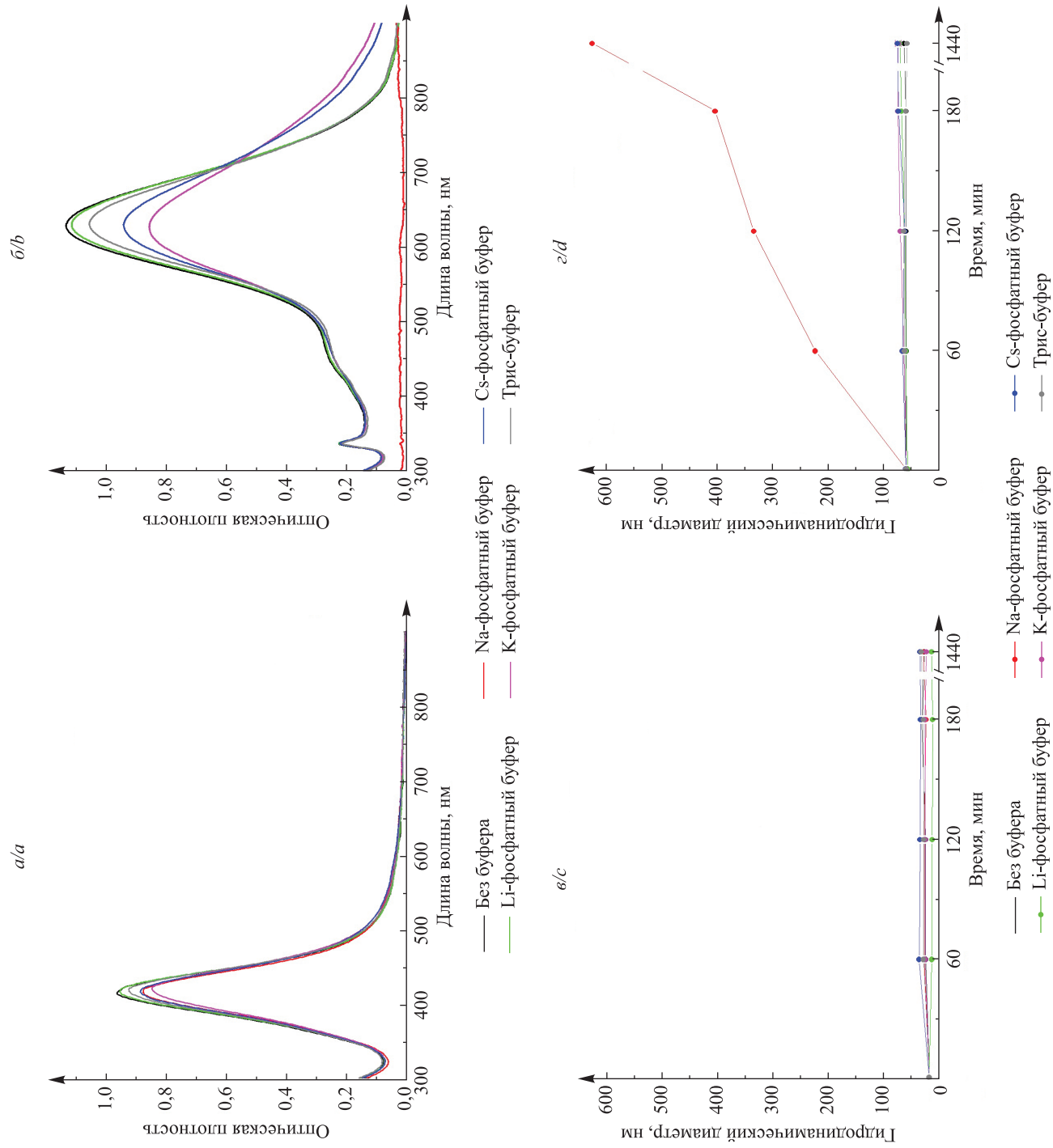


Рис. 1. ПЭМ-снимки индивидуальных квазисферических НЧС (а) и НПС (б), спектры экстинкции водных коллоидных растворов квазисферических НЧС (в) и НПС (г) до и после обработки МУК либо смесями МУК и МУН

Fig. 1. Transmission electron microscopic images of individual silver nanoparticles (a) and nanoplates (b), extinction spectra of silver nanoparticles (c) and nanoplates (d) colloidal solutions before and after treatment with 11-mercaptoundecanoic acid or 11-mercaptoundecanoic acid/11-mercapto-1-undecanol

По данным ДРС зета-потенциал квазисферических НЧС увеличивается в присутствии Li- и Cs-фосфатных буферов и уменьшается в присутствии K- и Na-фосфатных буферов, а также трис-буфера (по степени уменьшения в ряду  $\text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{трис}$ ) (см. рис. 2, д). Снижение зета-потенциала НЧС может быть связано с образованием ионных пар катионов и карбоксильных групп лигандного слоя наночастиц, различных по силе связи в зависимости от размера и сольватной оболочки катионов. Ранее методом инфракрасной фемтосекундной спектроскопии с поляризационным разрешением было показано, что катионы  $\text{Na}^+$  образуют наиболее сильные ионные пары с ацетат-анионами в растворе [24]. Это может косвенно объяснить наибольшее падение зета-потенциала в присутствии Na-фосфатного буфера.



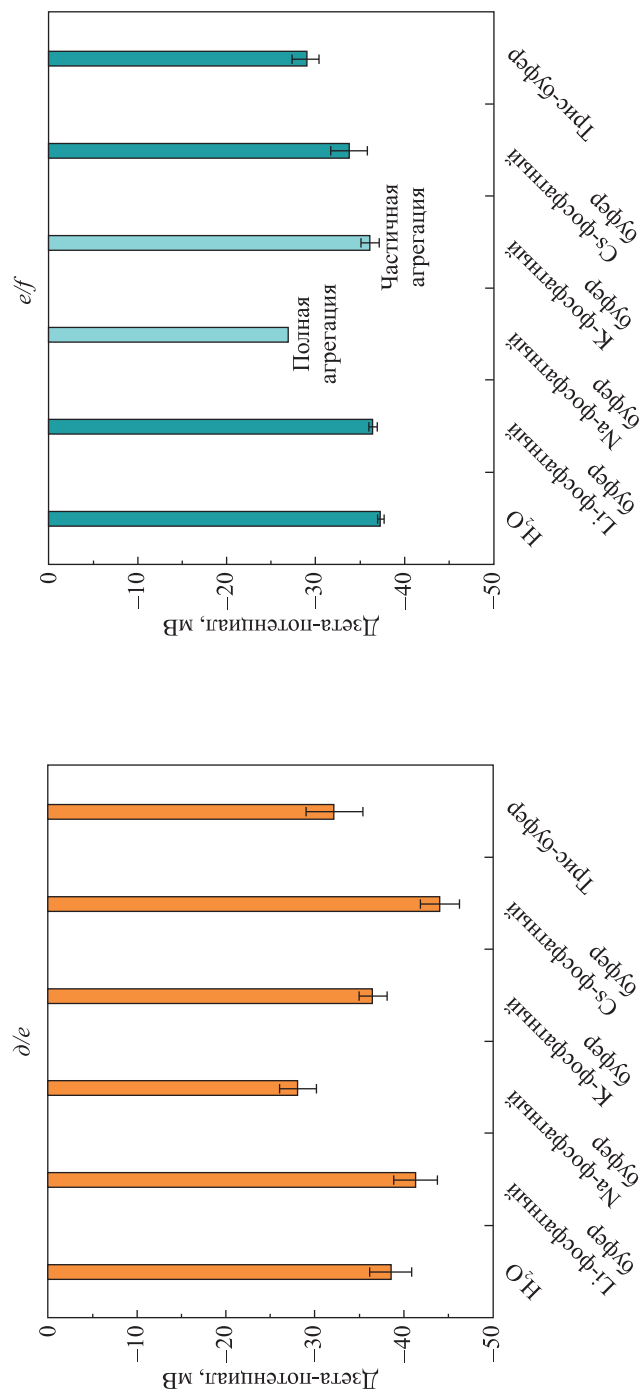


Рис. 2. Спектры экстинкции коллоидных растворов квазисферических НЧС через 24 ч после добавления буферов с pH 8,0 и концентрацией 0,02 моль/л (а), изменение их гидродинамического диаметра в течение 24 ч (б).

Спектры экстинкции коллоидных растворов НПС через 24 ч после добавления буферов с pH 8,0 и концентрацией 0,02 моль/л (б), изменение их гидродинамического диаметра в течение 24 ч (з) и дзета-потенциала спустя 24 ч (е)

Fig. 2. Extinction spectra of colloidal solutions of silver nanoparticles 24 h after mixing with buffers with pH 8.0 and concentration 0.02 mol/L (a), their measured hydrodynamic size within 24 h (c), zeta potentials after 24 h (e).

Extinction spectra of colloidal solutions of silver nanoplates 24 h after mixing with buffers with pH 8.0 and concentration 0.02 mol/L (d), their measured hydrodynamic size within 24 h (d), zeta potentials after 24 h (f)

На рис. 2, б, представлены спектры экстинкции коллоидных растворов НПС спустя 24 ч после их смешения с исследуемыми буферами. Присутствие буферов вызывает большее снижение интенсивности пиков ЛППР НПС, чем у НЧС, что может быть связано с более низкими значениями ККА катионов для больших по размеру наночастиц [17]. Это приводит к меньшей коллоидной стабильности НПС в данных условиях. Ряд влияния катионов одинаковой концентрации на снижение оптической плотности совпадает с рядом для квазисферических НЧС ( $K^+ > Cs^+ \approx Na^+ > \text{трис} > Li^+$ ), за исключением катионов  $Na^+$ . В присутствии Na-фосфатного буфера спустя 24 ч наблюдается практически полное исчезновение оптического сигнала от НПС, что свидетельствует об агрегации и потере коллоидной стабильности НПС и подтверждается более чем десятикратным увеличением измеренного гидродинамического диаметра НПС в коллоидном растворе (см. рис. 2, з). Таким образом, в случае Na-фосфатного буфера при pH 8,0 и концентрации 0,02 моль/л достигается  $KKA_{Na^+}$ , и система находится в режиме быстрой агрегации, а в случае K- и Cs-фосфатных буферов – в режиме медленной агрегации ( $KKA_{K^+, Cs^+} > 0,04$  моль/л), что согласуется с известными литературными данными [17]. Дзета-потенциал НПС снижается в присутствии буферов из-за ассоциации катионов с СОМ МУК [24] (наиболее значительно в случае Cs-фосфатного буфера и трис-буфера (см. рис. 2, е)). Предполагается, что движущей силой агрегации является мостиковое взаимодействие наночастица – катион – наночастица, наиболее сильно проявляющееся в присутствии катионов  $Na^+$ .

Ранее было показано, что уменьшение кривизны поверхности коллоидных наночастиц золота с адсорбированным на них СОМ МУК увеличивает показатель константы диссоциации ( $pK_a$ ) МУК за счет изменения локального окружения карбоксильных групп, на которое влияют электростатические, стерические, вандерваальсовы взаимодействия, а также плотность упаковки групп в СОМ [25]. Следовательно, можно предположить, что при pH 8,0 карбоксильные группы СОМ МУК на базальных гранях НПС будут частично, а на поверхности квазисферических НЧС полностью депротонированы. В зависимости от степени протонирования карбоксильных групп СОМ карбоновых кислот наблюдается различный ряд катионов по силе связи ионных пар с карбоксильными группами: при pH 9,0 он соответствует лиотропному ряду Гофмейстера ( $Li^+ < Na^+ < K^+ < Rb^+ < Cs^+$ ), а при pH 4,5 является обратным ему [24]. Таким образом, малая кривизна поверхности базальных граней НПС приводит к возрастанию  $pK_a$  МУК лигандного слоя, а увеличение степени протонирования карбоксильных групп – к наиболее сильному взаимодействию с катионами  $Na^+$ .

Если наблюдаемая агрегация НПС связана с ростом  $pK_a$  на плоских гранях и мостиковым взаимодействием НПС –  $Na^+$  – НПС, то индивидуальные НПС в агрегатах должны преимущественно ориентироваться базальными гранями друг к другу. Для изучения морфологии агрегатов НПС аликвоты коллоидных растворов спустя 3 ч после смешения с соответствующими буферами были нанесены на медные сеточки для ПЭМ-исследования и высушены. ПЭМ-снимки агрегатов НПС представлены на рис. 3.

На ПЭМ-снимке образца, полученного нанесением коллоидного раствора НПС без добавления буфера, НПС расположены преимущественно латерально на поддерживающей коллоидной пленке (см. рис. 3, а), что говорит о формировании случайных агрегатов из индивидуальных частиц в процессе высыхания коллоидного раствора на пленке. Латеральная ориентация индивидуальных НПС и их агрегатов наблюдается и в присутствии Li-фосфатного буфера (см. рис. 3, б). В присутствии Na-фосфатного буфера образуются агрегаты, в которых НПС ориентированы преимущественно базальными гранями друг к другу, причем значительная часть НПС в агрегатах ориентированы вертикально (поперечно поддерживающей пленке). Это свидетельствует о формировании агрегатов НПС в коллоидном растворе. Увеличение  $pK_a$  МУК на базальных плоских гранях НПС приводит к сильному специфическому мостиковому взаимодействию между гранями нескольких НПС через ионы  $Na^+$  и агрегации, что подтверждается ПЭМ-снимком.

Для практического использования НПС в качестве биосенсоров необходимо, чтобы они сохраняли коллоидную стабильность в биологических буферах (фосфатно-солевом и др.) в течение длительного времени (24 ч). Для улучшения их агрегативной устойчивости в присутствии Na- и K-фосфатных буферов и увеличения ККА катионов следует уменьшить мостиковое взаимодействие катионов с НПС. Для этого нужно устранить многоцентровое комплексобразование катионов с СОМ, увеличив в нем расстояние между карбоксильными группами путем введения неионогенного спейсера. В качестве спейсера в данной работе использовались молекулы МУН, образующего гомогенные СОМ с МУК [26]. Коллоидные НПС обрабатывались смесями МУК и МУН в молярном соотношении 1 : 1 и 1 : 3 для достижения содержания МУК в лигандной оболочке около 50 и 25 %. В качестве буферов были выбраны Na- и K-фосфатные буферы, которые формируют сходные сольватные оболочки  $[M(H_2O)]^+$ , однако Na-фосфатный буфер вызывает сильную агрегацию НПС, а K-фосфатный буфер ее практически не вызывает. На рис. 4, а и б, представлены спектры экстинкции коллоидных растворов НПС, стабилизированных МУК и МУН в различных молярных соотношениях, в присутствии Na- и K-фосфатных буферов спустя 24 ч после смешения.

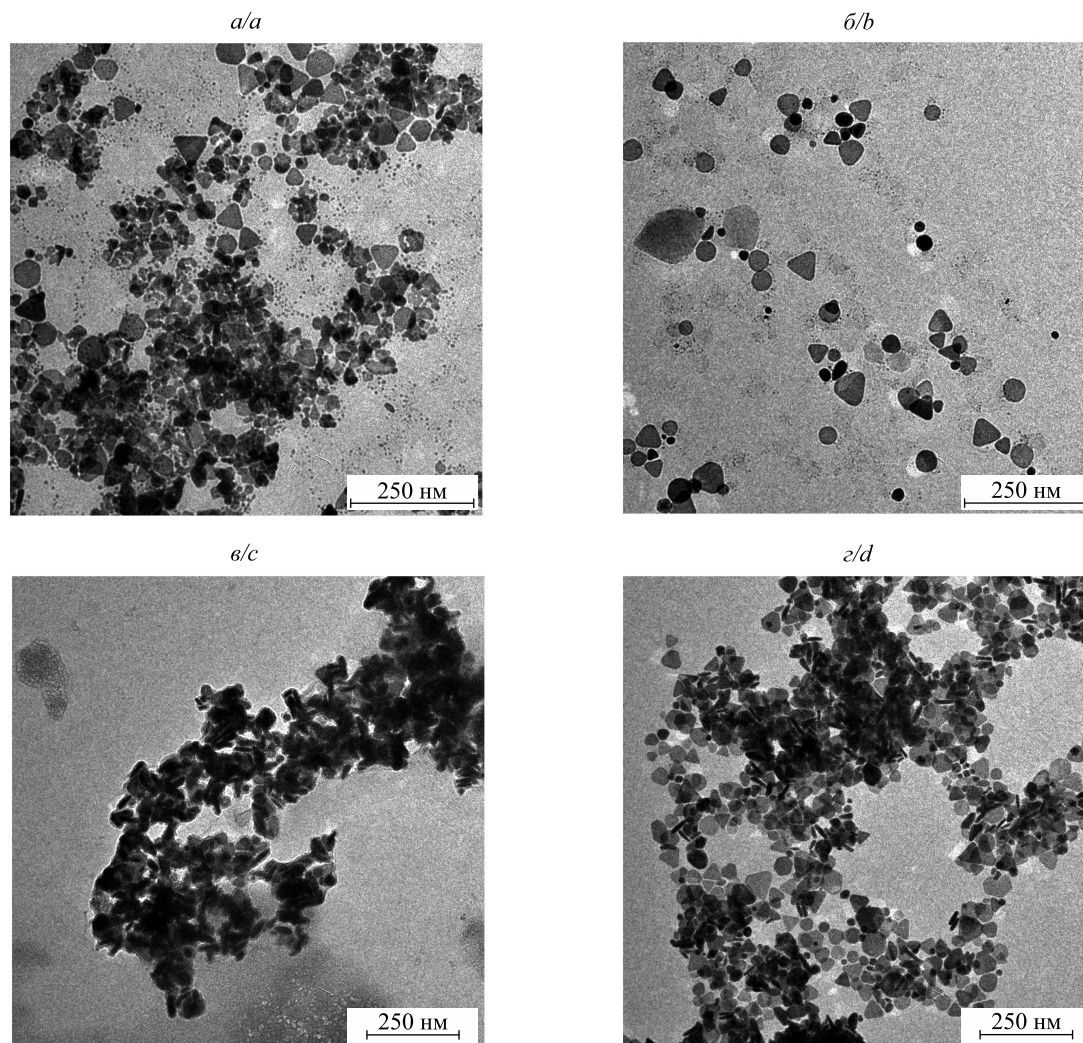


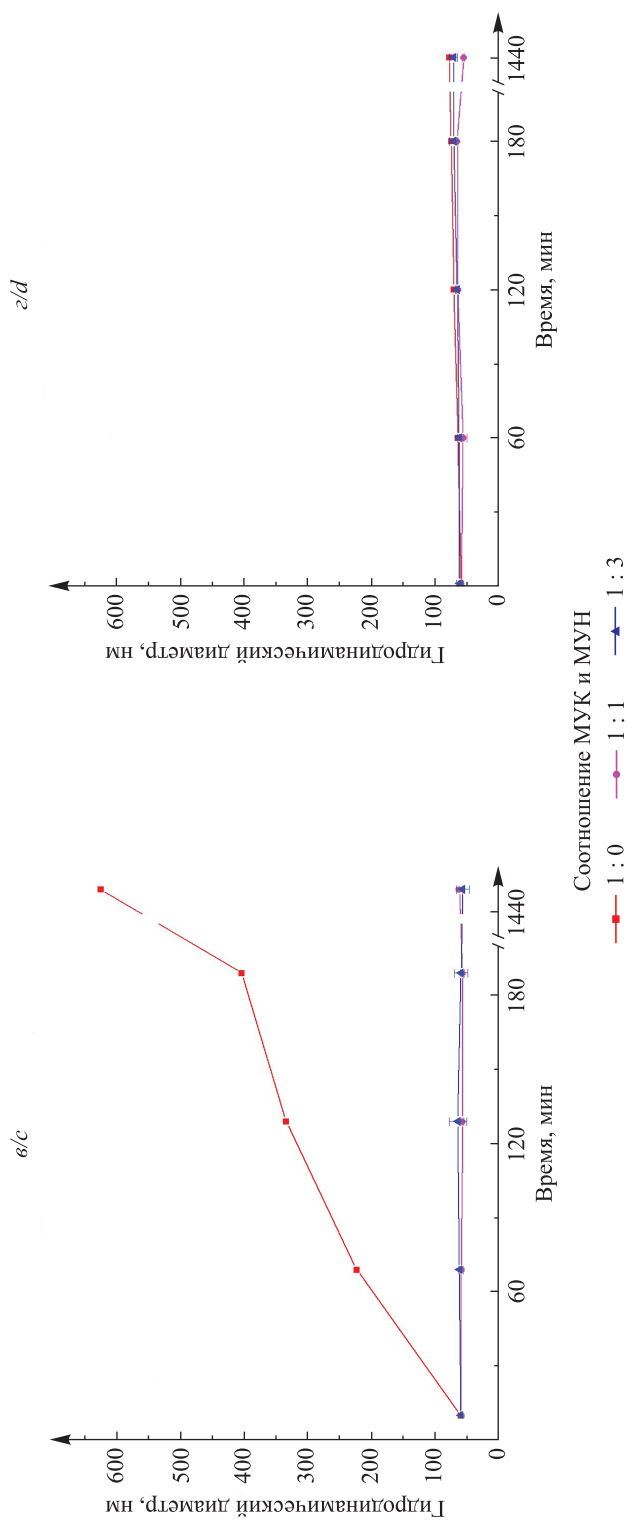
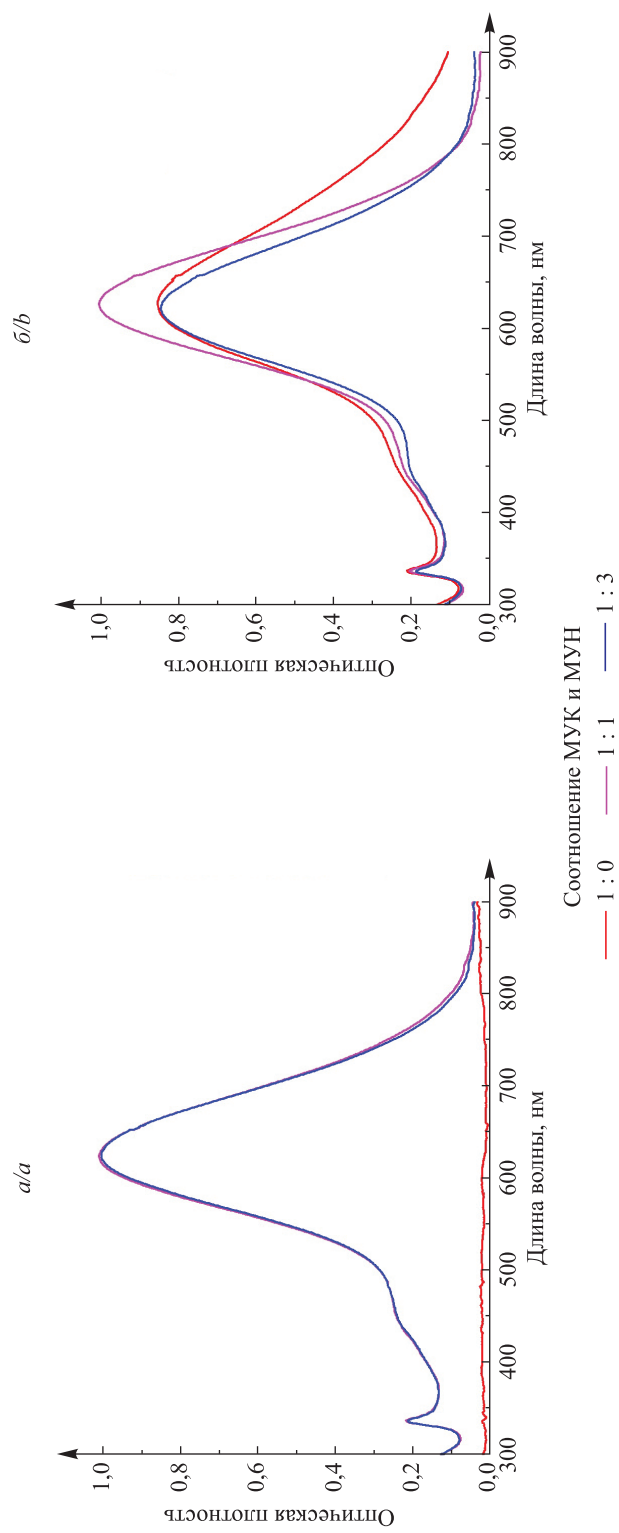
Рис. 3. ПЭМ-снимки НПС и их агрегатов до смешения с буферами (а) и спустя 3 ч после смешения с Li-фосфатным (б), Na-фосфатным (в) и Cs-фосфатным (г) буферами с pH 8,0 и концентрацией 0,02 моль/л

Fig. 3. Transmission electron microscopic images of silver nanoplates and their aggregates before mixing with buffers (a) and after 3 h after mixing with Li-phosphate (b), Na-phosphate (c) and Cs-phosphate (d) buffers at pH 8.0 and concentration 0.02 mol/L

Из рис. 4 видно, что в присутствии Na-фосфатного буфера с концентрацией 0,02 моль/л НПС, стабилизированные смесями МУК и МУН, сохраняют агрегативную устойчивость, что подтверждается данными по изменению гидродинамического размера (см. рис. 4, в и г). В присутствии К-фосфатного буфера введение в лигандный слой 50 % МУН также позволяет улучшить коллоидную стабильность и избежать частичной агрегации, однако НПС, стабилизированные смесью с 25 % МУК, менее стабильны, чем НПС, стабилизированные смесью с 50 % МУК.

В Na-фосфатном буфере дзета-потенциал коллоидных НПС, стабилизированных смесью с 50 % МУК, значительно меньше, чем у НПС, стабилизированных смесью с 25 % МУК (см. рис. 4, д). Это может свидетельствовать о том, что 50 % неионогенного МУН недостаточно для блокирования мостиковых взаимодействий с катионами  $\text{Na}^+$ . Наоборот, в К-фосфатном буфере дзета-потенциал коллоидных НПС, стабилизированных смесью с 50 % МУК, значительно больше, чем у НПС, стабилизированных смесью с 25 % МУК (см. рис. 4, е). Это может говорить о наиболее сильном мостиковом взаимодействии карбоксильных групп МУК с катионами  $\text{K}^+$  только при 100 и 25 % групп в СОМ. Данный факт подтверждает, что мостиковое взаимодействие катионов с СОМ специфично по отношению к плотности СОМ и степени депротонирования карбоксильных групп, которые являются взаимосвязанными параметрами.

Для изучения коллоидной стабильности при более высоком pH коллоидные растворы НПС, стабилизированных смесью МУК и МУН, смешивались с растворами карбонатов калия и натрия с pH 10,2–10,3 и концентрацией 0,02 моль/л. Спектры экстинкции коллоидных растворов спустя 24 ч после смешения представлены на рис. 5, а и б.



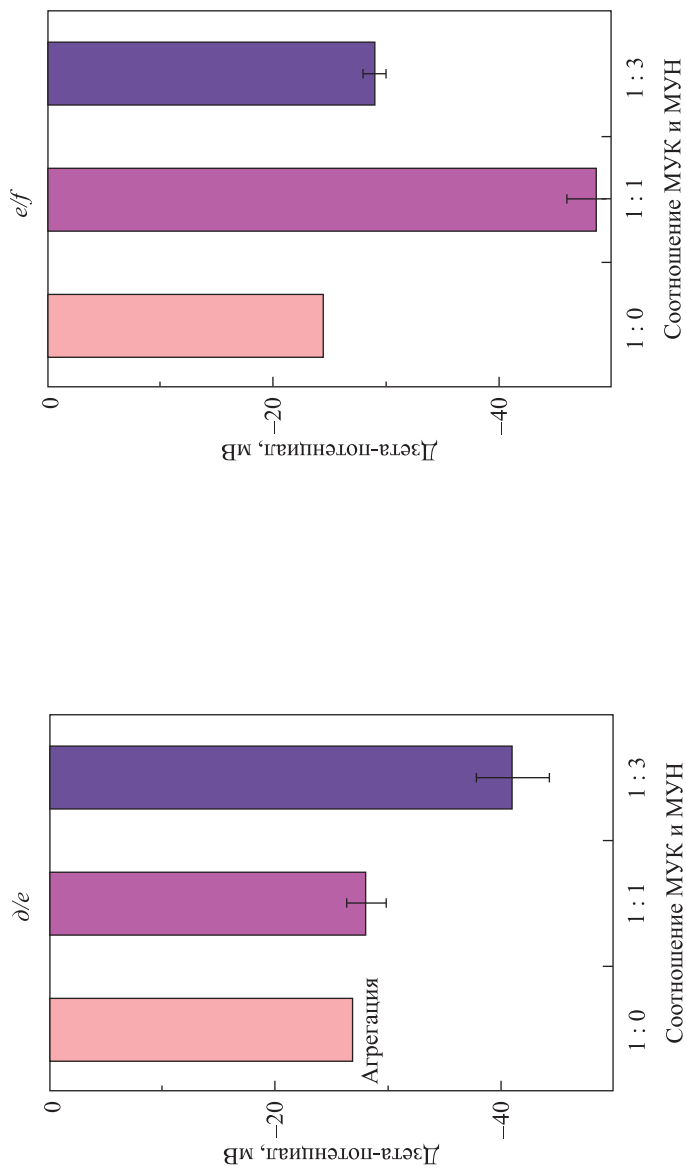
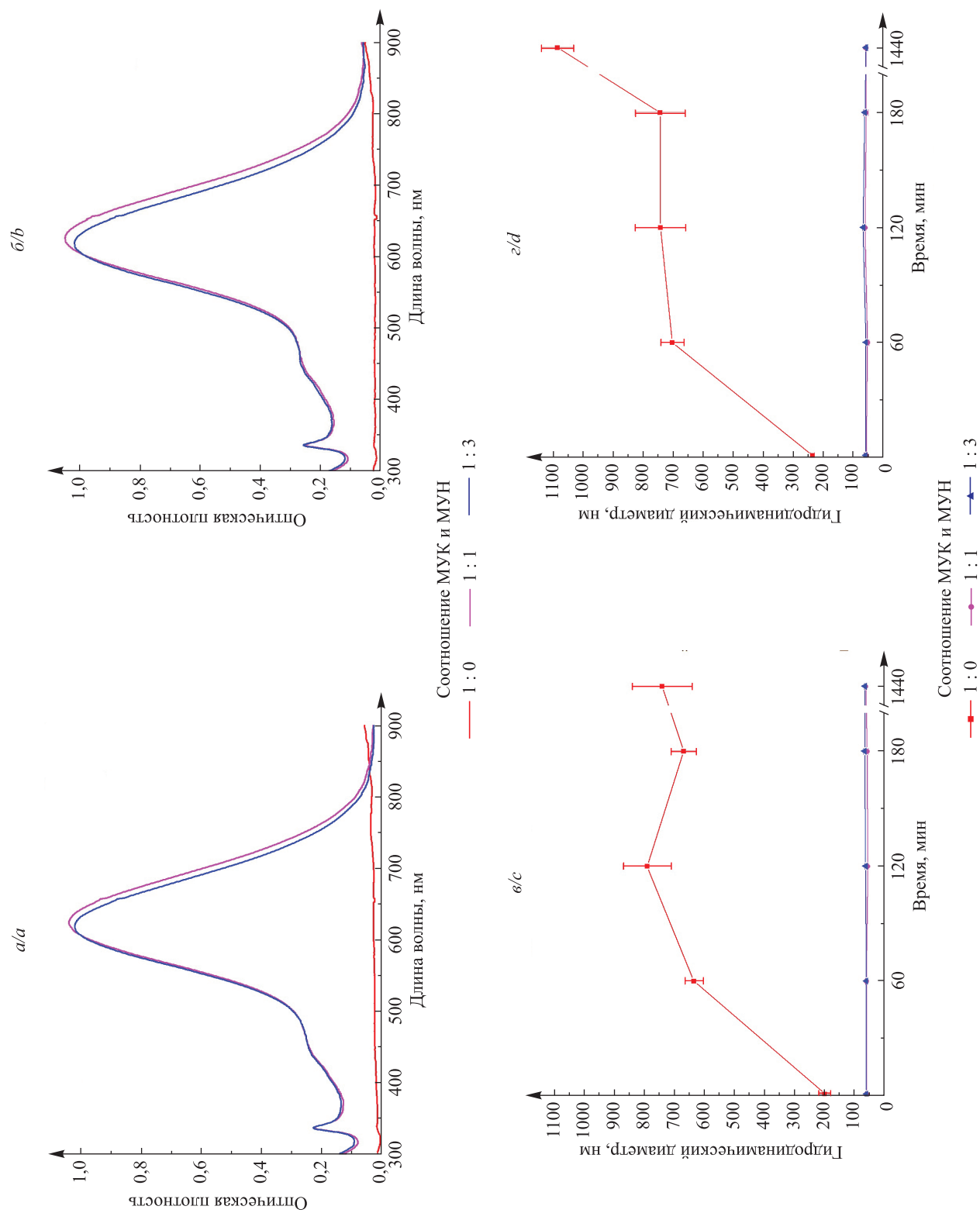


Рис. 4. Спектры экстинкции коллоидных растворов НПС, стабилизированных МУК и МУН в различных соотношениях, спустя 24 ч после смешения с Na-фосфатным (а) и K-фосфатным (б) буферами с pH 8,0 и концентрацией 0,02 моль/л, изменение их гидродинамического диаметра в течение 24 ч в присутствии Na-фосфатного (в) и K-фосфатного (г) буферов, дзета-потенциал спустя 24 ч после смешения с Na-фосфатным (д) и K-фосфатным (е) буферами

Fig. 4. Extinction spectra of colloidal solutions of silver nanoplates stabilised by 11-mercaptopundecanoic acid/11-mercapto-1-undecanol mixtures in various ratios, after 24 h after mixing with Na-phosphate (a) and K-phosphate (b) buffers at pH 8.0 and concentration 0.02 mol/L, their measured hydrodynamic size within 24 h in the presence of Na-phosphate (c) and K-phosphate (d) buffers, zeta potentials after 24 h in the presence of Na-phosphate (e) and K-phosphate (f) buffers



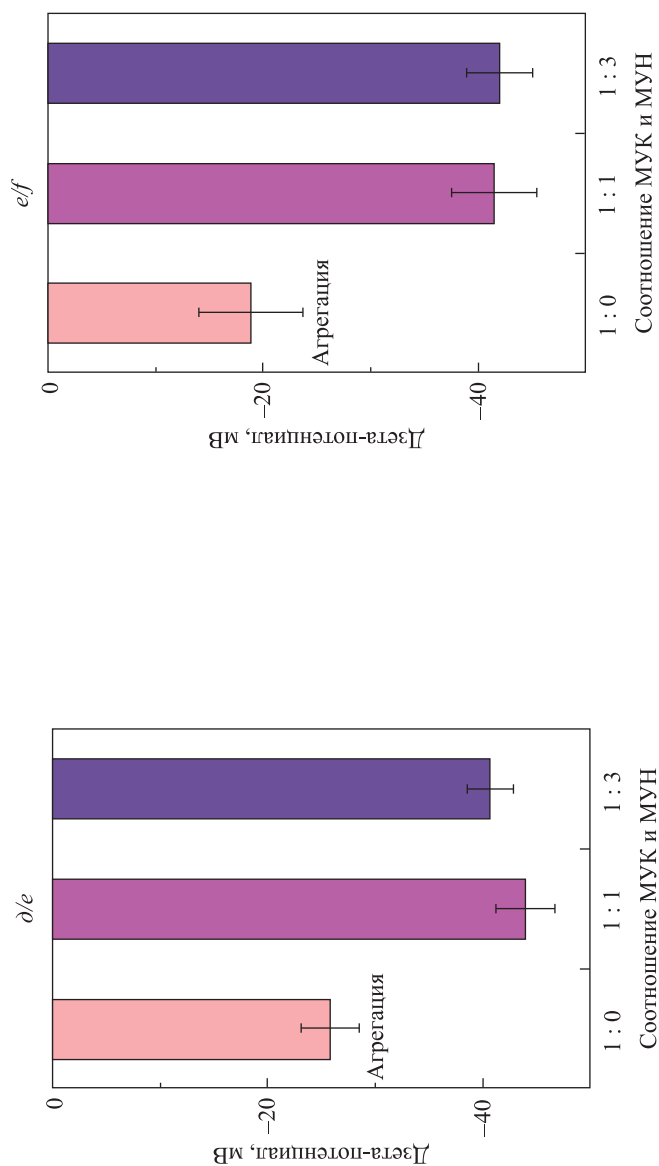


Рис. 5. Спектры экстинкции коллоидных растворов НПС, стабилизированных МУК и МУН в различных соотношениях, спустя 24 ч после смешения с буферами  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (a) и  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (б) с рН 10,2–10,3 и концентрацией 0,02 моль/л, изменение их гидродинамического диаметра в течение 24 ч в присутствии растворов  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (в) и  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (г), Δφ-потенциал спустя 24 ч после смешения с  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (д) и  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (е) *Fig. 5. Extinction spectra of colloidal solutions of silver nanoplates stabilised by 11-mercaptopundecanoic acid/11-mercapto-1-undecanol mixtures in various ratios, after 24 h after mixing with  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (a) and  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (b) buffers at pH 10.2–10.3 and concentration 0.02 mol/L, their measured hydrodynamic size within 24 h in the presence of  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (c) and  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (d), zeta potentials after 24 h in the presence of  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (e) and  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (f)*

На спектрах экстинкции видно, что при pH 10,2–10,3 или в случае НПС, стабилизированных 100 % МУК,  $\text{KKA}_{\text{K}^+, \text{Na}^+} > 0,02$  моль/л, и НПС быстро агрегируют. Это может быть связано с тем, что при увеличении степени депротонирования карбоксильных групп и повышении абсолютного отрицательного заряда НПС существенно возрастает вклад электростатического взаимодействия в сумму взаимодействий катионов с поверхностью НПС. На спектрах экстинкции коллоидных растворов НПС, стабилизированных смесью с 25 % МУК, отмечается незначительное снижение оптической плотности, сопровождающееся коротковолновым спектральным сдвигом пика ЛППР. Это может свидетельствовать о деградации СОМ МУН в данных условиях, что наблюдалось ранее для шлифованных поверхностей золота [27]. Измерение гидродинамического диаметра НПС подтверждает, что введение спейсера МУН в лигандную оболочку НПС позволяет избежать их агрегации до pH  $\approx 10,0$  (см. рис. 5, в и г).

### Выводы

Была изучена агрегативная устойчивость коллоидных НЧС двух морфологий – квазисферических НЧС и двумерных НПС – в присутствии фосфатных буферов с катионами  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cs}^+$  и трис-буфера с pH 8,0, а также растворов карбонатов калия и натрия с pH 10,2–10,3 и концентрацией 0,02 моль/л. В данных условиях как тип лигандной оболочки, так и морфология НЧС существенно влияют на их коллоидную стабильность. Квазисферические НЧС с оболочкой из 100 % МУК сохраняют агрегативную устойчивость во всех исследованных буферах с pH 8,0 и концентрацией 0,02 моль/л, тогда как 2D-НПС сходных размеров при pH 8,0 быстро агрегируют в присутствии Na-фосфатного буфера, а при pH 10,2–10,3 – и в других исследованных буферах. Наиболее вероятным механизмом снижения агрегативной устойчивости является повышение  $pK_a$  МУК на плоских базальных гранях НПС, что приводит к частичному депротонированию карбоксильных групп и специфическому мостиковому взаимодействию катионов с НПС. Мостиковое взаимодействие можно устранить, уменьшив количество карбоксильных групп в СОМ до 25–50 % посредством введения в лигандный слой неионогенного спейсера МУН. Таким образом, коллоидная стабильность НПС, обработанных смесями МУК и МУН, существенно повышается в биологических буферах, что позволяет использовать данные коллоидные наночастицы в биосенсорах.

### Библиографические ссылки / References

1. Langer J, Jimenez de Aberasturi D, Aizpurua J, Alvarez-Puebla RA, Augu   B, Baumberg JJ, et al. Present and future of surface-enhanced Raman scattering. *ACS Nano*. 2020;14(1):28–117. DOI: 10.1021/acsnano.9b04224.
2. Li J-F, Li C-Y, Aroca RF. Plasmon-enhanced fluorescence spectroscopy. *Chemical Society Reviews*. 2017;46(13):3962–3979. DOI: 10.1039/c7cs00169j.
3. Yu Y, Williams JD, Willets KA. Quantifying photothermal heating at plasmonic nanoparticles by scanning electrochemical microscopy. *Faraday Discussions*. 2018;210:29–39. DOI: 10.1039/c8fd00057c.
4. Mock JJ, Smith DR, Schultz S. Local refractive index dependence of plasmon resonance spectra from individual nanoparticles. *Nano Letters*. 2003;3(4):485–491. DOI: 10.1021/nl0340475.
5. Shrivastav AM, Cvelbar U, Abdulhalim I. A comprehensive review on plasmonic-based biosensors used in viral diagnostics. *Communications Biology*. 2021;4:70. DOI: 10.1038/s42003-020-01615-8.
6. Mauriz E. Recent progress in plasmonic biosensing schemes for virus detection. *Sensors*. 2020;20(17):4745. DOI: 10.3390/s20174745.
7. Loiseau A, Asila V, Boitel-Aullen G, Lam M, Salmain M, Boujday S. Silver-based plasmonic nanoparticles for and their use in biosensing. *Biosensors*. 2019;9(2):78. DOI: 10.3390/bios9020078.
8. Pallavicini P, Dacarro G, Taglietti A. Self-assembled monolayers of silver nanoparticles: from intrinsic to switchable inorganic antibacterial surfaces. *European Journal of Inorganic Chemistry*. 2018;2018(45):4846–4855. DOI: 10.1002/ejic.201800709.
9. Sener G, Uzun L, Denizli A. Colorimetric sensor array based on gold nanoparticles and amino acids for identification of toxic metal ions in water. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2014;6(21):18395–18400. DOI: 10.1021/am5071283.
10. Bartczak D, Kanaras AG. Preparation of peptide-functionalized gold nanoparticles using one pot EDC/sulfo-NHS coupling. *Langmuir*. 2011;27(16):10119–10123. DOI: 10.1021/la2022177.
11. Wickramathilaka MP, Tao BY. Characterization of covalent crosslinking strategies for synthesizing DNA-based bioconjugates. *Journal of Biological Engineering*. 2019;13(1):63. DOI: 10.1186/s13036-019-0191-2.
12. Zhang Q, Li R-X, Chen X, He X-X, Han A-L, Fang G-Z, et al. Study of efficiency of coupling peptides with gold nanoparticles. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*. 2017;45(5):662–667. DOI: 10.1016/S1872-2040(17)61013-2.
13. Guzmán-Soto I, Omole M, Alarcon EI, McTiernan CD. Lipoic acid capped silver nanoparticles: a facile route to covalent protein capping and oxidative stability within biological systems. *RSC Advances*. 2020;10(54):32953–32958. DOI: 10.1039/d0ra07080g.
14. Ehr   L, Jia Z, Wu H, Lattuada M, Soos M, Morbidelli M. Role of counterion association in colloidal stability. *Langmuir*. 2009;25(5):2696–2702. DOI: 10.1021/la803445y.
15. Laaksonen T, Ahonen P, Johans C, Kontturi K. Stability and electrostatics of mercaptoundecanoic acid-capped gold nanoparticles with varying counterion size. *ChemPhysChem*. 2006;7(10):2143–2149. DOI: 10.1002/cphc.200600307.
16. Oncsik T, Trefalt G, Borkovec M, Szilagyi I. Specific ion effects on particle aggregation induced by monovalent salts within the Hofmeister series. *Langmuir*. 2015;31(13):3799–3807. DOI: 10.1021/acs.langmuir.5b00225.

17. Wang D, Tejerina B, Lagzi I, Kowalczyk B, Grzybowski BA. Bridging interactions and selective nanoparticle aggregation mediated by monovalent cations. *ACS Nano*. 2011;5(1):530–536. DOI: 10.1021/nn1025252.
18. Zhang C-H, Zhu J, Li J-J, Zhao J-W. Small and sharp triangular silver nanoplates synthesized utilizing tiny triangular nuclei and their excellent SERS activity for selective detection of thiram residue in soil. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2017;9(20):17387–17398. DOI: 10.1021/acsami.7b04365.
19. Zou X, Dong S. Surface-enhanced Raman scattering studies on aggregated silver nanoplates in aqueous solution. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2006;110(43):21545–21550. DOI: 10.1021/jp063630h.
20. Fabrikanos A, Athanassiou S, Lieser KH. Darstellung stabiler hydrosol von gold und silber durch reduktion mit äthylendiamintetraessigsäure. *Zeitschrift für Naturforschung B*. 1963;18(8):612–617. DOI: 10.1515/znb-1963-0805.
21. Lundblad RL, Macdonald FM, editors. *Handbook of biochemistry and molecular biology*. 5<sup>th</sup> edition. Boca Raton: CRC Press; 2018. 1017 p.
22. Pastoriza-Santos I, Liz-Marzán LM. Colloidal silver nanoplates. State of the art and future challenges. *Journal of Materials Chemistry*. 2008;18(15):1724–1737. DOI: 10.1039/b716538b.
23. Malakhovsky P, Murausky D, Guzatov D, Gaponenko S, Artemyev M. Determination of pseudo-refractive index in self-assembled ligand layers from spectral shift of surface plasmon resonances in colloidal silver nanoplates. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*. 2021;235(12):1831–1848. DOI: 10.1515/zpch-2020-1786.
24. Sthoer A, Hladílková J, Lund M, Tyrode E. Molecular insight into carboxylic acid-alkali metal cations interactions: reversed affinities and ion-pair formation revealed by non-linear optics and simulations. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2019;21:11329–11344. DOI: 10.1039/c9cp00398c.
25. Wang D, Nap RJ, Lagzi I, Kowalczyk B, Han S, Grzybowski BA, et al. How and why nanoparticle's curvature regulates the apparent  $pK_a$  of the coating ligands. *Journal of the American Chemical Society*. 2011;133(7):2192–2197. DOI: 10.1021/ja108154a.
26. Kakiuchi T, Iida M, Gon N, Hobara D, Imabayashi S-I, Niki K. Miscibility of adsorbed 1-undecanethiol and 11-mercaptopundecanoic acid species in binary self-assembled monolayers on Au(111). *Langmuir*. 2001;17(5):1599–1603. DOI: 10.1021/la0014757.
27. Kong B-K, Kim Y-S, Choi IS. pH-dependent stability of self-assembled monolayers on gold. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. 2008;29(9):1843–1846. DOI: 10.5012/bkcs.2008.29.9.1843.

Получена 25.11.2021 / принята 10.12.2021.  
Received 25.11.2021 / accepted 10.12.2021.

## ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ТЕМОЗОЛОМИДА В КРИСТАЛЛИЧЕСКОМ И ГАЗООБРАЗНОМ АГРЕГАТНЫХ СОСТОЯНИЯХ

Я. Н. ЮРКШТОВИЧ<sup>1)</sup>, А. В. БЛОХИН<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Темозоломид (4-метил-5-оксо-2,3,4,6,8-пентазабицикло[4,3,0]нона-2,7,9-триен-9-карбоксамид) является действующим компонентом противоопухолевых иммунодепрессивных алкилирующих препаратов и широко используется для лечения различных видов злокачественных образований, в том числе трудно поддающихся лечению хирургическим путем злокачественных глиом (мультиформной глиобластомы и анапластической астроцитомы). Подобная сфера применения темозоломида диктует необходимость комплексного определения его термодинамических свойств. В рамках настоящей работы методом адиабатической калориметрии получена температурная зависимость теплоемкости и рассчитаны стандартные термодинамические функции кристаллического темозоломида в интервале температур 80–370 К. Стандартные термодинамические функции вещества в состоянии идеального газа в температурном диапазоне 0–1000 К вычислены с использованием методов статистической термодинамики. Стандартные внутренняя энергия и энтальпии сгорания и образования темозоломида в кристаллическом состоянии при  $T = 298,15$  К определены методом бомбовой калориметрии сгорания. Стандартная газофазная энтальпия образования вещества получена по методу изодесмических реакций с привлечением квантово-химических расчетов, а его стандартная энтальпия сублимации вычислена в рамках модели электростатического потенциала. Представленные результаты могут применяться при решении задач оптимизации процессов производства темозоломида, а также для валидации экспериментально полученных значений его физико-химических свойств.

**Ключевые слова:** темозоломид; термодинамические свойства; теплоемкость; энтальпия образования; энтальпия сгорания; энтальпия сублимации.

**Благодарность.** Работа выполнена в рамках государственной программы научных исследований «Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биоорганхимия» на 2021–2025 гг. (задание 2.1.1).

### Образец цитирования:

Юркштович ЯН, Блохин АВ. Термодинамические свойства темозоломида в кристаллическом и газообразном агрегатных состояниях. *Журнал Белорусского государственного университета. Химия.* 2022;1:18–30.  
<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2022-1-18-30>

### For citation:

Yurkshtovich YN, Blokhin AV. Thermodynamic properties of temozolomide in crystalline and gaseous aggregate states. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry.* 2022;1:18–30. Russian.  
<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2022-1-18-30>

### Авторы:

**Яна Николаевна Юркштович** – ассистент кафедры физической химии химического факультета.  
**Андрей Викторович Блохин** – доктор химических наук, профессор; заведующий кафедрой физической химии химического факультета.

### Authors:

**Yana N. Yurkshtovich**, assistant at the department of physical chemistry, faculty of chemistry.  
[yanayurksht@gmail.com](mailto:yanayurksht@gmail.com)  
<https://orcid.org/0000-0002-8135-493X>  
**Andrey V. Blokhin**, doctor of science (chemistry), full professor; head of the department of physical chemistry, faculty of chemistry.  
[blokhin@bsu.by](mailto:blokhin@bsu.by)  
<https://orcid.org/0000-0003-4778-5872>

THERMODYNAMIC PROPERTIES OF TEMOZOLOMIDE  
IN CRYSTALLINE AND GASEOUS AGGREGATE STATESY. N. YURKSHTOVICH<sup>a</sup>, A. V. BLOKHIN<sup>a</sup><sup>a</sup>Belarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: Y. N. Yurkshtovich (yanayurksht@gmail.com)

Temozolomide (4-methyl-5-oxo-2,3,4,6,8-pentazabicyclo[4,3,0]nona-2,7,9-triene-9-carboxamide) is an active component of antitumor immunosuppressive alkylating drugs, and it used largely for the treatment of various types of malignant tumors, including malignant gliomas that are difficult to treat by surgery (glioblastoma multiforme and anaplastic astrocytoma). Wide field of temozolomide application dictates the need for its comprehensive thermodynamic study. In this work temperature dependance of the temozolomide heat capacity was obtained using the adiabatic calorimetry method and the standard thermodynamic functions of crystalline temozolomide were calculated in the temperature range 80–370 K. Standard thermodynamic functions of the temozolomide in the ideal gas state were calculated using the statistical thermodynamics approach in the temperature range 0–1000 K. To obtain the standard internal energy and enthalpies of combustion and formation of crystalline temozolomide at  $T = 298.15$  K the combustion bomb calorimetry was used. Standard enthalpy of formation of the gaseous temozolomide was calculated in the framework of the isodesmic reactions method using quantum chemical computing. To calculate standard sublimation enthalpy of temozolomide the electrostatic potential model was applied. The results obtained can find application in solving problems of optimisation of temozolomide production processes and to validate experimentally obtained values of thermodynamic properties of the temozolomide.

**Keywords:** temozolomide; thermodynamic properties; heat capacity; enthalpy of formation; enthalpy of combustion; sublimation enthalpy.

**Acknowledgements.** This work was supported by state program of scientific research «Chemical processes, reagents and technologies, bioregulators and bioorganic chemistry» for 2021–2025 (assignment No. 2.1.1).

## Введение

На сегодняшний день одной из наиболее важных задач химической термодинамики является не только экспериментальное определение термодинамических параметров веществ, но и разработка и использование теоретических способов прогнозирования физико-химических свойств на основании структурных данных молекул. Применение теоретических подходов к определению термодинамических параметров веществ позволяет существенно сократить время и затраты на проведение исследования, а также упростить процесс поиска химических соединений с заданными термодинамическими или биологическими свойствами. В теоретических расчетах термодинамических параметров используются методы статистической термодинамики, квантово-химические методы группы Gaussian- $n$  (Gn) [1], QSAR/QSPR-моделирование [2].

Интерес к определению термодинамических свойств темозоломида обусловлен широкой областью его применения в качестве действующего компонента противоопухолевых иммунодепрессивных алкилирующих препаратов, используемых для лечения различных видов злокачественных образований, таких как глиома [3; 4], меланома, саркома, лимфома, лейкоз, рак толстой кишки и яичников [4]. В литературе данные о термодинамических параметрах темозоломида отсутствуют, что также актуализирует необходимость их определения.

В настоящем исследовании представлены результаты экспериментального и теоретического определения термодинамических свойств кристаллического и газообразного темозоломида.

## Материалы и методы исследования

Исследуемый образец темозоломида с чистотой (содержание основного вещества) не менее 99,6 мас. % был предоставлен предприятием «Унитехпром БГУ».

Измерение теплоемкости кристаллического темозоломида в интервале температур 80–370 K выполнялось в автоматизированном вакуумном адиабатическом калориметре ТАУ-10 («Термис», Россия), описанном ранее [5]. Температура измерялась железородиевым термометром сопротивления ( $R = 50$  Ом), размещенным на внутренней поверхности адиабатического экрана. Адиабатические условия в калориметре поддерживались с использованием дифференциальной термопары медь – железо (0,1 %) / хромель и двух нагревателей – основного и дополнительного, предназначенного для устранения градиентов

температур по длине адиабатической оболочки. Управление нагревателями, определение видимой энергии, измерение температуры и расчет теплоемкостей в калориметрическом опыте осуществлялись с помощью автоматического блока управления АК-6.25.

Образец вещества помещался на воздухе в контейнер емкостью около  $1 \text{ см}^3$  на  $\frac{4}{5}$  его объема. После загрузки образца выполнялась дегазация контейнера в вакууме в течение 30 мин. Для быстрого установления теплового равновесия при проведении калориметрических измерений после дегазации контейнер заполнялся гелием при давлении 10 кПа и герметично закрывался бронзовой крышкой. В качестве уплотнителя использовалось индиевое кольцо. Взвешивание контейнера с образцом проводилось на весах Mettler Toledo AG245 с максимальной погрешностью  $\pm 5 \cdot 10^{-5}$  г. Герметичность контейнера контролировалась путем нескольких циклов выдерживания на воздухе и в вакууме до постоянной массы. В температурном диапазоне 80–370 К в качестве хладагента использовался жидкий азот.

Погрешность измерения теплоемкости в адиабатическом калориметре для исследуемого интервала температур не превышает  $\pm 0,4 \%$  [5].

Определение внутренней энергии и энтальпии сгорания темозоломида в кристаллическом состоянии выполнялось в автоматическом калориметре сгорания В-08МА («Эталон», Казахстан) с изотермической оболочкой и стационарной самоуплотняющейся бомбой (объем калориметрической бомбы –  $320 \text{ см}^3$ , объем калориметрического сосуда –  $5,25 \text{ дм}^3$ ) [6] в серии из четырех опытов. Температуры термостатируемой оболочки калориметра и содержащейся в калориметрическом сосуде воды измерялись платиновыми термометрами сопротивления ( $R = 500 \text{ Ом}$ ). Точность поддержания температуры термостата составляла  $\pm 0,02 \text{ К}$ . Энергетический эквивалент калориметра был определен в серии опытов по сжиганию эталонной бензойной кислоты. По результатам градуировки прибора точность определения энергии сгорания оценивается в  $\pm 0,02 \%$ . Взвешивание сжигаемых образцов, платиновой проволоки, пакетов и платинового тигля проводилось на весах Mettler Toledo AG245 с максимальной погрешностью  $\pm 5 \cdot 10^{-5}$  г.

Перед проведением опытов по сжиганию порошок темозоломида выдерживался в эксикаторе над пятиокисью фосфора. Навеска порошка темозоломида сжигалась в герметично запаянном пакете из полиэтилена ( $\rho = 0,9 \text{ г/см}^3$ ), помещенном на платиновую запальную проволоку ( $d = 0,05 \text{ мм}$ ). Операции по подготовке образца к сжиганию проводились на воздухе. Перед началом опыта в калориметрическую бомбу добавлялся  $1 \text{ см}^3$  дистиллированной воды для насыщения системы водяным паром. Сжигание образца проводилось в атмосфере кислорода ( $\approx 3,04 \text{ МПа}$ ). Точное давление кислорода определялось по разности масс пустой и заполненной калориметрической бомбы. Для введения поправки на теплоту окисления азота, являющегося примесным газом в кислороде и входящего в состав темозоломида, образовавшийся в бомбе конденсат количественно переносился в химический стакан и оттитровывался 0,1 н. раствором гидроксида натрия.

Данные считывались с калориметра с помощью персонального компьютера. Начальный и конечный периоды калориметрического опыта составили 20 отсчетов, главный период – 25 отсчетов (интервал между отсчетами – 30 с). Расчет энергии сгорания производился с учетом поправок Уошборна [7].

Стандартные термодинамические функции темозоломида (изобарная теплоемкость, энтропия, приведенная энтальпия и приведенная энергия Гиббса) в состоянии идеального газа в температурном интервале 0–1000 К определены с использованием методов статистической термодинамики. Поступательный, вращательный и колебательный вклады в термодинамические функции вычислены по формулам

$$q_{\text{пост}} = \left( \frac{2\pi mkT}{h^2} \right)^{3/2} V,$$

$$q_{\text{вр}} = \frac{8\pi^2}{\sigma} \left( \frac{2\pi kT}{h^2} \right)^{3/2} (I_A I_B I_C)^{1/2},$$

$$q_{\text{кол}} = \prod_i \frac{1}{1 - e^{-h\nu_i/kT}},$$

где  $m$  – масса молекулы, кг (для темозоломида  $m = 3,225 \cdot 10^{-25} \text{ кг}$ );  $V$  – объем, доступный молекуле,  $\text{м}^3$ ;  $\sigma$  – число симметрии молекулы (для темозоломида  $\sigma = 1$ );  $I_A I_B I_C$  – произведение главных моментов инерции молекулы,  $\text{кг}^3 \cdot \text{м}^6$  (для темозоломида  $I_A I_B I_C = 1,958 \cdot 10^{-132} \text{ кг}^3 \cdot \text{м}^6$ );  $\nu_i$  – частота  $i$ -го колебания в молекуле, Гц.

Вклад заторможенного внутреннего вращения рассчитан по методике, описанной в работе [8]. Уровни энергии для вращения каждого из волчков получены путем решения уравнения Шредингера для заторможенного вращения:

$$\frac{\partial^2 \psi}{\partial \varphi^2} + \frac{8\pi^2 I_r}{h^2} (E - V(\varphi)) \psi = 0,$$

где  $V(\varphi)$  – потенциальная функция вращения волчка;  $I_r$  – приведенный момент инерции волчка,  $\text{кг} \cdot \text{м}^2$ .

Для определения потенциальной функции вращения  $V(\varphi)$  на уровне теории DFT/B3LYP/6-31G(2df,p) рассчитана энергия молекулы темозоломида при повороте амидного и метильного волчков на  $360^\circ$  с шагом  $5^\circ$ . Далее для получения потенциальной функции вращения каждого волчка в аналитическом виде результаты численного эксперимента были аппроксимированы тригонометрическим рядом Фурье. Приведенные моменты инерции каждого из волчков рассчитаны по методике, описанной в работе [9].

Стандартная энтальпия образования темозоломида в газообразном состоянии при  $T = 298,15 \text{ K}$  определена в рамках метода изодесмических реакций. Оптимизация геометрий молекул и расчет частот нормальных колебаний выполнены на уровне теории DFT/B3LYP/6-31G(2df,p). Энергии молекул, участвовавших в изодесмических реакциях, рассчитаны с использованием композитного квантово-химического метода G4 [2]. Все численные эксперименты производились на выделенной виртуальной машине в облачном сервисе *Google Cloud Platform* с применением 8 вычислительных ядер Intel Xeon Processor с тактовой частотой 2,0 ГГц (до 2,7 ГГц при пиковой нагрузке) и 52 Гб оперативной памяти.

Стандартная энтальпия сублимации темозоломида при  $T = 298,15 \text{ K}$  рассчитана в рамках модели электростатического потенциала, параметризованной и валидированной ранее [10]. Вычисление молекулярных дескрипторов для молекулы темозоломида производилось с использованием программного обеспечения *Multwfn 3.7* [11].

### Результаты и их обсуждение

Температурная зависимость теплоемкости темозоломида в конденсированном состоянии в диапазоне 80–370 K при давлении насыщенного пара представлена на рис. 1. Расчет значений молярных изобарных теплоемкостей выполнен с использованием величины молярной массы темозоломида ( $M = 194,15 \text{ г/моль}$ ), полученной из относительных атомных масс, рекомендованных ИЮПАК [12].

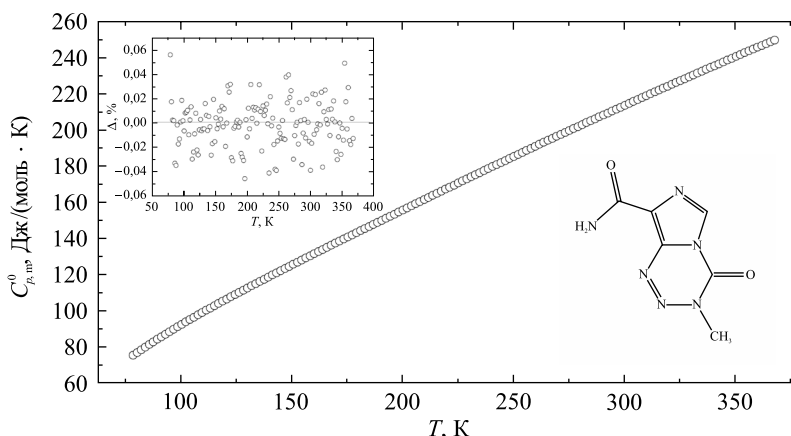


Рис. 1. Температурная зависимость теплоемкости темозоломида в интервале 80–370 K и разброс отклонений экспериментальных величин от полиномиальной аппроксимации относительно температуры

Fig. 1. Temperature dependence of temozolomide heat capacity in the range of 80–370 K and deviations of experimental values from polynomial approximation regarding temperature

Обработка экспериментальных данных осуществлялась посредством разбиения исследуемого температурного диапазона на интервалы с областями перекрытия. Каждая область перекрытия составляла 15–20 % от величины наибольшего температурного интервала. Полученные экспериментальные значения теплоемкостей темозоломида в кристаллическом состоянии в каждом из температурных интервалов аппроксимировались полиномиальными зависимостями

$$C_p^0 = \sum_{i=0}^n a_i T^i.$$

Коэффициенты полиномиальных зависимостей для соответствующих температурных интервалов представлены в табл. 1.

Таблица 1

Коэффициенты полиномиальных зависимостей,  
описывающих теплоемкость темозоломида  
в различных температурных интервалах, Дж/(моль · К<sup>n</sup>)

Table 1

Polynomial dependences coefficients describing the heat capacity  
of temozolomide in different temperature ranges, J/(mol · K<sup>n</sup>)

| Интервал, К | $a_0 \cdot 10^{-1}$ | $a_1$   | $a_2 \cdot 10^3$ | $a_3 \cdot 10^5$ | Точка сшивки, К |
|-------------|---------------------|---------|------------------|------------------|-----------------|
| 78,66–147,0 | –1,825              | 1,629 0 | –6,853 0         | 1,574 000        | 145,3           |
| 132,0–196,3 | 2,143               | 0,753 4 | –0,421 0         | 0                |                 |
| 179,2–298,2 | 4,120               | 0,492 2 | 0,640 5          | –0,122 800       | 187,8           |
| 282,8–367,5 | 5,679               | 0,404 8 | 0,679 9          | –0,009 651       | 293,4           |

Сглаженные значения стандартных термодинамических функций (теплоемкости, энтропии, приведенной энтальпии и приведенной энергии Гиббса) темозоломида в кристаллическом состоянии в диапазоне температур 80–370 К приведены в табл. 2.

Таблица 2

Сглаженные значения стандартных термодинамических функций темозоломида  
в кристаллическом состоянии в температурном интервале 80–370 К, Дж/(моль · К)

Table 2

Smoothed values of the standard thermodynamic functions  
of the crystalline temozolomide in temperature range 80–370 K, J/(mol · K)

| $T, K$ | $C_{p,m}^0$   | $\Delta_{80}^T S_m^0$ | $\frac{\Delta_{80}^T H_m^0}{T}$ | $\frac{-\Delta_{80}^T G_m^0}{T}$ |
|--------|---------------|-----------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| 80     | 76,26 ± 0,31  | 0                     | 0                               | 0                                |
| 90     | 84,31 ± 0,34  | 9,452 ± 0,038         | 8,926 ± 0,036                   | 0,526 7 ± 0,052 3                |
| 100    | 91,84 ± 0,37  | 18,730 ± 0,070        | 16,840 ± 0,070                  | 1,885 0 ± 0,099 0                |
| 110    | 98,95 ± 0,40  | 27,820 ± 0,110        | 23,990 ± 0,100                  | 3,831 0 ± 0,149 0                |
| 120    | 105,70 ± 0,40 | 36,720 ± 0,150        | 30,520 ± 0,120                  | 6,202 0 ± 0,192 0                |
| 130    | 112,30 ± 0,40 | 45,440 ± 0,180        | 36,560 ± 0,150                  | 8,886 0 ± 0,234 0                |
| 140    | 118,70 ± 0,50 | 54,000 ± 0,220        | 42,190 ± 0,170                  | 11,800 0 ± 0,280 0               |
| 150    | 125,00 ± 0,50 | 62,400 ± 0,250        | 47,500 ± 0,190                  | 14,900 0 ± 0,310 0               |
| 160    | 131,20 ± 0,50 | 70,670 ± 0,280        | 52,540 ± 0,210                  | 18,130 0 ± 0,350 0               |
| 170    | 137,30 ± 0,50 | 78,800 ± 0,320        | 57,350 ± 0,230                  | 21,460 0 ± 0,390 0               |
| 180    | 143,40 ± 0,60 | 86,830 ± 0,350        | 61,960 ± 0,250                  | 24,870 0 ± 0,430 0               |
| 190    | 149,40 ± 0,60 | 94,740 ± 0,380        | 66,400 ± 0,270                  | 28,340 0 ± 0,470 0               |
| 200    | 155,40 ± 0,60 | 102,600 ± 0,400       | 70,710 ± 0,280                  | 31,850 0 ± 0,490 0               |
| 210    | 161,40 ± 0,60 | 110,300 ± 0,400       | 74,880 ± 0,300                  | 35,400 0 ± 0,500 0               |

Окончание табл. 2  
Ending table 2

| $T, K$ | $C_{p,m}^0$       | $\Delta_{80}^T S_m^0$ | $\frac{\Delta_{80}^T H_m^0}{T}$ | $\frac{-\Delta_{80}^T G_m^0}{T}$ |
|--------|-------------------|-----------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| 220    | $167,40 \pm 0,70$ | $117,900 \pm 0,500$   | $78,950 \pm 0,320$              | $38,9800 \pm 0,5900$             |
| 230    | $173,30 \pm 0,70$ | $125,500 \pm 0,500$   | $82,930 \pm 0,330$              | $42,5800 \pm 0,6000$             |
| 240    | $179,20 \pm 0,70$ | $133,000 \pm 0,500$   | $86,820 \pm 0,350$              | $46,1900 \pm 0,6100$             |
| 250    | $185,10 \pm 0,70$ | $140,400 \pm 0,600$   | $90,630 \pm 0,360$              | $49,8100 \pm 0,7000$             |
| 260    | $190,90 \pm 0,80$ | $147,800 \pm 0,600$   | $94,370 \pm 0,380$              | $53,4400 \pm 0,7100$             |
| 270    | $196,60 \pm 0,80$ | $155,100 \pm 0,600$   | $98,050 \pm 0,390$              | $57,0700 \pm 0,7200$             |
| 280    | $202,30 \pm 0,80$ | $162,400 \pm 0,600$   | $101,700 \pm 0,400$             | $60,7000 \pm 0,7200$             |
| 290    | $207,80 \pm 0,80$ | $169,600 \pm 0,700$   | $105,200 \pm 0,400$             | $64,3300 \pm 0,8100$             |
| 298,15 | $212,30 \pm 0,80$ | $175,400 \pm 0,700$   | $108,100 \pm 0,400$             | $67,2900 \pm 0,8100$             |
| 300    | $213,40 \pm 0,90$ | $176,700 \pm 0,700$   | $108,800 \pm 0,400$             | $67,9600 \pm 0,8100$             |
| 310    | $218,90 \pm 0,90$ | $183,800 \pm 0,700$   | $112,200 \pm 0,400$             | $71,5800 \pm 0,8100$             |
| 320    | $224,30 \pm 0,90$ | $190,800 \pm 0,800$   | $115,600 \pm 0,500$             | $75,2000 \pm 0,9400$             |
| 330    | $229,70 \pm 0,90$ | $197,800 \pm 0,800$   | $119,000 \pm 0,500$             | $78,8100 \pm 0,9400$             |
| 340    | $235,10 \pm 0,90$ | $204,800 \pm 0,800$   | $122,300 \pm 0,500$             | $82,4100 \pm 0,9400$             |
| 350    | $240,40 \pm 1,00$ | $211,600 \pm 0,800$   | $125,600 \pm 0,500$             | $86,0000 \pm 0,9400$             |
| 360    | $245,60 \pm 1,00$ | $218,500 \pm 0,900$   | $128,900 \pm 0,500$             | $89,5900 \pm 1,0300$             |
| 370    | $250,80 \pm 1,00$ | $225,300 \pm 0,900$   | $132,100 \pm 0,500$             | $93,1700 \pm 1,0300$             |

Стандартные термодинамические функции темозоломида в состоянии идеального газа в температурном интервале 0–1000 К вычислены с использованием методов статистической термодинамики. Параметры внутреннего вращения в молекуле темозоломида, необходимые для расчета вклада заторможенного внутреннего вращения в приближении независимости вращения волчков, приведены в табл. 3. Потенциальные функции вращения амидного и метильного волчков в молекуле темозоломида представлены на рис. 2.

Таблица 3

## Параметры внутреннего вращения в молекуле темозоломида

Table 3

## Internal rotation parameters in temozolomide molecule

| Волчок           | $\sigma_i$ | $I_i \cdot 10^{47}, \text{ кг} \cdot \text{м}^2$ | $V(\varphi), \text{ Дж/моль}$                                                                                                                                                                                    | $\Delta E, \text{ Дж/моль}$ |
|------------------|------------|--------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| $-\text{CH}_3$   | 3          | 5,294                                            | $1103 - 1056\cos(3\varphi) - 49,735\cos(6\varphi)$                                                                                                                                                               | —                           |
| $-\text{CONH}_2$ | 1          | 64,820                                           | $13\,527 - 2824\cos(\varphi) - 11\,325\cos(2\varphi) - 41,62\cos(3\varphi) + 506,7\cos(4\varphi) + 170,5\cos(5\varphi) + 59,02\cos(6\varphi) - 80,44\cos(7\varphi) + 16,09\cos(8\varphi) - 11,65\cos(10\varphi)$ | 5550                        |

Значения стандартных термодинамических функций (теплоемкости, энтропии, приведенной энтальпии и приведенной энергии Гиббса) темозоломида в состоянии идеального газа в диапазоне температур 0–1000 К приведены в табл. 4.

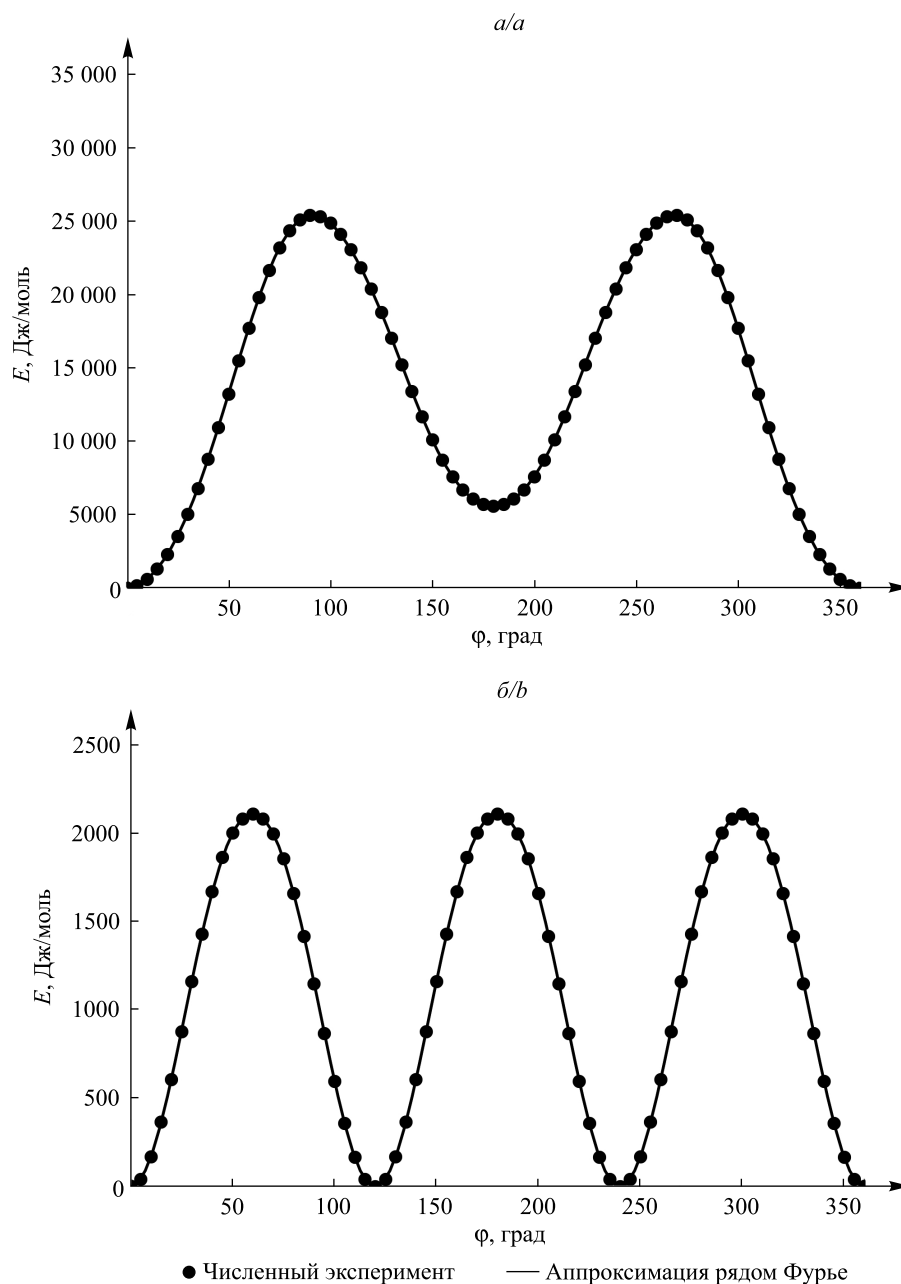


Рис. 2. Потенциальные функции вращения в молекуле темозоломида:

*a* – амидный волчок; *б* – метильный волчок

Fig. 2. Potential rotation functions in temozolomide molecule:

*a* – amide top; *b* – methyl top

По результатам серии из четырех опытов по сжиганию образца в бомбовом калориметре получены следующие значения стандартных внутренней энергии и энтальпии сгорания темозоломида в кристаллическом состоянии при  $T = 298,15$  К:

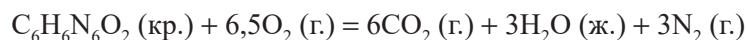
$$\Delta_c U_{298,15}^0 = -(3161,3 \pm 0,6) \text{ кДж/моль},$$

$$\Delta_c H_{298,15}^0 = -(3155,1 \pm 0,6) \text{ кДж/моль}.$$

Стандартная энтальпия образования темозоломида в кристаллическом состоянии

$$\Delta_f H_{298,15}^0 (\text{кр.}) = -(63,74 \pm 0,99) \text{ кДж/моль}$$

рассчитана исходя из реакции его сгорания



с использованием стандартных энтальпий образования  $\text{CO}_2$  (г.) и  $\text{H}_2\text{O}$  (ж.) [13].

Стандартная энтальпия образования темозоломида в состоянии идеального газа определена в рамках метода изодесмических реакций. Экспериментальные значения стандартных энтальпий образования участников изодесмических реакций в состоянии идеального газа, электронные энергии молекул, поправки на нулевые колебания и температурные поправки приведены в табл. 5.

Таблица 4

Стандартные термодинамические функции темозоломида в состоянии идеального газа в температурном интервале 0–1000 К, Дж/(моль · К)

Table 4

Standard thermodynamic functions of the temozolomide in the gaseous state in temperature range 0–1000 K, J/(mol · K)

| $T, K$ | $C_{p,m}^0$       | $\Delta_0^T S_m^0$ | $\frac{\Delta_0^T H_m^0}{T}$ | $\frac{-\Delta_0^T G_m^0}{T}$ |
|--------|-------------------|--------------------|------------------------------|-------------------------------|
| 0      | 0                 | 0                  | 0                            | 0                             |
| 50     | $60,78 \pm 0,61$  | $261,5 \pm 2,6$    | $43,76 \pm 0,44$             | $217,7 \pm 2,6$               |
| 100    | $89,66 \pm 0,90$  | $312,8 \pm 3,1$    | $59,68 \pm 0,60$             | $253,1 \pm 3,2$               |
| 150    | $116,20 \pm 1,20$ | $354,2 \pm 3,5$    | $74,12 \pm 0,74$             | $280,0 \pm 3,6$               |
| 200    | $142,20 \pm 1,40$ | $391,2 \pm 3,9$    | $87,91 \pm 0,88$             | $303,3 \pm 4,0$               |
| 298,15 | $190,80 \pm 1,90$ | $457,1 \pm 4,6$    | $113,90 \pm 1,10$            | $343,2 \pm 4,7$               |
| 300    | $191,60 \pm 1,90$ | $458,3 \pm 4,6$    | $114,40 \pm 1,10$            | $344,0 \pm 4,7$               |
| 400    | $236,10 \pm 2,40$ | $519,7 \pm 5,2$    | $139,40 \pm 1,40$            | $380,3 \pm 5,4$               |
| 500    | $273,60 \pm 2,70$ | $576,5 \pm 5,8$    | $162,60 \pm 1,60$            | $413,9 \pm 6,0$               |
| 600    | $303,90 \pm 3,00$ | $629,2 \pm 6,3$    | $183,70 \pm 1,80$            | $445,5 \pm 6,6$               |
| 700    | $328,10 \pm 3,30$ | $677,9 \pm 6,8$    | $202,70 \pm 2,00$            | $475,3 \pm 7,1$               |
| 800    | $347,50 \pm 3,50$ | $723,0 \pm 7,2$    | $219,60 \pm 2,20$            | $503,4 \pm 7,5$               |
| 900    | $363,30 \pm 3,60$ | $764,9 \pm 7,6$    | $234,70 \pm 2,30$            | $530,2 \pm 7,9$               |
| 1000   | $376,40 \pm 3,80$ | $803,9 \pm 8,0$    | $248,30 \pm 2,50$            | $555,6 \pm 8,4$               |

Таблица 5

Данные для расчета энтальпии образования темозоломида в газообразном состоянии по методу изодесмических реакций

Table 5

Data for the calculation of the formation enthalpy of temozolomide in the gaseous state in the framework of the isodesmic reactions approach

| Обозначение | Вещество                    | $\Delta_f H_{298,15}^0$ (эксп.),<br>кДж/моль | Источник | $E_e$ ,<br>хартри | $ZPVE^*$ ,<br>хартри | $\Delta_0^{298,15} H^0$ ,<br>кДж/моль |
|-------------|-----------------------------|----------------------------------------------|----------|-------------------|----------------------|---------------------------------------|
| a           | 5-Амино-2-метил-2H-тетразол | $298,80 \pm 2,80$                            | [14]     | –352,864 739      | 0,090 919            | 19,277                                |
| b           | 1,5-Диметилтетразол         | $273,20 \pm 2,90$                            | [14]     | –336,820 114      | 0,100 896            | 20,354                                |
| c           | 1-Метилтетразол             | $322,90 \pm 2,00$                            | [14]     | –297,503 625      | 0,073 535            | 16,308                                |
| d           | 1-Метил-5-аминотетразол     | $302,40 \pm 2,80$                            | [14]     | –352,857 839      | 0,090 414            | 19,632                                |
| e           | 5-Метил-1H-тетразол         | $280,70 \pm 2,60$                            | [14]     | –297,514 731      | 0,073 555            | 16,109                                |
| f           | 1H-тетразол                 | $320,00 \pm 3,00$                            | [15]     | –258,198 973      | 0,046 303            | 11,653                                |

Окончание табл. 5  
Ending table 5

| Обозначение | Вещество            | $\Delta_f H_{298,15}^0$ (эксп.),<br>кДж/моль | Источник | $E_c$ ,<br>хартри | $ZPVE^*$ ,<br>хартри | $\Delta_0^{298,15} H^0$ ,<br>кДж/моль |
|-------------|---------------------|----------------------------------------------|----------|-------------------|----------------------|---------------------------------------|
| g           | Урацил              | $-(303,10 \pm 2,30)$                         | [16]     | -414,732 474      | 0,085 885            | 18,847                                |
| h           | Тимин               | $-(328,70 \pm 4,30)$                         | [16]     | -454,044 918      | 0,113 116            | 23,348                                |
| j           | 1-Фенилтетразол     | $448,00 \pm 3,00$                            | [15]     | -489,211 366      | 0,126 622            | 23,285                                |
| k           | Метиламин           | $-(23,50 \pm 0,50)$                          | [17]     | -95,841 339       | 0,063 035            | 11,467                                |
| l           | Гидразин            | 95,35                                        | [18]     | -111,844 861      | 0,052 075            | 12,107                                |
| m           | Метан               | $-(74,60 \pm 0,30)$                          | [19]     | -40,509 412       | 0,044 115            | 10,018                                |
| n           | Диметиламин         | $-(19,00 \pm 2,00)$                          | [20]     | -135,137 599      | 0,090 864            | 14,132                                |
| o           | Аммиак              | $-(45,94 \pm 0,35)$                          | [13]     | -56,551 473       | 0,033 860            | 9,998                                 |
| p           | Этан                | $-(83,80 \pm 0,30)$                          | [21]     | -79,811 554       | 0,073 442            | 11,677                                |
| q           | Триметиламин        | $-(23,70 \pm 0,75)$                          | [20]     | -174,438 470      | 0,118 193            | 16,999                                |
| r           | Пропан              | $-(104,70 \pm 0,50)$                         | [21]     | -119,117 451      | 0,101 672            | 14,497                                |
| s           | Мочевина            | $-(235,50 \pm 1,20)$                         | [22]     | -225,230 140      | 0,062 890            | 14,107                                |
| u           | Анилин              | $87,03 \pm 0,88$                             | [23]     | -287,542 432      | 0,115 146            | 17,879                                |
| w           | 5-Фенил-1H-тетразол | $413,00 \pm 5,90$                            | [15]     | -489,207 425      | 0,126 010            | 23,723                                |
| x           | Толуол              | $50,00 \pm 0,63$                             | [24]     | -271,502 969      | 0,125 588            | 18,977                                |
| t           | Темозоломид         | —                                            | —        | -711,031 638      | 0,138 644            | 34,158                                |

\*Значения приведены с учетом масштабирования ( $SF = 0,9854$ ).

Значения стандартных энтальпий изодесмических реакций и соответствующих им стандартных энтальпий образования темозоломида в состоянии идеального газа при  $T = 298,15$  К приведены в табл. 6.

Таблица 6

Стандартные энтальпии изодесмических реакций  
и соответствующие им стандартные энтальпии образования темозоломида  
в состоянии идеального газа при  $T = 298,15$  К

Table 6

Standard enthalpies of isodesmic reactions  
and corresponding values of the formation enthalpies of temozolomide  
in the gaseous state at  $T = 298,15$  K

| Реакция                         | $\Delta_f H_{298,15}^0$ , кДж/моль | $\Delta_f H_{298,15}^0$ , кДж/моль |
|---------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| $a + g + k = t + l + m$         | 131,80                             | $83,2 \pm 3,7$                     |
| $c + g + n + o = t + l + 2m$    | 71,74                              | $80,5 \pm 3,7$                     |
| $e + g + n + k = t + l + p + m$ | 69,41                              | $67,6 \pm 4,1$                     |
| $f + g + q + o = t + l + 2m$    | 63,35                              | $64,5 \pm 3,9$                     |
| $b + g + n + o = t + l + p + m$ | 112,20                             | $80,4 \pm 4,2$                     |
| $a + h + k = t + l + p$         | 161,50                             | $96,5 \pm 5,2$                     |
| $b + h + n + o = t + l + r + m$ | 130,30                             | $93,8 \pm 5,6$                     |
| $c + h + n + o = t + l + p + m$ | 101,50                             | $93,8 \pm 5,2$                     |
| $d + g + k = t + l + m$         | 114,60                             | $44,1 \pm 3,7$                     |
| $d + h + k = t + l + p$         | 144,30                             | $83,0 \pm 5,2$                     |

Окончание табл. 6  
Ending table 6

| Реакция                         | $\Delta_f H_{298,15}^0$ , кДж/моль | $\Delta_f H_{298,15}^0$ , кДж/моль |
|---------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| $f + h + q + o = t + l + p + m$ | 93,06                              | $77,8 \pm 5,3$                     |
| $e + h + n + k = t + l + r + m$ | 87,54                              | $81,0 \pm 5,5$                     |
| $w + g + n + o = t + x + l + m$ | 104,00                             | $73,5 \pm 6,7$                     |

Средневзвешенное значение энтальпии образования темозоломида в газообразном состоянии при  $T = 298,15$  К составило

$$\Delta_f H_{298,15}^0 (\text{г.}) = 75,9 \pm 1,3 \text{ кДж/моль.}$$

Стандартная энтальпия сублимации темозоломида при  $T = 298,15$  К была рассчитана по уравнению, параметризованному и валидированному авторами в работе [10]:

$$\Delta_{\text{sub}} H_{298,15}^0 = a(SA)^2 + b(\sigma_{\text{tot}}^2 \nu)^{0,5} + cPV + d\rho + eV_s^2 + f,$$

где  $SA$  – площадь молекулярной поверхности;  $\sigma_{\text{tot}}^2$  – степень изменчивости потенциала на молекулярной поверхности;  $\nu$  – мера баланса между положительными и отрицательными экстремумами на молекулярной поверхности;  $\Pi$  – мера локальной полярности;  $V$  – объем молекулы;  $\rho$  – расчетная плотность;  $V_s$  – среднее значение потенциала на молекулярной поверхности.

Область применимости модели оценена на основе величины показателя влиятельности (англ. *leverage*). Пороговое значение показателя влиятельности для обучающей выборки составило 0,514 отн. ед. Значение показателя влиятельности для молекулы темозоломида равняется 0,413 отн. ед. и не превышает критического значения, что свидетельствует о возможности применения модели для расчета стандартной энтальпии сублимации темозоломида. Величины молекулярных дескрипторов темозоломида приведены в табл. 7.

Таблица 7

Молекулярные дескрипторы темозоломида,  
используемые для расчета стандартной энтальпии сублимации  
при  $T = 298,15$  К

Table 7

Molecular descriptors of the temozolomide,  
used to calculate standard sublimation enthalpy  
at the  $T = 298.15$  K

| Молекулярный дескриптор                                  | Значение |
|----------------------------------------------------------|----------|
| $SA, \text{\AA}^2$                                       | 206,72   |
| $\sigma_{\text{tot}}^2 \nu, \text{ккал}^2/\text{моль}^2$ | 50,587   |
| $PV, \text{ккал/моль} \cdot \text{\AA}^3$                | 3501     |
| $\rho, \text{г/см}^3$                                    | 1,540    |
| $V_s, \text{ккал/моль}$                                  | 2,180    |

Стандартная энтальпия сублимации темозоломида при  $T = 298,15$  К составила

$$\Delta_{\text{sub}} H_{298,15}^0 = 142,7 \pm 8,8 \text{ кДж/моль.}$$

С учетом рассчитанных стандартных величин энтальпии сублимации и газофазной энтальпии образования темозоломида при  $T = 298,15$  К вычислена теоретическая величина стандартной энтальпии образования темозоломида в кристаллическом состоянии:

$$\Delta_f H_{298,15}^0 (\text{кр.}) = -(66,8 \pm 8,8) \text{ кДж/моль.}$$

Полученное значение стандартной энтальпии образования темозоломида в кристаллическом состоянии при  $T = 298,15$  К согласуется с экспериментально определенным значением в пределах доверительных интервалов, что свидетельствует о надежности рассчитанной величины и возможности применения параметризованной модели электростатического потенциала [10] для расчета энтальпии сублимации темозоломида.

### Заключение

В настоящем исследовании методом адиабатической калориметрии получена температурная зависимость теплоемкости кристаллического темозоломида в интервале 80–370 К. Найдены коэффициенты полиномов, описывающих температурную зависимость теплоемкости исследуемого вещества, и на их основе рассчитаны сглаженные теплоемкости, энтропии, приведенные энтальпии и приведенные энергии Гиббса в различных температурных интервалах в пределах 80–370 К. Методом бомбовой калориметрии сгорания определены стандартные энтальпии сгорания и образования кристаллического темозоломида при  $T = 298,15$  К. В рамках метода изодесмических реакций рассчитано средневзвешенное значение стандартной газовой энтальпии образования темозоломида при  $T = 298,15$  К, а с помощью модели электростатического потенциала получено значение его стандартной энтальпии сублимации при той же температуре. Стандартные термодинамические функции (теплоемкость, энтропия, приведенная энтальпия и приведенная энергия Гиббса) темозоломида в состоянии идеального газа вычислены с применением методов статистической термодинамики. Совместное использование экспериментальных и теоретических методов расчета термодинамических свойств темозоломида позволило валидировать полученные параметры. Результаты настоящей работы могут найти применение при решении задач оптимизации процесса производства темозоломида и валидации экспериментально полученных значений его термодинамических свойств.

### Библиографические ссылки

1. Curtiss LA, Redfern PC, Raghavachari K. Gaussian-4 theory. *The Journal of Chemical Physics*. 2007;126(8):084108. DOI: 10.1063/1.2436888.
2. Yousefinejad S, Hemmateenejad B. Chemometrics tools in QSAR/QSPR studies: a historical perspective. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 2015;149:177–204. DOI: 10.1016/j.chemolab.2015.06.016.
3. Friedman HS, Kerby T, Calvert H. Temozolomide and treatment of malignant glioma. *Clinical Cancer Research*. 2000;6(7):2585–2597.
4. Stupp R, Gander M, Leyvraz S, Newlands E. Current and future developments in the use of temozolomide for the treatment of brain tumours. *The Lancet Oncology*. 2001;2(9):552–560. DOI: 10.1016/S1470-2045(01)00489-2.
5. Blokhin AV, Paulechka YU, Kabo GJ. Thermodynamic properties of  $[C_6\text{mim}][\text{NTf}_2]$  in the condensed state. *Journal of Chemical & Engineering Data*. 2006;51(4):1377–1388. DOI: 10.1021/jc060094d.
6. Kabo GJ, Blokhin AV, Paulechka E, Roganov GN, Frenkel M, Yursha IA, et al. Thermodynamic properties of organic substances: experiment, modeling, and technological applications. *The Journal of Chemical Thermodynamics*. 2019;131:225–246. DOI: 10.1016/j.jct.2018.10.025.
7. Washburn EW. Standard states for bomb calorimetry. *Bureau of Standards Journal of Research*. 1933;10(4):525–558.
8. Годнев ИИ. *Вычисление термодинамических функций по молекулярным данным*. Москва: Гостехтеориздат; 1956. 420 с.
9. Slanina Z. A procedure for the evaluation of the reduced moment of inertia for internal rotation. *Computers & Chemistry*. 1989;13(4):361–366. DOI: 10.1016/0097-8485(89)80043-9.
10. Yurkshtovich YN, Blokhin AV. Sublimation enthalpy prediction and theoretical thermodynamic study of some mesoionic tetrazolium 5-aminides. In: *XII International conference on chemistry for young scientists «Mendeleev 2021»; 2021 September 6–10; Saint Petersburg, Russia*. Saint Petersburg: Saint Petersburg University; 2021. p. 179.
11. Lu T, Chen F. Multiwfn: a multifunctional wavefunction analyzer. *Journal of Computational Chemistry*. 2012;33(5):580–592. DOI: 10.1002/jcc.22885.
12. Meija J, Coplen TB, Berglund M, Brand WA, De Bièvre P, Gröning M, et al. Atomic weights of the elements 2013 (IUPAC technical report). *Pure and Applied Chemistry*. 2016;88(3):265–291. DOI: 10.1515/pac-2015-0305.
13. Cox JD, Wagman DD, Medvedev VA. *CODATA key values for thermodynamics*. New York: Hemisphere Publishing Corporation; 1989. 271 p. (CODATA series on thermodynamic properties).
14. Козыро АА, Симирский ВВ, Красулин АП, Севрук ВМ, Кабо ГЯ, Френкель МЛ и др. Термодинамические свойства производных тетразола в различных агрегатных состояниях. *Журнал физической химии*. 1990;64(3):656–661.
15. Балепин АА, Лебедев ВП, Мирошниченко ЕА, Колдобский ГИ, Островский ВА, Ларионов БП и др. Энергетические эффекты в полифениленах и фенилтетразолах. В: Папулов ЮГ, редактор. *Свойства веществ и строение молекул*. Калинин: Калининский государственный университет; 1977. с. 93–98.
16. Nabavian M, Sabbah R, Chastel R, Laffitte M. Thermodynamique de composés azotés. II. Étude thermochimique des acides aminobenzotiques, de la pyrimidine, de l'uracile et de la thymine. *Journal de Chimie Physique*. 1977;74:115–126. DOI: 10.1051/jcp/1977740115.

17. Aston JG, Siller CW, Messerly GH. Heat capacities and entropies of organic compounds. III. Methylamine from 11.5 K to the boiling point. Heat of vaporization and vapor pressure. The entropy from molecular data. *Journal of the American Chemical Society*. 1937;59(9):1743–1751. DOI: 10.1021/ja01288a054.
18. Chase MW Jr. *NIST-JANAF thermochemical tables*. 4<sup>th</sup> edition. New York: American Institute of Physics; 1998. XI, 1951 p. (Journal of Physical and Chemical Reference Data; monograph No. 9). Co-published by the American Chemical Society.
19. Manion JA. Evaluated enthalpies of formation of the stable closed shell C1 and C2 chlorinated hydrocarbons. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*. 2002;31(1):123–172. DOI: 10.1063/1.1420703.
20. Issoire J, Long C. Etude de la thermodynamique chimique de la reaction de formation des methylamines. *Bulletin de la Société Chimique de France*. 1960;11–12:2004–2012.
21. Pittam DA, Pilcher G. Measurements of heats of combustion by flame calorimetry. Part 8. Methane, ethane, propane, *n*-butane and 2-methylpropane. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases*. 1972;68:2224–2229. DOI: 10.1039/F19726802224.
22. Kabo GYa, Miroshnichenko EA, Frenkel' ML, Kozyro AA, Simirskii VV, Krasulin AP, et al. Thermochemistry of alkyl derivatives of urea. *Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR. Division of Chemical Science*. 1990;39(4):662–667. DOI: 10.1007/BF00960321.
23. Hatton WE, Hildenbrand DL, Sinke GC, Stull DR. Chemical thermodynamic properties of aniline. *Journal of Chemical & Engineering Data*. 1962;7(2):229–231. DOI: 10.1021/je60013a021.
24. Prosen EJ, Gilmont R, Rossini FD. Heats of combustion of benzene, toluene, ethylbenzene, *o*-xylene, *m*-xylene, *p*-xylene, *n*-propylbenzene, and styrene. *Journal of Research of the National Bureau of Standards*. 1945;34:65–71. DOI: 10.6028/JRES.034.034.

## References

1. Curtiss LA, Redfern PC, Raghavachari K. Gaussian-4 theory. *The Journal of Chemical Physics*. 2007;126(8):084108. DOI: 10.1063/1.2436888.
2. Yousefinejad S, Hemmateenejad B. Chemometrics tools in QSAR/QSPR studies: a historical perspective. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 2015;149:177–204. DOI: 10.1016/j.chemolab.2015.06.016.
3. Friedman HS, Kerby T, Calvert H. Temozolomide and treatment of malignant glioma. *Clinical Cancer Research*. 2000;6(7):2585–2597.
4. Stupp R, Gander M, Leyvraz S, Newlands E. Current and future developments in the use of temozolomide for the treatment of brain tumours. *The Lancet Oncology*. 2001;2(9):552–560. DOI: 10.1016/S1470-2045(01)00489-2.
5. Blokhin AV, Paulechka YU, Kabo GJ. Thermodynamic properties of [C<sub>6</sub>mim][NTf<sub>2</sub>] in the condensed state. *Journal of Chemical & Engineering Data*. 2006;51(4):1377–1388. DOI: 10.1021/je600094d.
6. Kabo GJ, Blokhin AV, Paulechka E, Roganov GN, Frenkel M, Yursha IA, et al. Thermodynamic properties of organic substances: experiment, modeling, and technological applications. *The Journal of Chemical Thermodynamics*. 2019;131:225–246. DOI: 10.1016/j.jct.2018.10.025.
7. Washburn EW. Standard states for bomb calorimetry. *Bureau of Standards Journal of Research*. 1933;10(4):525–558.
8. Godnev IN. *Vychislenie termodinamicheskikh funktsii po molekulyarnym dannym* [Calculation of thermodynamic functions from the molecular data]. Moscow: Gostekhteorizdat; 1956. 420 p. Russian.
9. Slanina Z. A procedure for the evaluation of the reduced moment of inertia for internal rotation. *Computers & Chemistry*. 1989;13(4):361–366. DOI: 10.1016/0097-8485(89)80043-9.
10. Yurkshovich YN, Blokhin AV. Sublimation enthalpy prediction and theoretical thermodynamic study of some mesoionic tetrazolium 5-aminides. In: *XII International conference on chemistry for young scientists «Mendeleev 2021»; 2021 September 6–10; Saint Petersburg, Russia*. Saint Petersburg: Saint Petersburg University; 2021. p. 179.
11. Lu T, Chen F. Multiwfn: a multifunctional wavefunction analyzer. *Journal of Computational Chemistry*. 2012;33(5):580–592. DOI: 10.1002/jcc.22885.
12. Meija J, Coplen TB, Berglund M, Brand WA, De Bièvre P, Gröning M, et al. Atomic weights of the elements 2013 (IUPAC technical report). *Pure and Applied Chemistry*. 2016;88(3):265–291. DOI: 10.1515/pac-2015-0305.
13. Cox JD, Wagman DD, Medvedev VA. *CODATA key values for thermodynamics*. New York: Hemisphere Publishing Corporation; 1989. 271 p. (CODATA series on thermodynamic properties).
14. Kozyro AA, Simirskii VV, Krasulin AP, Sevrak VM, Kabo GY, Frenkel ML, et al. [Thermodynamic properties of tetrazole derivatives in different aggregation states]. *Zhurnal fizicheskoi khimii*. 1990;64(3):656–661. Russian.
15. Balepin AA, Lebedev VP, Miroshnichenko EA, Koldobskii GI, Ostrovskii VA, Larionov BP, et al. [Energy effects in polyphenylenes and phenyltetrazoles]. In: Papulov YuG, editor. *Svoistva veshchestv i stroenie molekul* [Properties of substances and the structure of molecules]. Kalinin: Kalinin State University; 1977. p. 93–98. Russian.
16. Nabavian M, Sabbah R, Chastel R, Laffitte M. Thermodynamique de composés azotés. II. Étude thermochimique des acides aminobenzoïques, de la pyrimidine, de l'uracile et de la thymine. *Journal de Chimie Physique*. 1977;74:115–126. DOI: 10.1051/jcp/1977740115.
17. Aston JG, Siller CW, Messerly GH. Heat capacities and entropies of organic compounds. III. Methylamine from 11.5 K to the boiling point. Heat of vaporization and vapor pressure. The entropy from molecular data. *Journal of the American Chemical Society*. 1937;59(9):1743–1751. DOI: 10.1021/ja01288a054.
18. Chase MW Jr. *NIST-JANAF thermochemical tables*. 4<sup>th</sup> edition. New York: American Institute of Physics; 1998. XI, 1951 p. (Journal of Physical and Chemical Reference Data; monograph No. 9). Co-published by the American Chemical Society.
19. Manion JA. Evaluated enthalpies of formation of the stable closed shell C1 and C2 chlorinated hydrocarbons. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*. 2002;31(1):123–172. DOI: 10.1063/1.1420703.
20. Issoire J, Long C. Etude de la thermodynamique chimique de la reaction de formation des methylamines. *Bulletin de la Société Chimique de France*. 1960;11–12:2004–2012.

21. Pittam DA, Pilcher G. Measurements of heats of combustion by flame calorimetry. Part 8. Methane, ethane, propane, *n*-butane and 2-methylpropane. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases*. 1972;68:2224–2229. DOI: 10.1039/F19726802224.
22. Kabo GYa, Miroshnichenko EA, Frenkel' ML, Kozyro AA, Simirskii VV, Krasulin AP, et al. Thermochemistry of alkyl derivatives of urea. *Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR. Division of Chemical Science*. 1990;39(4):662–667. DOI: 10.1007/BF00960321.
23. Hatton WE, Hildenbrand DL, Sinke GC, Stull DR. Chemical thermodynamic properties of aniline. *Journal of Chemical & Engineering Data*. 1962;7(2):229–231. DOI: 10.1021/je60013a021.
24. Prosen EJ, Gilmont R, Rossini FD. Heats of combustion of benzene, toluene, ethylbenzene, *o*-xylene, *m*-xylene, *p*-xylene, *n*-propylbenzene, and styrene. *Journal of Research of the National Bureau of Standards*. 1945;34:65–71. DOI: 10.6028/JRES.034.034.

Получена 25.11.2021 / принята 09.12.2021.  
Received 25.11.2021 / accepted 09.12.2021.

## ЭКСТРАКЦИЯ АНАБОЛИЧЕСКИХ СТЕРОИДОВ ВОДНО-ОРГАНИЧЕСКИМИ СМЕСЯМИ ИЗ ГЕКСАНОВЫХ РАСТВОРОВ

С. М. ЛЕЩЁВ<sup>1)</sup>, Ю. Г. ПОХОДНЯ<sup>2)</sup>, А. А. АГАБАЛАЕВ<sup>3)</sup>, М. Ф. ЗАЯЦ<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

<sup>2)</sup>Национальная антидопинговая лаборатория, аг. Лесной, 31, 223040, Минский район, Беларусь

<sup>3)</sup>Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении, пер. Товарищеский, 2а, 220037, г. Минск, Беларусь

При температуре  $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$  изучена экстракция ряда анаболических стероидов (1,4-андростадиен-3,17-дион; 17 $\alpha$ -метилтестостерон; 19-норэтиохоланолон; 4-гидрокситестостерон; 4-андростен-3,17-дион; 5 $\alpha$ -андростан-3 $\beta$ , 17 $\beta$ -диол; дегидроэпиандростерон; калустерон; клостебол; метандиенон; метилдиенолон; нандролон; тестостерон; эпитестостерон; тиболон; 19-норандростендион; 1-метил-5 $\alpha$ -андростан-3 $\alpha$ -ол-17-он) водно-органическими смесями из гексановых растворов. На основании полученных экспериментальных данных рассчитаны константы распределения анаболических стероидов, которые были использованы для оптимизации стандартной методики пробоподготовки в процессе определения исследуемых соединений в биологически активных добавках к пище и специализированном спортивном питании. Найдено, что наиболее эффективными и селективными экстрагентами из углеводородных растворов являются водно-ацетонитрильные смеси, содержащие от 10 до 20 об. % воды. Разработана экстракционная методика пробоподготовки биологически активных добавок к пище для последующего газохроматографического определения в них анаболических стероидов с использованием масс-спектрометрического детектора типа «тройной квадруполь». Для предложенной методики относительное стандартное отклонение составляет 10–15 %, предел обнаружения – около 10 мкг/кг биологически активных добавок к пище, что позволяет надежно выявлять в них примеси запрещенных анаболических стероидов.

**Ключевые слова:** анаболические стероиды; биологически активные добавки к пище; экстракция; константы распределения; газовая хромато-масс-спектрометрия.

### Образец цитирования:

Лещёв СМ, Походня ЮГ, Агабалаев АА, Заяц МФ. Экстракция анаболических стероидов водно-органическими смесями из гексановых растворов. *Журнал Белорусского государственного университета. Химия.* 2022;1:31–42. <https://doi.org/10.33581/2520-257X-2022-1-31-42>

### For citation:

Leschev SM, Pakhadnia YG, Ahabalaye AA, Zayats MF. Extraction of anabolic steroids with aqueous-organic mixtures from hexanic solutions. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry.* 2022;1:31–42. Russian. <https://doi.org/10.33581/2520-257X-2022-1-31-42>

### Авторы:

**Сергей Михайлович Лещёв** – доктор химических наук, профессор; профессор кафедры аналитической химии химического факультета.

**Юрий Георгиевич Походня** – кандидат биологических наук, доцент; директор.

**Александр Андреевич Агабалаев** – кандидат химических наук; заместитель заведующего лабораторией фармакопейного и фармацевтического анализа.

**Михаил Фёдорович Заяц** – доктор химических наук, доцент; заведующий кафедрой аналитической химии химического факультета.

### Authors:

**Sergey M. Leschev**, doctor of science (chemistry), full professor; professor at the department of analytical chemistry, faculty of chemistry.

[leschev.sergey54@gmail.com](mailto:leschev.sergey54@gmail.com)

<http://orcid.org/0000-0001-5378-1718>

**Yury G. Pakhadnia**, PhD (biology), docent; director.

[pohodnia@list.ru](mailto:pohodnia@list.ru)

<http://orcid.org/0000-0002-7972-7784>

**Aliaksandr A. Ahabalaye**, PhD (chemistry); deputy head of the laboratory of pharmacopoeial and pharmaceutical analysis.

[alexandrmilbox@inbox.ru](mailto:alexandrmilbox@inbox.ru)

<http://orcid.org/0000-0003-3201-3511>

**Mikhail F. Zayats**, doctor of science (chemistry), docent; head of the department of analytical chemistry, faculty of chemistry.

[mikhail\\_zayats@tut.by](mailto:mikhail_zayats@tut.by)

<https://orcid.org/0000-0002-8400-6359>

## EXTRACTION OF ANABOLIC STEROIDS WITH AQUEOUS-ORGANIC MIXTURES FROM HEXANIC SOLUTIONS

S. M. LESCHEV<sup>a</sup>, Y. G. PAKHADNIA<sup>b</sup>, A. A. AHABALAYEU<sup>c</sup>, M. F. ZAYATS<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Belarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

<sup>b</sup>National Anti-Doping Laboratory, 31 Liasny, Minsk Region 223040, Belarus

<sup>c</sup>Center for Examinations and Tests in Health Service, 2a Tavaryski Lane, Minsk 220037, Belarus

Corresponding author: M. F. Zayats (mikhail\_zayats@tut.by)

The extraction of anabolic steroids (1,4-androstadiene-3,17-dione; 17 $\alpha$ -methyltestosterone; 19-norethiocholanolone; 4-hydroxytestosterone; 4-androstene-3,17-dione; 5 $\alpha$ -androstane-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol; dehydroepiandrosterone; calusterone; clostebol; methandienone; methyldienolone; nandrolone; testosterone; epitestosterone; tibolone; 19-norandrostenedione; 1-methylene-5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ -ol-17-one) by aqueous-organic mixtures from hexane solutions was studied at the temperature (20  $\pm$  1) °C. Based on the experimental data obtained, the partition ratios of anabolic steroids were calculated, which were used to optimise the standard sample preparation procedure in the process of determining the compounds under study in biologically active dietary supplements and specialised sports nutrition. It was found that the most effective and selective extractants from hydrocarbon solutions are water-acetonitrile mixtures containing from 10 to 20 % by volume of water. An extraction technique has been developed for sample preparation of biologically active dietary supplements for subsequent gas chromatographic determination of anabolic steroids in them using a triple quadrupole mass spectrometric detector. The proposed method is characterised by a standard deviation of 10–15 % and a detection limit about 10  $\mu$ g/kg of biologically active dietary supplements, which makes it possible to reliably determine impurities of prohibited anabolic steroids in them.

**Keywords:** anabolic steroids; biologically active dietary supplements; extraction; partition ratios; gas chromatography-mass spectrometry.

### Введение

В последние годы в процессе подготовки спортсменов к соревнованиям значительно возросло использование биологически активных добавок к пище (БАД) и специализированного спортивного питания. Известны случаи ежедневного потребления спортсменами 20–25 различных видов БАДов [1]. Однако было обнаружено, что многие добавки содержат не указанные на этикетках запрещенные вещества, прежде всего анаболические стероиды (АС), вызывающие положительный результат при тестировании спортсмена на применение допинга [2].

Согласно правилам Всемирного антидопингового агентства (ВАДА) спортсмен несет ответственность за все вещества, обнаруженные в его биологических жидкостях, вне зависимости от природы этих веществ и пути их попадания в организм. В связи с этим для обеспечения спортсменов качественными добавками, не содержащими веществ, запрещенных ВАДА, необходимо контролировать БАДы, поступающие на рынок [3].

В настоящее время наиболее распространенным методом скрининга при допинг-контроле является газовая хроматография в сочетании с детектированием на тройном квадрупольном масс-анализаторе (ГХ-МС/МС).

Наличие в молекулах АС полярных гидроксо- и кетогрупп приводит к затруднениям при газохроматографическом определении АС из-за их недостаточной летучести и недостаточной термической стабильности в условиях ГХ-анализа, а также сорбции на хроматографической колонке [4]. Данную проблему обычно решают путем дериватизации АС с использованием N-метил-N-(триметилсилил)трифтороацетамида (МСТФА) и при этом получают менее полярные и более летучие и термически устойчивые триметилсилильные (ТМС) производные.

МСТФА количественно реагирует с гидроксогруппами, связанными с первичными и вторичными атомами углерода в АС. Если к МСТФА добавить иодид аммония, то получается триметилсилилиодид, который позволяет проводить силилирование по стерически труднодоступной ОН-группе, связанной с третичным атомом углерода. Триметилсилилиодид катализирует енолизацию АС, содержащих кетогруппы, и ускоряет образование ТМС-производных. В этом случае к МСТФА добавляют также такие восстановители, как этантиол и дитиотреитол, для предотвращения образования молекулярного иода [4].

В большинстве случаев процедура анализа БАДа включает экстракцию, очистку экстрактов, дериватизацию и последующее определение ТМС-производных АС при помощи ГХ-МС/МС [5].

В то же время при разработке универсальной методики определения стероидов, запрещенных для использования в БАДах, приходится сталкиваться с рядом трудностей, которые возникают из-за различия в составе встречающихся форм БАДов (экстракты, сухие и жидкие концентраты, капсулы, таблетки, порошки и т. д.). Матричные компоненты в них представлены как гидрофобными (жиры, липиды и др.), так и гидрофильными (сахариды, белки и т. д.) веществами, попадающими в хроматографируемый раствор и затрудняющими определение АС.

Предложенная в работе [6] методика пробоподготовки БАДов, выпускаемых в твердой форме, для выявления в них АС основана на извлечении аналитов из БАДов метанолом, упаривании метанола досуха, переводе аналитов в пентан и их извлечении 95 % метанолом. Затем метанольную фазу выпаривают досуха, аналиты силилируют и определяют методом ГХ-МС.

С помощью данной методики в работах [5; 7–11] был успешно проведен анализ БАДов на содержание АС. В статьях [5; 10; 11] отмечено, что добавление смеси 1-N,N-диизопропиламино-*n*-алканов перед дериватизацией позволяет увеличить площади пиков анализируемых соединений на хроматограммах. В других статьях описаны несколько схожих вариантов проведения анализа БАДов на содержание АС [6–10; 12–15].

Согласно работам [5; 12] описанные методики пробоподготовки БАДов не позволяют получить достоверные результаты в 11–30 % случаев из-за сильного влияния матрицы, отсутствия на хроматограммах пика, соответствующего внутреннему стандарту, невозможности полного выпаривания некоторых экстрактов или плохой дериватизации аналитов. В настоящее время матричные эффекты нельзя предсказать на основе состава добавки, указанного на этикетке.

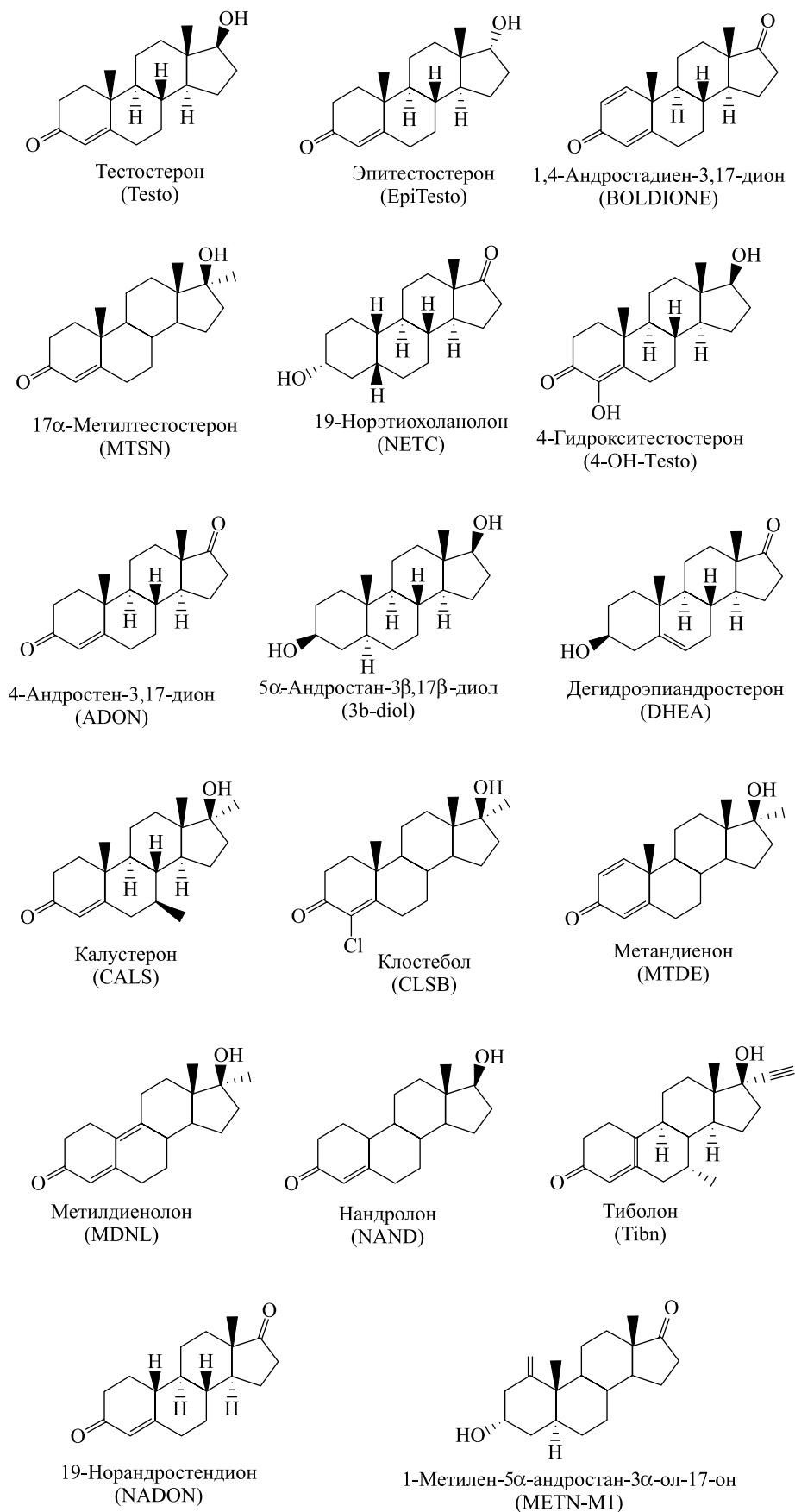
Таким образом, описанные в литературе методики пробоподготовки БАДов для определения в них АС трудоемки и не всегда позволяют получить достоверные результаты из-за сильного влияния матрицы. Более того, все используемые в настоящее время методики являются эмпирическими и не имеют научного обоснования в связи с отсутствием данных по экстракции АС. Определение констант распределения АС в различных экстракционных системах дает возможность предложить оптимизированный, более эффективный вариант пробоподготовки БАДов, который позволит сократить трудозатраты и расход материалов.

Цель данной работы – установить закономерности экстракции ряда АС (1,4-андростадиен-3,17-дион; 17 $\alpha$ -метилтестостерон; 19-норэтиохоланолон; 4-гидрокситестостерон; 4-андростен-3,17-дион; 5 $\alpha$ -андростан-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -диол; дегидроэпиандростерон; калустерон; клостебол; метандиенон; метилдиенолон; нандролон; тестостерон; эпитестостерон; тиболон; 19-норандростендион; 1-метилен-5 $\alpha$ -андростан-3 $\alpha$ -ол-17-он) водно-органическими смесями из гексановых растворов и на основании полученных данных разработать усовершенствованную методику пробоподготовки БАДов для определения в них АС методом ГХ-МС/МС.

### Экспериментальная часть

**Реактивы.** Использовали стандартные образцы следующих веществ (см. рисунок): 1,4-андростадиен-3,17-дион (98,0 %; *National Measurement Institute*, Австралия); 17 $\alpha$ -метилтестостерон ( $\geq 98,0$  %; *Sigma-Aldrich*, США); 19-норэтиохоланолон (99,8 %; *National Measurement Institute*); 4-гидрокситестостерон (96,2 %; *National Measurement Institute*); 4-андростен-3,17-дион ( $\geq 98,0$  %; *Sigma-Aldrich*); 5 $\alpha$ -андростан-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -диол (99,1 %; *National Measurement Institute*); дегидроэпиандростерон (99,2 %; *National Measurement Institute*); калустерон (98,4 %; *National Measurement Institute*); клостебол (99,5 %; *Dr. Ehrenstorfer GmbH*, Германия); метандиенон (*Cerilliant*, США) концентрацией 1,0 мг/мл в 1,2-диметоксиэтаноле; метилдиенолон (99,5 %; *National Measurement Institute*); нандролон (*Cerilliant*) концентрацией 1,0 мг/мл в ацетонитриле; тестостерон ( $\geq 98,0$  %; *USP Reference Standard*, США); эпитестостерон ( $\geq 98,0$  %; *USP Reference Standard*); тиболон (99,6 %; *EDQM*, Франция); 19-норандростендион (99,5 %; *National Measurement Institute*); 1-метилен-5 $\alpha$ -андростан-3 $\alpha$ -ол-17-он (97,4 %; *National Measurement Institute*); гексан «х. ч.» («Экос-1», Россия); метанол для высокоэффективной жидкостной хроматографии ( $\geq 99,9$  %; *Fisher Chemicals*, США); ацетонитрил для высокоэффективной жидкостной хроматографии ( $\geq 99,9$  %; *Fisher Chemicals*). Деионизированную воду получали с помощью системы подготовки воды Direct-Q3 UV System (*Millipore*, США). В качестве газа-носителя для газовой хроматографии использовали гелий (99,9999 %; «НИИ КМ», Россия). В качестве газа столкновения применяли азот (99,999 %; «Крион», Беларусь).

**Аппаратура.** ГХ-МС/МС-анализ проводили на газовом хроматографе Agilent 7890 (*Agilent Technologies*, США) с масс-спектрометрическим детектором типа «тройной квадруполь» Agilent 7000 (*Agilent Technologies*) и устройством автоматического ввода жидких проб Autosampler 7693 (*Agilent Technologies*). Разделение веществ осуществляли на капиллярной колонке длиной 25 м, внутренним диаметром 0,25 мм с нанесенной неподвижной фазой VF-1ms толщиной 0,25 мкм (*Agilent Technologies*).



Структурные формулы АС и их обозначения  
Structural formulas of the anabolic steroids and their designations

**Условия хроматографического разделения и детектирования.** В испаритель вводили 1 мкл образца в режиме без деления потока. Температуру испарителя поддерживали постоянной на уровне 280 °С.

Поток газа-носителя сохраняли постоянным при 1,5 мл/мин. Вещества разделяли в режиме градиентного поднятия температуры термостата колонки: 140 °С (0 мин) – 200 °С (16,7 мин) – 310 °С (20,7 мин). Температуру линии передачи масс-детектора поддерживали на уровне 310 °С. Ионизацию осуществляли электронным ударом (70 эВ) при температуре источника 230 °С. Данные получали в режиме мониторинга множественных реакций (*multiple reaction monitoring*, MRM) для положительно заряженных ионов с 10-й минуты после ввода пробы. Время детектирования одного иона составляло 20 мс.

Качественный и количественный анализ проводился с использованием внутреннего стандарта *бис*-ТМС-1-метилен-5 $\alpha$ -андростан-3 $\alpha$ -ол-17-она (METN-M1).

Время удерживания определяемых соединений относительно *бис*-ТМС-1-метилен-5 $\alpha$ -андростан-3 $\alpha$ -ол-17-она, переходы родительских ионов в дочерние, а также энергия вторичной ионизации ТМС-производных исследованных стероидов приведены в табл. 1. Для управления прибором использовали программное обеспечение *MassHunter GC/MS Acquisition* версии B.06.00.1116, для обработки данных – программное обеспечение *MassHunter Workstation Software Qualitative Analysis* версии B.04.00, *MassHunter Workstation Software Quantitative Analysis* версии B.05.00, редактор таблиц *Microsoft Office Excel 2007* версии 12.0.4518.1014.

Таблица 1

## Условия ГХ-МС/МС обнаружения и определения АС

Table 1

## GC-MS/MS conditions for detection and determination of anabolic steroids

| Относительное время удерживания | Определяемое вещество                                                | Родительский ион | Дочерний ион | Энергия вторичной ионизации, эВ |
|---------------------------------|----------------------------------------------------------------------|------------------|--------------|---------------------------------|
| 0,95                            | <i>бис</i> -ТМС-19-норэтиохоланолон                                  | 405,5            | 225,2        | 15                              |
|                                 |                                                                      | 405,5            | 315,3        | 15                              |
|                                 |                                                                      | 405,5            | 167,0        | 15                              |
| 1,0                             | <i>бис</i> -ТМС-1-метилен-5 $\alpha$ -андростан-3 $\alpha$ -ол-17-он | 446,5            | 341,5        | 15                              |
|                                 |                                                                      | 446,5            | 195,0        | 15                              |
|                                 |                                                                      | 446,5            | 431,0        | 15                              |
| 1,01                            | <i>бис</i> -ТМС-дегидроэпиандростерон                                | 432,4            | 327,3        | 20                              |
|                                 |                                                                      | 432,4            | 237,3        | 20                              |
|                                 |                                                                      | 432,4            | 181,3        | 20                              |
| 1,01                            | <i>бис</i> -ТМС-19-норандростендион                                  | 416,5            | 401,5        | 10                              |
|                                 |                                                                      | 416,5            | 311,2        | 10                              |
|                                 |                                                                      | 416,5            | 246,3        | 10                              |
| 1,02                            | <i>бис</i> -ТМС-5 $\alpha$ -андростан-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -диол    | 421,4            | 255,1        | 15                              |
|                                 |                                                                      | 421,4            | 213,2        | 35                              |
|                                 |                                                                      | 421,4            | 173,1        | 15                              |
| 1,02                            | <i>бис</i> -ТМС-нандролон                                            | 418,4            | 194,1        | 20                              |
|                                 |                                                                      | 418,4            | 182,1        | 20                              |
|                                 |                                                                      | 418,4            | 287,2        | 20                              |
| 1,03                            | <i>бис</i> -ТМС-1,4-андростадиен-3,17-дион                           | 428,4            | 206,2        | 15                              |
|                                 |                                                                      | 428,4            | 323,1        | 15                              |
|                                 |                                                                      | 428,4            | 413,2        | 15                              |
| 1,04                            | <i>бис</i> -ТМС-4-андростен-3,17-дион                                | 430,4            | 209,1        | 15                              |
|                                 |                                                                      | 430,4            | 234,2        | 20                              |
|                                 |                                                                      | 430,4            | 415,3        | 20                              |

Окончание табл. 1  
Ending table 1

| Относительное время удерживания | Определяемое вещество                         | Родительский ион | Дочерний ион | Энергия вторичной ионизации, эВ |
|---------------------------------|-----------------------------------------------|------------------|--------------|---------------------------------|
| 1,05                            | <i>бис</i> -ТМС-тестостерон                   | 432,5            | 209,0        | 10                              |
|                                 |                                               | 432,5            | 327,3        | 5                               |
|                                 |                                               | 432,5            | 417,0        | 10                              |
| 1,05                            | <i>бис</i> -ТМС-эпитестостерон                | 432,5            | 209,0        | 10                              |
|                                 |                                               | 432,5            | 327,3        | 5                               |
|                                 |                                               | 432,5            | 417,0        | 10                              |
| 1,07                            | <i>бис</i> -ТМС-тиболон                       | 456,4            | 441,3        | 20                              |
|                                 |                                               | 456,4            | 247,2        | 20                              |
|                                 |                                               | 456,4            | 351,3        | 20                              |
| 1,08                            | <i>бис</i> -ТМС-метандиенон                   | 444,4            | 206,3        | 20                              |
|                                 |                                               | 444,4            | 191,2        | 20                              |
|                                 |                                               | 444,4            | 339,3        | 20                              |
| 1,09                            | <i>бис</i> -ТМС-метилдиенолон                 | 430,4            | 285,2        | 20                              |
|                                 |                                               | 430,4            | 325,4        | 20                              |
|                                 |                                               | 430,4            | 246,2        | 20                              |
| 1,09                            | <i>бис</i> -ТМС-17 $\alpha$ -метилтестостерон | 446,5            | 301,4        | 10                              |
|                                 |                                               | 446,5            | 356,3        | 10                              |
|                                 |                                               | 446,5            | 314,2        | 10                              |
| 1,10                            | <i>бис</i> -ТМС-калустерон                    | 460,4            | 355,1        | 20                              |
|                                 |                                               | 460,4            | 315,0        | 20                              |
|                                 |                                               | 460,4            | 445,4        | 20                              |
| 1,14                            | <i>трис</i> -ТМС-4-гидрокситестостерон        | 520,6            | 505,4        | 20                              |
|                                 |                                               | 520,6            | 431,3        | 20                              |
|                                 |                                               | 520,6            | 224,9        | 20                              |
| 1,17                            | <i>бис</i> -ТМС-кlostебол                     | 466,4            | 431,4        | 25                              |
|                                 |                                               | 466,4            | 355,3        | 15                              |
|                                 |                                               | 466,4            | 451,1        | 15                              |

### Определение констант распределения

Константы распределения стероидов в исследованных экстракционных системах определяли при равновесной концентрации стероидов в гексановых растворах от 10 до 333 нг/мл при температуре  $(20 \pm 1) ^\circ\text{C}$ . Для всех экстракционных систем, за исключением системы гексан – вода, проводилось предварительное взаимное насыщение фаз. Экстракцию осуществляли путем перемешивания на ротационном миксере при скорости вращения 35 об/мин в течение 20 мин.

Константы распределения анализируемых соединений были рассчитаны в редакторе таблиц *Microsoft Office Excel 2007* исходя из относительных площадей (относительно внутреннего стандарта *бис*-ТМС-1-метил-5 $\alpha$ -андростан-3 $\alpha$ -ол-17-она) соответствующих пиков, полученных на хроматограммах. Среди характеристических MRM-переходов для конкретного вещества выбирался тот MRM-переход, для которого хроматографический пик был наибольшим.

Константы распределения АС (*P*) в экстракционных системах гексан – водно-метанольные смеси и гексан – водно-ацетонитрильные смеси рассчитывали по убыли концентрации стероида из гексановой фазы при соотношении объемов гексановой и водно-органической фаз, равном от 1 : 5 (вода, 20 % вод-

ные растворы метанола или ацетонитрила) до 10 : 1 (80–100 % растворы метанола или ацетонитрила), по уравнению

$$P = \frac{C_{\text{гекс}}}{C_{\text{пол}}} = \frac{C_{\text{гекс}}}{C_{\text{гекс}}^{\text{исх}} - C_{\text{гекс}}} \frac{V_{\text{пол}}}{V_{\text{гекс}}},$$

где  $C_{\text{гекс}}$ ,  $C_{\text{пол}}$  – равновесные концентрации распределяемого вещества в гексановой и водно-органической фазах соответственно;  $C_{\text{гекс}}^{\text{исх}}$  – исходная концентрация распределяемого вещества в гексановой фазе;  $V_{\text{пол}}$ ,  $V_{\text{гекс}}$  – объемы водно-органической и гексановой фаз соответственно, выбираемые таким образом, чтобы убыль концентрации вещества в гексановом растворе была не менее 30 %.

Перед хроматографическим определением концентраций стероидов в гексановых растворах АС подвергали дериватизации с получением ТМС-производных в идентичных условиях.

Для этого исходные и равновесные гексановые растворы стероидов, а также гексановые реэкстракты из равновесных водных растворов выпаривали досуха в токе азота при температуре 40–50 °С. Затем к сухому остатку в пробирках автоматической пипеткой добавляли по 50 мкл раствора внутреннего стандарта (METN-M1) в метаноле с концентрацией 200 нг/мл и снова выпаривали досуха в токе азота при температуре 50 °С. К сухому остатку в пробирках автоматической пипеткой добавляли 50 мкл раствора для дериватизации (МСТФА : аммония иодид : дитиотреитол = 2000 мкл : 4 мг : 3 мкл) и перемешивали полученный раствор с использованием шейкера. Затем пробирки плотно закрывали крышкой и нагревали в блочном термостате при 70 °С в течение 20 мин. После этого пробирки охлаждали до комнатной температуры и переносили растворы автоматической пипеткой в стеклянные вials с конусными вставками.

Раствор для дериватизации готовили путем растворения 5,0 мг аммония иодида и 3,8 мг дитиотреитола в 250 мкл МСТФА и последующего разбавления полученного раствора в 10 раз МСТФА.

Относительные стандартные отклонения рассчитанных констант распределения АС не превышали 30 % и составляли в среднем 15 %.

## Результаты и их обсуждение

В табл. 2 и 3 приведены полученные значения констант распределения 16 исследованных АС в экстракционных системах гексан – водно-метанольные смеси и гексан – водно-ацетонитрильные смеси.

Из данных, приведенных в табл. 2, видно, что все изученные стероиды являются умеренно гидрофобными веществами и величины логарифмов их констант распределения ( $\lg P$ ) в системе гексан – вода больше нуля и имеют максимальные значения.

Гидрофобность АС связана с наличием в структуре их молекул гидрофобного циклопентанпергидрофенантренового фрагмента и углеводородных радикалов.

Замена воды в системе гексан – вода на полярные органические растворители приводит к падению величин  $\lg P$  АС на 1,3–2,6 ед.

Следует заметить, что величины  $\lg P$  всех рассмотренных в данной работе АС меньше 0 в системах гексан – водно-ацетонитрильные смеси и гексан – водно-метанольные смеси с объемным содержанием органического растворителя более 40 %. Следовательно, наблюдается «инверсия» эффекта экстрагируемости АС. Данный эффект характерен для гидрофобных соединений и в основном обусловлен значительным снижением величины сольвофобного эффекта полярной фазы ( $I_{\text{CH}_2}$ ) и инкрементов неполярных и малополярных групп при замене воды на полярные органические растворители и водно-органические смеси [16; 17].

Инкременты полярных групп, как правило, заметно растут (уменьшаются по модулю).

Таким образом, значения инкрементов полярных и неполярных групп сильно нивелируются [16; 17], что приводит к уменьшению наблюдаемого размаха величин  $\lg P$  изученных веществ: с 0,9 для системы гексан – вода до 0,6 для системы гексан – ацетонитрил и до 0,4 для системы гексан – метанол (см. табл. 2 и 3).

При этом заслуживает внимания то, что степень нивелирования в первом приближении является функцией  $I_{\text{CH}_2}$  [16; 17].

Следует отметить, что в системах гексан – водно-ацетонитрильные смеси и гексан – водно-метанольные смеси величины  $\lg P$  гидрофобных АС (см. табл. 2 и 3) сильно уменьшаются с ростом концентрации органического компонента в полярной фазе от 0 до 80 об. %. Данное явление характерно для гидрофобных веществ и вызвано значительным снижением величины сольвофобного эффекта полярной фазы при замене воды на водно-органические смеси и полярные органические растворители [16; 17].

Если говорить об области концентраций органического растворителя в водно-органических смесях от 80 до 100 об. %, то данные, приведенные в табл. 2 и 3, показывают, что для изученных соединений наблюдаются отчетливо выраженные минимумы констант распределения АС при концентрации ацетонитрила или метанола 80–95 об. %.

Таблица 2

**Логарифмы констант распределения АС  
в экстракционных системах гексан – водно-метанольные смеси**

Table 2

**Logarithms of the distribution constants of the anabolic steroids  
in the extraction systems hexane – water-methanol mixtures**

| Полярная фаза | $I_{CH_2}$ | Обозначение АС |       |       |         |       |          |       |       |       |       |       |       |            |       | EpiTesto | Testo |
|---------------|------------|----------------|-------|-------|---------|-------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------------|-------|----------|-------|
|               |            | NETC           | DHEA  | NADON | 3b-diol | NAND  | BOLDIONE | ADON  | Tibn  | MTDE  | MDNL  | MTSN  | CALS  | 4-OH-Testo | CLSB  |          |       |
| Вода          | 0,63       | 0,66           | 0,86  | 0,61  | 0,62    | 0,18  | 0,23     | 0,76  | 1,04  | 0,20  | 0,15  | 0,70  | 0,80  | 0,76       | 0,74  | 0,40     | 0,43  |
| 20 % MeOH     | 0,54       | 0,49           | 0,56  | 0,18  | 0,20    | -0,32 | -0,09    | 0,49  | 1,00  | -0,10 | -0,15 | 0,43  | 0,91  | 0,43       | 0,54  | 0,30     | 0,00  |
| 30 % MeOH     | 0,49       | 0,08           | 0,18  | -0,12 | -0,29   | -0,70 | -0,43    | 0,11  | 0,41  | -0,43 | -0,59 | -0,01 | 0,38  | -0,05      | 0,04  | -0,09    | -0,43 |
| 40 % MeOH     | 0,41       | -0,42          | -0,30 | -0,44 | -0,74   | -1,07 | -0,82    | -0,28 | -0,37 | -0,92 | -0,96 | -0,35 | -0,02 | -0,41      | -0,27 | -0,31    | -0,62 |
| 50 % MeOH     | 0,37       | -0,64          | -0,44 | -0,62 | -1,11   | -1,37 | -1,10    | -0,43 | -0,46 | -1,27 | -1,24 | -0,62 | -0,34 | -0,60      | -0,70 | -0,89    | -1,12 |
| 60 % MeOH     | 0,33       | -1,05          | -1,02 | -1,03 | -1,70   | -1,77 | -1,42    | -0,80 | -0,80 | -1,64 | -1,59 | -1,10 | -0,89 | -1,15      | -1,21 | -1,25    | -1,46 |
| 70 % MeOH     | 0,30       | -1,39          | -1,46 | -1,40 | -2,14   | -2,11 | -1,82    | -1,13 | -1,21 | -2,02 | -1,96 | -1,54 | -1,40 | -1,62      | -1,68 | -1,51    | -1,62 |
| 80 % MeOH     | 0,24       | -1,47          | -1,54 | -1,54 | -2,15   | -2,17 | -1,89    | -1,24 | -1,54 | -2,11 | -2,05 | -1,68 | -1,57 | -1,72      | -1,85 | -1,74    | -1,80 |
| 90 % MeOH     | 0,18       | -1,51          | -1,60 | -1,60 | -2,14   | -2,10 | -1,89    | -1,37 | -1,64 | -2,09 | -2,00 | -1,72 | -1,68 | -1,77      | -1,92 | -1,77    | -1,80 |
| 95 % MeOH     | 0,14       | -1,41          | -1,54 | -1,49 | -2,00   | -1,92 | -1,74    | -1,32 | -1,66 | -1,92 | -1,85 | -1,66 | -1,64 | -1,72      | -1,82 | -1,54    | -1,66 |
| 100 % MeOH    | 0,10       | -0,89          | -1,02 | -1,02 | -1,24   | -1,20 | -1,16    | -0,89 | -1,08 | -1,18 | -1,14 | -1,07 | -1,07 | -1,12      | -1,19 | -0,85    | -0,89 |

Таблица 3

Логарифмы констант распределения АС  
в экстракционных системах гексан – водно-ацетонитрильные смеси

Table 3

Logarithms of the distribution constants of the anabolic steroids  
in the extraction systems hexane – water-acetonitrile mixtures

| Полярная фаза | $I_{CH_2}$ | Обозначение АС |       |       |         |       |          |       |       |       |       |       |       |            |       |          |       |
|---------------|------------|----------------|-------|-------|---------|-------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------------|-------|----------|-------|
|               |            | NETC           | DHEA  | NADON | 3b-diol | NAND  | BOLDIONE | ADON  | Tibn  | MTDE  | MDNL  | MTSN  | CALS  | 4-OH-Testo | CLSB  | EpiTesto | Testo |
| 20 % AcN      | 0,48       | 0,28           | 0,32  | 0,00  | -0,11   | -0,54 | -0,34    | 0,28  | 0,69  | -0,33 | -0,39 | 0,18  | 0,52  | 0,15       | 0,28  | 0,08     | -0,22 |
| 30 % AcN      | 0,41       | -0,12          | -0,12 | -0,38 | -0,59   | -0,89 | -0,72    | -0,14 | 0,15  | -0,74 | -0,70 | -0,24 | 0,04  | -0,28      | -0,22 | -0,38    | -0,59 |
| 40 % AcN      | 0,34       | -0,52          | -0,48 | -0,62 | -0,82   | -1,11 | -1,03    | -0,46 | -0,55 | -1,07 | -1,00 | -0,55 | -0,28 | -0,62      | -0,64 | -0,54    | -0,82 |
| 50 % AcN      | 0,29       | -0,82          | -0,92 | -1,02 | -1,25   | -1,48 | -1,42    | -0,80 | -0,92 | -1,46 | -1,39 | -0,92 | -0,72 | -1,03      | -1,03 | -0,96    | -1,14 |
| 60 % AcN      | 0,26       | -1,13          | -1,27 | -1,35 | -1,59   | -1,80 | -1,70    | -1,15 | -1,24 | -1,74 | -1,64 | -1,30 | -1,11 | -1,40      | -1,49 | -1,22    | -1,44 |
| 70 % AcN      | 0,23       | -1,26          | -1,46 | -1,49 | -1,72   | -1,89 | -1,82    | -1,30 | -1,38 | -1,82 | -1,74 | -1,44 | -1,36 | -1,52      | -1,68 | -1,46    | -1,60 |
| 80 % AcN      | 0,22       | -1,37          | -1,59 | -1,70 | -1,82   | -2,01 | -2,00    | -1,46 | -1,55 | -1,92 | -1,85 | -1,51 | -1,43 | -1,70      | -1,77 | -1,74    | -1,77 |
| 90 % AcN      | 0,19       | -1,57          | -1,70 | -1,82 | -1,89   | -2,09 | -2,17    | -1,62 | -2,07 | -2,17 | -2,05 | -1,77 | -1,66 | -1,92      | -2,00 | -1,77    | -1,80 |
| 95 % AcN      | 0,17       | -1,48          | -1,66 | -1,77 | -1,72   | -1,96 | -2,03    | -1,60 | -1,80 | -1,92 | -1,89 | -1,59 | -1,54 | -1,77      | -1,96 | -1,74    | -1,82 |
| 100 % AcN     | 0,13       | -1,18          | -1,41 | -1,59 | -1,40   | -1,64 | -1,80    | -1,46 | -1,59 | -1,51 | -1,46 | -1,28 | -1,24 | -1,48      | -1,66 | -1,33    | -1,48 |

Данное явление характерно также для органических веществ небольшой молекулярной массы, в структуру молекул которых, наряду с углеводородными заместителями, входят сильнополярные функциональные группы [16; 17]. Его причиной является значительно более сильное падение инкрементов полярных групп по сравнению с ростом инкрементов неполярных групп распределяемого вещества при небольших добавках воды к ацетонитрилу или метанолу, а также по сравнению с резким уменьшением взаимной растворимости гексана и полярного органического растворителя, в первую очередь метанола.

Так, с ростом концентрации метанола в полярной фазе от 90 до 100 об. % увеличивается концентрация метанола в гексане, а значит, и сольватация гидроксильных и кетонных групп АС метанолом, содержащимся в гексановой фазе. Этим объясняется снижение экстрагируемости АС полярной фазой с ростом содержания метанола в данной области концентраций.

Минимальные значения  $\lg P$  большинства анализируемых АС оказались ниже при использовании водно-ацетонитрильных смесей, чем при применении водно-метанольных смесей (см. табл. 2 и 3). Растворимость ацетонитрила в гексане ниже, чем растворимость метанола, и мало зависит от содержания ацетонитрила в диапазоне концентраций 30–100 % в водно-ацетонитрильной смеси [18]. Для большинства рассмотренных стероидов это приводит к снижению значений констант распределения АС и увеличению экстрагируемости анализируемых АС для системы гексан – 90 % ацетонитрил по сравнению с системой гексан – 90 % метанол.

Увеличение значений констант распределения АС при концентрации ацетонитрила в смеси более 90 об. % объясняется снижением сольватационного эффекта в связи с очень малым содержанием в полярной фазе воды, характеризующейся гораздо более сильной сольватирующей способностью, чем ацетонитрил.

Стоит отметить, что ацетонитрил является более селективным экстрагентом, чем метанол, из-за отсутствия возможности образования водородных связей и худшей способности к экстракции белков и полярных соединений, которые могут содержаться в сложных матрицах (например, БАДах). На основании этого можно заключить, что для извлечения большинства исследуемых АС из гексановых растворов наиболее эффективными и одновременно селективными экстрагентами являются водно-ацетонитрильные смеси, содержащие от 10 до 20 об. % воды.

### Определение анаболических стероидов в БАДах

На основании полученных констант распределения АС была разработана методика пробоподготовки БАДов и специализированного спортивного питания для определения в них АС.

Данная методика включает в себя гомогенизацию образца БАДа в воде и извлечение АС, содержащегося в образце, гексаном, при этом АС и гидрофобные компоненты матрицы экстрагируются, а гидрофильные примеси отделяются. Затем из гексанового раствора анаболические стероиды экстрагируют 90 % водным раствором ацетонитрила и одновременно отделяют сильно гидрофобные компоненты матрицы. Степень извлечения АС из гексанового раствора в соответствии с величинами констант распределения составляет 93,7–98,3 %. В результате остается очищенный водно-ацетонитрильный экстракт, который после удаления воды и ацетонитрила силилируют и хроматографируют.

Предложенная методика была апробирована на образцах БАДов, содержащих изученные АС, и позволила однозначно идентифицировать искомые АС. Для данной методики относительное стандартное отклонение составляет 10–15 %, предел обнаружения – около 10 мкг/кг БАДов, что дает возможность надежно определять в них примеси запрещенных АС.

### Заключение

Установлено, что большинство исследованных АС эффективно экстрагируются из гексановых растворов водно-ацетонитрильными смесями, содержащими от 10 до 20 об. % воды, что было использовано для разработки оптимизированной методики пробоподготовки, основанной на экстракционном извлечении АС из водной суспензии анализируемого образца БАДа гексаном с последующей их реэкстракцией водно-ацетонитрильной смесью.

Апробация разработанной методики на образцах БАДов, содержащих изученные АС, показала возможность ее применения для контроля БАДов на содержание запрещенных АС.

Для предложенной методики относительное стандартное отклонение составляет 10–15 %, предел обнаружения – около 10 мкг/кг БАДов, что позволяет надежно определять в них примеси запрещенных АС.

## Библиографические ссылки

1. Geyer H, Parr MK, Koehler K, Mareck U, Schänzer W, Thevis M. Nutritional supplements cross-contaminated and faked with doping substances. *Journal of Mass Spectrometry*. 2008;43(7):892–902. DOI: 10.1002/jms.1452.
2. Pipe A, Ayotte C. Nutritional supplements and doping. *Clinical Journal of Sport Medicine*. 2002;12(4):245–249. DOI: 10.1097/00042752-200207000-00008.
3. Maughan RJ, Greenhaff PL, Hespel P. Dietary supplements for athletes: emerging trends and recurring themes. *Journal of Sports Sciences*. 2011;29(supplement 1):57–66. DOI: 10.1080/02640414.2011.587446.
4. Segura J, Ventura R, Jurabo C. Derivatization procedures for gas chromatographic – mass spectrometric determination of xenobiotics in biological samples, with special attention to drugs of abuse and doping agents. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 1998;713(1):61–90. DOI: 10.1016/S0378-4347(98)00089-9.
5. Parr MK, Geyer H, Reinhart U, Schänzer W. Analytical strategies for the detection of non-labelled anabolic androgenic steroids in nutritional supplements. *Food Additives & Contaminants*. 2004;21(7):632–640. DOI: 10.1080/02652030410001701602.
6. Geyer H, Mareck-Engelke U, Reinhart U, Thevis M, Schänzer W. The analysis of nutrition supplements for anabolic-androgenic steroids. *Recent Advances in Doping Analysis*. 2000;8:23–32.
7. Geyer H, Parr MK, Mareck U, Reinhart U, Shrader Y, Schänzer W. Analysis of non-hormonal nutritional supplements for anabolic-androgenic steroids – results of an international study. *International Journal of Sports Medicine*. 2004;25(2):124–129. DOI: 10.1055/s-2004-819955.
8. Baume N, Mahler N, Kamber M, Mangin P, Saugy M. Research of stimulants and anabolic steroids in dietary supplements. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. 2006;16(1):41–48. DOI: 10.1111/j.1600-0838.2005.00442.x.
9. Parr MK, Geyer H, Hoffmann B, Köhler K, Mareck U, Schänzer W. High amounts of 17-methylated anabolic-androgenic steroids in effervescent tablets on the dietary supplement market. *Biomedical Chromatography*. 2007;21(2):164–168. DOI: 10.1002/bmc.728.
10. Geyer H, Gülker A, Mareck U, Parr MK, Schänzer W. Some good news from the field of nutritional supplements. *Recent Advances in Doping Analysis*. 2004;12:91–97.
11. Lamor M, Vajjala I, Vajjala G. The quantification of prohormones in nutritional supplements. *Recent Advances in Doping Analysis*. 2004;12:497–500.
12. Van Thuyne W, Delbeke FT. Nutritional supplements and doping: the Ghent experience. *Recent Advances in Doping Analysis*. 2003;11:57–66.
13. Martello S, Felli M, Chiarotti M. Survey of nutritional supplements for selected illegal anabolic steroids and ephedrine using LC-MS/MS and GC-MS methods, respectively. *Food Additives & Contaminants*. 2007;24(3):258–265. DOI: 10.1080/02652030601013729.
14. Van Thuyne W, Delbeke FT. Validation of a GC-MS screening method for anabolizing agents in solid nutritional supplements. *Biomedical Chromatography*. 2004;18(3):155–159. DOI: 10.1002/bmc.303.
15. Van Thuyne W, Delbeke FT. Validation of a GC-MS screening method for anabolizing agents in aqueous nutritional supplements. *Journal of Chromatographic Science*. 2005;43(1):2–6. DOI: 10.1093/chromsci/43.1.2.
16. Заяц МФ. Новые подходы в применении экстракции при определении микроколичеств пестицидов в сельскохозяйственной продукции и объектах окружающей среды хроматографическими методами. Минск: БГУ; 2019. 355 с.
17. Leschev SM. Regularities of extraction in systems on the basis of polar organic solvents and use of such systems for separation of important hydrophobic substances. In: Marcus Y, SenGupta AK, editors. *Ion Exchange and Solvent Extraction. Volume 15*. New York: CRC Press; 2002. p. 295–330.
18. Лещев СМ, Мельситова ИВ. Факторы, влияющие на взаимную растворимость алифатических углеводов и полярных органических растворителей, а также их смесей с водой. *Журнал прикладной химии*. 1993;66(3):562–566.

## References

1. Geyer H, Parr MK, Koehler K, Mareck U, Schänzer W, Thevis M. Nutritional supplements cross-contaminated and faked with doping substances. *Journal of Mass Spectrometry*. 2008;43(7):892–902. DOI: 10.1002/jms.1452.
2. Pipe A, Ayotte C. Nutritional supplements and doping. *Clinical Journal of Sport Medicine*. 2002;12(4):245–249. DOI: 10.1097/00042752-200207000-00008.
3. Maughan RJ, Greenhaff PL, Hespel P. Dietary supplements for athletes: emerging trends and recurring themes. *Journal of Sports Sciences*. 2011;29(supplement 1):57–66. DOI: 10.1080/02640414.2011.587446.
4. Segura J, Ventura R, Jurabo C. Derivatization procedures for gas chromatographic – mass spectrometric determination of xenobiotics in biological samples, with special attention to drugs of abuse and doping agents. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 1998;713(1):61–90. DOI: 10.1016/S0378-4347(98)00089-9.
5. Parr MK, Geyer H, Reinhart U, Schänzer W. Analytical strategies for the detection of non-labelled anabolic androgenic steroids in nutritional supplements. *Food Additives & Contaminants*. 2004;21(7):632–640. DOI: 10.1080/02652030410001701602.
6. Geyer H, Mareck-Engelke U, Reinhart U, Thevis M, Schänzer W. The analysis of nutrition supplements for anabolic-androgenic steroids. *Recent Advances in Doping Analysis*. 2000;8:23–32.
7. Geyer H, Parr MK, Mareck U, Reinhart U, Shrader Y, Schänzer W. Analysis of non-hormonal nutritional supplements for anabolic-androgenic steroids – results of an international study. *International Journal of Sports Medicine*. 2004;25(2):124–129. DOI: 10.1055/s-2004-819955.
8. Baume N, Mahler N, Kamber M, Mangin P, Saugy M. Research of stimulants and anabolic steroids in dietary supplements. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. 2006;16(1):41–48. DOI: 10.1111/j.1600-0838.2005.00442.x.
9. Parr MK, Geyer H, Hoffmann B, Köhler K, Mareck U, Schänzer W. High amounts of 17-methylated anabolic-androgenic steroids in effervescent tablets on the dietary supplement market. *Biomedical Chromatography*. 2007;21(2):164–168. DOI: 10.1002/bmc.728.

10. Geyer H, Gülker A, Mareck U, Parr MK, Schänzer W. Some good news from the field of nutritional supplements. *Recent Advances in Doping Analysis*. 2004;12:91–97.
11. Lamor M, Vajjala I, Vajjala G. The quantification of prohormones in nutritional supplements. *Recent Advances in Doping Analysis*. 2004;12:497–500.
12. Van Thuyne W, Delbeke FT. Nutritional supplements and doping: the Ghent experience. *Recent Advances in Doping Analysis*. 2003;11:57–66.
13. Martello S, Felli M, Chiarotti M. Survey of nutritional supplements for selected illegal anabolic steroids and ephedrine using LC-MS/MS and GC-MS methods, respectively. *Food Additives & Contaminants*. 2007;24(3):258–265. DOI: 10.1080/02652030601013729.
14. Van Thuyne W, Delbeke FT. Validation of a GC-MS screening method for anabolizing agents in solid nutritional supplements. *Biomedical Chromatography*. 2004;18(3):155–159. DOI: 10.1002/bmc.303.
15. Van Thuyne W, Delbeke FT. Validation of a GC-MS screening method for anabolizing agents in aqueous nutritional supplements. *Journal of Chromatographic Science*. 2005;43(1):2–6. DOI: 10.1093/chromsci/43.1.2.
16. Zayats MF. *Novye podkhody v primeneniі ekstraktsii pri opredelenii mikrokolichestv pestitsidov v sel'skokhozyaistvennoi produktsii i ob'ektakh okruzhayushchei sredy khromatograficheskimi metodami* [New approaches in the application of extraction in the determination of microquantities of pesticides in agricultural products and environmental objects by chromatographic methods]. Minsk: Belarusian State University; 2019. 355 p. Russian.
17. Leshev SM. Regularities of extraction in systems on the basis of polar organic solvents and use of such systems for separation of important hydrophobic substances. In: Marcus Y, SenGupta AK, editors. *Ion Exchange and Solvent Extraction. Volume 15*. New York: CRC Press; 2002. p. 295–330.
18. Leshchev SM, Melsitova IV. Factors affecting the reciprocal solubility of aliphatic-hydrocarbons and polar organic-solvents and their aqueous mixtures. *Zhurnal prikladnoi khimii*. 1993;66(3):562–566. Russian.

Получена 20.12.2021 / исправлена 05.01.2022 / принята 13.01.2022.  
Received 20.12.2021 / revised 05.01.2022 / accepted 13.01.2022.

УДК 547.756,577.19,577.29,616-006.484

## ВЛИЯНИЕ 3-АЦЕТИЛ-5-ГИДРОКСИ-2-МЕТИЛИНДОЛА НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ И МЕТАБОЛИЗМ КЛЕТОК ГЛИОМЫ

Я. В. ПАНАДА<sup>1)</sup>, В. А. КЛОПОВА<sup>1)</sup>, Т. А. КУЛАГОВА<sup>2)</sup>,  
Я. В. ФАЛЕТРОВ<sup>1), 3)</sup>, М. С. ХОРЕЦКИЙ<sup>1)</sup>, Н. С. ФРОЛОВА<sup>1)</sup>,  
С. В. КОРЕНЬ<sup>4)</sup>, Е. Г. ФОМИНА<sup>4)</sup>, В. М. ШКУМАТОВ<sup>1), 3)</sup>

<sup>1)</sup>Научно-исследовательский институт физико-химических проблем БГУ,  
ул. Ленинградская, 14, 220006, г. Минск, Беларусь

<sup>2)</sup>Институт ядерных проблем БГУ, ул. Бобруйская, 11, 220006, г. Минск, Беларусь

<sup>3)</sup>Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

<sup>4)</sup>Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,  
ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Беларусь

Получен 3-ацетилированный аналог 5-гидроксииндола. Изучено его влияние на функции клеток глиомы крысы линии С6. Выявлено, что 3-ацетил-5-гидрокси-2-метилиндола в концентрации 10 мкмоль/л вызывает резкое уменьшение митохондриального мембранного потенциала, стимулирует процессы аутофагии и снижает проли-

### Образец цитирования:

Панада ЯВ, Клопова ВА, Кулагова ТА, Фалетров ЯВ, Хорецкий МС, Фролова НС, Корень СВ, Фомина ЕГ, Шкуматов ВМ. Влияние 3-ацетил-5-гидрокси-2-метилиндола на пролиферацию и метаболизм клеток глиомы. *Журнал Белорусского государственного университета. Химия*. 2022; 1:43–52.

<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2022-1-43-52>

### For citation:

Panada JU, Klopava VA, Kulahava TA, Faletrov YV, Horetski MS, Frolova NS, Koran SV, Fomina EG, Shkumatov VM. Influence of 3-acetyl-5-hydroxy-2-methylindole on glioma cell proliferation and metabolism. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry*. 2022;1:43–52. Russian.

<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2022-1-43-52>

### Авторы:

**Ян Владимирович Панада** – младший научный сотрудник лаборатории биохимии лекарственных препаратов.

**Валерия Андреевна Клопова** – стажер младшего научного сотрудника лаборатории биохимии лекарственных препаратов.

**Татьяна Александровна Кулагова** – кандидат биологических наук; ведущий научный сотрудник лаборатории нанoeлектромагнетизма.

**Ярослав Вячеславович Фалетров** – кандидат химических наук, доцент; ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии лекарственных препаратов<sup>1)</sup>, доцент кафедры высокомолекулярных соединений химического факультета<sup>3)</sup>.

**Матвей Сергеевич Хорецкий** – младший научный сотрудник лаборатории биохимии лекарственных препаратов.

**Нина Степановна Фролова** – научный сотрудник лаборатории биохимии лекарственных препаратов.

**Сергей Викторович Корень** – научный сотрудник лаборатории иммунологии и клеточной биотехнологии.

**Елена Георгиевна Фомина** – кандидат биологических наук; заведующий лабораторией иммунологии и клеточной биотехнологии.

**Владимир Макарович Шкуматов** – член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биологических наук, профессор; главный научный сотрудник лаборатории биохимии лекарственных препаратов<sup>1)</sup>, профессор кафедры высокомолекулярных соединений химического факультета<sup>3)</sup>.

### Authors:

**Jan U. Panada**, junior researcher at the laboratory of biochemistry of drugs.

[panada@bsu.by](mailto:panada@bsu.by)

**Valeriya A. Klopava**, junior researcher trainee at the laboratory of biochemistry of drugs.

[bsu.valeria.kl@gmail.com](mailto:bsu.valeria.kl@gmail.com)

**Tatsiana A. Kulahava**, PhD (biology); leading researcher at the laboratory of nanoelectromagnetism.

[tatyana\\_kulagova@tut.by](mailto:tatyana_kulagova@tut.by)

**Yaroslav V. Faletrov**, PhD (chemistry), docent; leading researcher at the laboratory of biochemistry of drugs<sup>a</sup> and associate professor at the department of macromolecular compounds, faculty of chemistry<sup>c</sup>.

[yaroslav82@tut.by](mailto:yaroslav82@tut.by)

**Matvey S. Horetski**, junior researcher at the laboratory of biochemistry of drugs.

[matvey.horetski@gmail.com](mailto:matvey.horetski@gmail.com)

**Nina S. Frolova**, researcher at the laboratory of biochemistry of drugs.

[frolova\\_n\\_2006@bk.ru](mailto:frolova_n_2006@bk.ru)

**Siarhei V. Koran**, researcher at the laboratory for immunology and cell biotechnology.

[korensv@tut.by](mailto:korensv@tut.by)

**Elena G. Fomina**, PhD (biology); head of the laboratory for immunology and cell biotechnology.

[feg1@tut.by](mailto:feg1@tut.by)

<https://orcid.org/0000-0003-3028-1176>

**Vladimir M. Shkumatov**, corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus, doctor of science (biology), full professor; chief researcher at the laboratory of biochemistry of drugs<sup>a</sup> and professor at the department of macromolecular compounds, faculty of chemistry<sup>c</sup>.

[vlad.shkumatov@tut.by](mailto:vlad.shkumatov@tut.by)

ферацию клеток глиомы. Предположено, что 3-ацетил-5-гидрокси-2-метилиндо́л обладает таким же механизмом действия, как и ингибитор клеточного дыхания ротенон.

**Ключевые слова:** 5-гидроксииндол; глиома; аутофагия; митохондриальный трансмембранный потенциал; ротенон.

**Благодарность.** Данная работа была выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № X20M-113).

## INFLUENCE OF 3-ACETYL-5-HYDROXY-2-METHYLINDOLE ON GLIOMA CELL PROLIFERATION AND METABOLISM

J. U. PANADA<sup>a</sup>, V. A. KLOPAVA<sup>a</sup>, T. A. KULAHAVA<sup>b</sup>,  
Y. V. FALETROV<sup>a, c</sup>, M. S. HORETSKI<sup>a</sup>, N. S. FROLOVA<sup>a</sup>,  
S. V. KORAN<sup>d</sup>, E. G. FOMINA<sup>d</sup>, V. M. SHKUMATOV<sup>a, c</sup>

<sup>a</sup>Research Institute for Physical Chemical Problems, Belarusian State University,  
14 Lieninhradskaja Street, Minsk 220006, Belarus

<sup>b</sup>Institute for Nuclear Problems, Belarusian State University,  
11 Babrujskaja Street, Minsk 220006, Belarus

<sup>c</sup>Belarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

<sup>d</sup>Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology,  
23 Filimonava Street, Minsk 220114, Belarus

Corresponding author: V. M. Shkumatov (vlad.shkumatov@tut.by)

A 3-acetyl analogue of 5-hydroxyindole was synthesised and evaluated for its effects on rat C6 glioma cell functions. It was found that 3-acetyl-5-hydroxy-2-methylindole at 10  $\mu\text{mol/L}$  led to a sharp reduction of mitochondrial membrane potential, induction of autophagy and decrease of proliferation of C6 glioma cells. The compound's effect was comparable to that of rotenone, an inhibitor of cell respiration.

**Keywords:** 5-hydroxyindole; glioma; autophagy; mitochondrial transmembrane potential; rotenone.

**Acknowledgements.** This work was supported by Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (grant No. X20M-113).

### Введение

Глиомы и глиобластомы человека – одни из наиболее распространенных вариантов злокачественных опухолей головного мозга, которые характеризуются высокой смертностью и труднодоступностью для терапии [1]. Ввиду необходимости систематического лечения с одновременным применением хирургических, радио- и химиотерапевтических методов терапия глиом и глиобластом остается малоэффективной. Актуальной является проблема поиска новых химиотерапевтических препаратов для лечения глиом. Известно, что метаболиты 5-гидрокситриптофана: 5-гидроксииндол, *N*-ацетилсеротонин и 5-гидроксииндолацетат – выполняют важные регуляторные, антиоксидантные и нейропротекторные функции в мозге при нормальных условиях и при патологии [2; 3]. Для различных типов опухолей, в том числе трансформированных клеток предстательной и молочной желез, печени, кишечника и головного мозга, характерны нарушения в метаболизме серотонина (5-гидрокситриптамин, 5-НТ) и клеточной сигнализации, опосредованной рецепторами 5-НТ, что способствует развитию устойчивости опухолевых клеток к лечению [4; 5]. Показано, что ингибирование и селективное модулирование рецепторов 5-НТ индуцируют усиление восприимчивости к химиотерапии и гибель опухолевых клеток [6; 7]. Таким образом, создание модифицированных производных 5-гидроксииндолов, выполняющих роль либо антагонистов рецепторов 5-НТ, либо антиметаболитов 5-гидрокситриптофана, является перспективным для противоопухолевой терапии глиом. В настоящей работе получено 3-ацетилпроизводное 5-гидроксииндола и изучено его влияние на пролиферацию и метаболические функции клеток глиомы крысы линии С6.

## Материалы и методы исследования

**Реагенты.** В ходе исследования использовали следующие реагенты: ацетилацетон (98 %; *Sigma*, США); бензохинон (98 %; *Sigma*); концентрированный водный раствор  $\text{NH}_3$  (25 % по массе; «Экос-1», Россия); нитрометан (98 %; *Alfa Aesar*, США). В качестве буферных растворов применяли HEPES-буфер (pH 7,3; 131 ммоль/л NaCl, 5 ммоль/л KCl, 1,3 ммоль/л  $\text{CaCl}_2$ , 1,3 ммоль/л  $\text{MgSO}_4$ , 6 ммоль/л глюкозы, 20 ммоль/л HEPES) и фосфатный буфер (pH 7,3; 137 ммоль/л NaCl, 2,7 ммоль/л KCl, 10,1 ммоль/л  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 1,4 ммоль/л  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ). Реагенты для растворов поставлялись производителем «Анализ Х» (Минск, Беларусь). Все растворители перегонялись перед использованием. Масс-спектры ионизации электрораспылением (ESI-MS) получили на оборудовании Shimadzu LCMS-2020 (Япония) либо Agilent 6530 Accurate Mass Q-TOF LC/MS System (США) в режиме ионизации электроспреем. IR-анализ проводился на приборе Bruker Alpha (ячейка ATR-DI; США) в диапазоне от 4000 до 400  $\text{см}^{-1}$ .

**Синтез 3-ацетил-5-гидрокси-2-метилиндола (5-НІЕТ).** Схема синтеза 5-НІЕТ представлена на рис. 1.

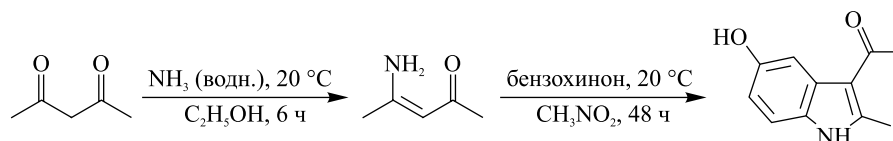


Рис. 1. Схема синтеза 5-НІЕТ

Fig. 1. Synthesis of 5-HIET

Синтез 5-НІЕТ проводили в две стадии, состоящие в получении соответствующего енамина и использовании последнего в реакции Неницеску:

1) *синтез 4-аминопент-3-ен-2-она.* К 0,5 мл ацетилацетона в 1 мл этанола, охлажденного до  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , по каплям добавляли 0,67 мл концентрированного аммиака. Реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и выдерживали при постоянном перемешивании. По прошествии 4 ч смесь частично упарили под вакуумом и проэкстрагировали диэтиловым эфиром. Выход вещества составил 80 %;

2) *синтез 5-НІЕТ.* К раствору 77,6 мг свежесублимированного бензохинона ( $7,19 \cdot 10^{-4}$  моль) в 0,5 мл нитрометана медленно добавляли 75 мг 4-аминопент-3-ен-2-она ( $7,57 \cdot 10^{-4}$  моль) в 0,5 мл нитрометана. Смесь выдерживали 48 ч в затемненной посуде при комнатной температуре. Ход реакции оценивали с помощью тонкослойной хроматографии с проявлением УФ-светом (254 нм). После расходования бензохинона реакционную смесь упарили под вакуумом и подвергли разделению с использованием колоночной хроматографии (элюент:  $\text{CHCl}_3$ — $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  в соотношении 19 : 1 по объему). Выход вещества составил 24 % (белый порошок со слабым серым оттенком). ESI-MS: для  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{NO}_2$   $[\text{M} + \text{H}]^+$  расчетные значения сигнала составили 190,218, экспериментальные значения  $m/z$  – 190,231; для  $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{NO}_4$   $[\text{M} + 2\text{H}_2\text{O} + \text{H}]^+$  расчетные значения равнялись 226,11, экспериментальные значения  $m/z$  – 226,05. IR-спектроскопия,  $\text{см}^{-1}$ : 3200–3100 (O—H, фенол), 2950–2830 (C—H), 1687 (C=O, арилкетон), 1650–1630 (C=C, ароматическая), 1552 (C=C, ароматическая), 1454 (C=C, ароматическая), 1380 (деформация O—H), 1348 (ароматическая), 1209 (C—O, фенол).

**Культивирование клеток глиомы крысы линии С6.** Культуру клеток глиомы крысы линии С6, полученную из коллекции культур клеток человека и животных Республиканского научно-практического центра эпидемиологии и микробиологии (Минск, Беларусь), культивировали в среде DMEM/F-12 (*Sigma Chemical*, США) с добавлением 10 % бычьей эмбриональной сыворотки HyClone (США) и гентамицина в концентрации 40 мкг/мл («Белмедпрепараты», Беларусь). Культивирование клеток проводили в атмосфере, содержащей 5 %  $\text{CO}_2$ , при температуре  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Клетки в культуре с синтезированными соединениями инкубировали в вышеуказанных условиях на протяжении 1–24 ч, используя диметилсульфоксид (ДМСО) в качестве контроля. Конечная концентрация ДМСО в культуре не превышала 0,1 %. Снятие клеток с подложки осуществляли путем 2-минутной инкубации в присутствии 0,025 % раствора трипсина (*Sigma-Aldrich*, Германия). Клетки отделяли путем центрифугирования при 185 g, промывали HEPES-буфером и ресуспендировали в необходимом буферном растворе из расчета  $10^6$  клеток на 1 мл.

Культивацию дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (штамм YEp5117 $\alpha$ ) осуществляли по методике, описанной в работе [8].

**Исследование пролиферации клеток.** Для исследования пролиферации клеток глиомы С6 применяли метод флуориметрии с использованием интеркалирующего соединения иодида пропидия (PI; *Sigma-Aldrich*). После 24 ч инкубации в присутствии изучаемых соединений клетки глиомы С6 подвергали трипсинизации и ресуспендировали в 2 мл буферного раствора. К суспензии добавляли 30 мкл PI концентрацией 4 мкмоль/л при перемешивании и регистрировали интенсивность сигнала  $F_1$  ( $\lambda_{\text{ex}} = 530\text{ нм}$ ,

$\lambda_{\text{cm}} = 645$  нм), после чего разрушали клетки с помощью 0,1 % Triton X-100 и регистрировали значение  $F_2$ . Индекс пролиферации  $\frac{N}{N_0}$  (в %) рассчитывали по формуле

$$\frac{N}{N_0} = \frac{F_2 - F_1}{F_2^0 - F_1^0} \cdot 100,$$

где индексом 0 обозначены контрольные образцы, содержащие только ДМСО.

**Исследование цитотоксичности по отношению к клеткам дрожжей.** К 100 мкл суспензии дрожжей, содержащих исследуемые соединения, добавили 10 мкл раствора хлорида нитросинего тетразолия в дистиллированной воде (5 мг/мл). Образцы выдерживали на протяжении 3 ч при 30 °С и при механическом перемешивании со скоростью 200 об/мин. По окончании инкубации клетки осаждали посредством центрифугирования при 3000 g на протяжении 5 мин и разрушали путем добавления 0,1 моль/л HCl и 0,1 % Triton X-100 в 1 мл изопропанола. Оптическая плотность лизатов измерялась при 520 нм.

**Исследование митохондриального трансмембранного потенциала.** Суспензию клеток инкубировали в присутствии 2 мкмоль/л JC-1 в темноте при 37 °С на протяжении 15 мин. После инкубации клетки осаждали с помощью центрифугирования, промывали используемым буфером и ресуспендировали. Добавление веществ проводили непосредственно перед началом измерения. Изменение митохондриального потенциала определяли по соотношению интенсивности флуоресценции JC-1 при двух длинах волн ( $\lambda_{\text{ex}} = 490$  нм,  $\lambda_{\text{em},1} = 530$  нм,  $\lambda_{\text{em},2} = 590$  нм). В качестве положительных контролей применяли ротенон и антимицин А (99 %; *Sigma*) в концентрации 10 мкмоль/л.

**Исследование образования активных форм кислорода в клетках.** Для изучения образования активных форм кислорода в цитозоле клеток использовали метод флуориметрии с применением флуоресцентного зонда диацетата 2',7'-дихлорфлуоресцеина ( $\text{H}_2\text{DCF-DA}$ ; *Molecular Probes*, США). Клетки в суспензии инкубировали в присутствии 1 мкмоль/л  $\text{H}_2\text{DCF-DA}$  при 37 °С на протяжении 30 мин. Несвязанный краситель удалили путем центрифугирования, затем клетки перевели в HEPES-буфер ( $10^6$  клеток на 1 мл). Перед началом измерений окрашенные клетки инкубировали в присутствии исследуемых соединений на протяжении 10 мин. Интенсивность флуоресценции измеряли при  $\lambda_{\text{ex}} = 488$  нм и  $\lambda_{\text{em}} = 530$  нм.

**Исследование процессов аутофагии в клетках.** Клетки глиомы С6 в монослое инкубировали в присутствии исследуемых веществ на протяжении 3 ч и снимали с подложки по методике, описанной выше. К суспензии клеток глиомы С6 в HEPES-буфере добавили раствор монодансилкадаверина (MDC; 99 %; *Sigma*) в ДМСО в расчете на конечную концентрацию 50 мкмоль/л. После 15 мин инкубации в темноте при 37 °С клетки центрифугировали, промывали используемым буфером, повторно центрифугировали и ресуспендировали из расчета  $10^6$  клеток на 1 мл. Количество накопленного красителя оценивали с помощью флуориметрии ( $\lambda_{\text{ex}} = 340$  нм,  $\lambda_{\text{em}} = 430$  нм) относительно образца, содержащего только ДМСО. В качестве положительного контроля использовали дексаметазон (*Sigma*) в концентрации 10 мкмоль/л.

**Квантово-химический расчет энергии сродства к электрону.** Для оценки вероятности непосредственной конкуренции за электрон между 5-НЕТ и убихиноном Q10 (CoQ10) проводили расчет энергии сродства к электрону. Молекулярные геометрии оптимизировали с помощью функционала B3PW91 [9–11], коррекции дисперсионных взаимодействий D3BJ [12], базисного набора ma-def2-SVP [13; 14] в программе ORCA (версия 4.2.1) [15; 16] для газовой фазы. Использованный функционал хорошо подходит для воспроизведения геометрий и описания свойств анионов органических молекул [17]. В целях подтверждения соответствия найденных молекулярных геометрий энергетическому минимуму и нахождения энергии нулевых колебаний выполнялся расчет частот молекулярных колебаний аналогичным методом. Для более точного учета электронная энергия оптимизированных структур вычислялась с помощью функционала B3PW91, коррекции дисперсионных взаимодействий D3BJ, базисного набора ma-def2-TZVP и расширенной интеграционной сетки (integration grid, lebedev 590 angular points, radial integral accuracy 5,34) [18–20]. Адиабатическая энергия сродства к электрону ( $\epsilon$ ) рассматривалась как разность энергий нейтральной и ионизированной форм с учетом энергии нулевых колебаний [17]:

$$\epsilon = E_{A, \text{ma-def2-TZVP}} - E_{A^-, \text{ma-def2-TZVP}} + \Delta ZPVE_{\text{ma-def2-SVP}},$$

где  $E_{A, \text{ma-def2-TZVP}}$  – электронная энергия нейтральной молекулы;  $E_{A^-, \text{ma-def2-TZVP}}$  – электронная энергия аниона;  $\Delta ZPVE_{\text{ma-def2-SVP}}$  – разница энергий нулевых колебаний нейтральной молекулы и соответствующего аниона.

**Молекулярный докинг.** При моделировании лиганд-белковых взаимодействий использовали структуры белка, депонированные в базе RCSB PDB. Построение лигандов и обработку результатов осуществляли с помощью программных пакетов PyMol (версия 1.5.0.1). Вычисления выполнены в программе AutoDock Vina (версия 1.1.2) [21]. Расчет энергии связывания проводили с использованием модели жесткой структуры белков и с применением исходных параметров оценочной функции. Конформационное пространство имело форму куба со стороной 30 Å.

## Результаты и их обсуждение

**Влияние 5-НИЕТ на пролиферацию клеток глиомы крысы линии С6.** Установлено, что после 24 ч инкубации 5-НИЕТ в концентрации 10 мкмоль/л не оказывает цитотоксического воздействия на клетки глиомы С6, поскольку интенсивность флуоресценции суспензии клеток в присутствии PI не изменяется по сравнению с контролем, т. е. целостность клеток не нарушается. В то же время после 24 ч инкубации в присутствии препарата зарегистрировано снижение количества клеток в культуре на  $(36 \pm 7) \%$ , что свидетельствует об уменьшении пролиферативной активности (рис. 2). Однако в аналогичных условиях триптамин, не содержащий 3-ацетильной группы или 5-гидроксигруппы, уменьшает пролиферацию только на  $(21 \pm 9) \%$  [8]. Поскольку снижение пролиферации под действием 5-НИЕТ не вызвано некрозом клеток, можно предполагать, что данный эффект обусловлен либо угнетением клеточного деления, либо индукцией гибели клеток по механизму апоптоза или аутофагии.

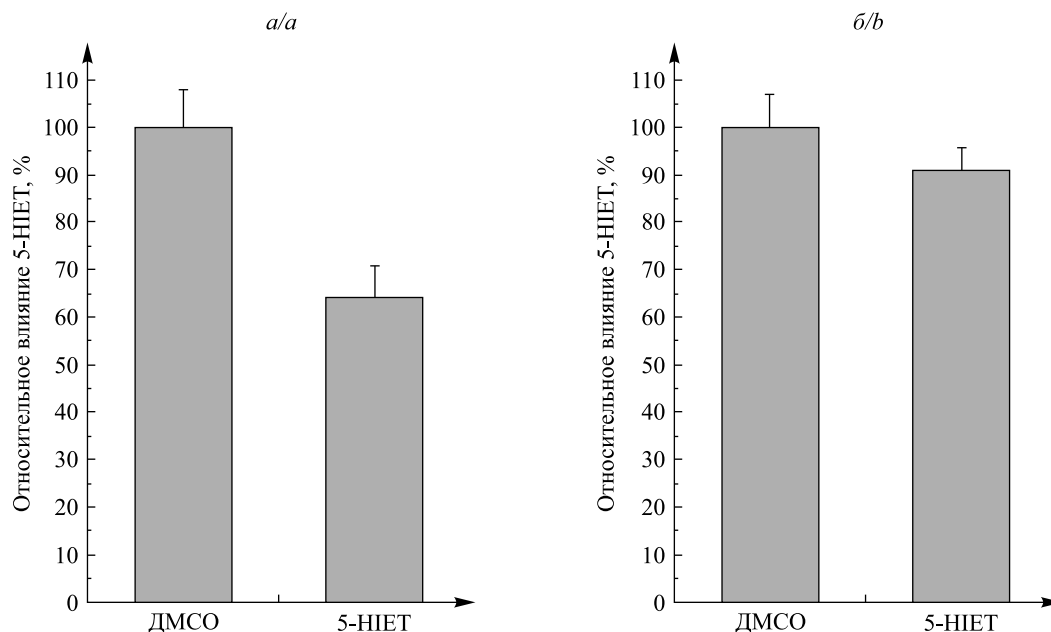


Рис. 2. Сравнительное влияние 5-НИЕТ в концентрации 10 мкмоль/л на пролиферацию клеток глиомы С6 (а) и дрожжей *S. cerevisiae* (б)

Fig. 2. Relative effect of 5-NIET in concentration of 10  $\mu\text{mol/L}$  on proliferation of C6 glioma cells (a) and *S. cerevisiae* yeast (b)

Для выявления селективности действия 5-НИЕТ на опухолевые клетки было проведено исследование влияния этого соединения на рост дрожжей *S. cerevisiae* (см. рис. 2). Определено, что в присутствии 10 мкмоль/л 5-НИЕТ рост дрожжей составляет  $(91 \pm 5) \%$  относительно контроля (24 ч инкубации). Также обнаружено, что после 24 ч инкубации 5-НИЕТ в концентрации 10 мкмоль/л не оказывает значительного воздействия на жизнеспособность дрожжей  $((97 \pm 2) \%)$  относительно контроля, содержащего только ДМСО).

**Влияние 5-НИЕТ на митохондриальный мембранный потенциал (ММП).** Как показано на рис. 3, при добавлении 10 мкмоль/л 5-НИЕТ в суспензию клеток глиомы С6 наблюдается резкое снижение ММП. Скорость падения замедляется после 2 мин инкубации на значении ММП  $(65 \pm 4) \%$  относительно контроля, затем наблюдается медленное снижение до  $(32 \pm 4) \%$  после 30 мин инкубации (против  $(84 \pm 6) \%$  в контрольном образце).

Из рис. 3 видно, что профиль изменения митохондриального потенциала для 5-НИЕТ сопоставим с таковым для ротенона, представляющего собой специфический ингибитор комплекса I дыхательной цепи митохондрий (NADH-убихиноноксидоредуктаза). Структуры обоих соединений имеют схожий арилкетонный фрагмент (3-ацетилиндол – в случае 5-НИЕТ, изофлавоновое кольцо – в случае ротенона). Поскольку ингибирующее действие по отношению к NADH- и NADPH-зависимым дегидрогеназам и белкам дыхательной цепи также характерно и для других арилкарбонильных соединений, например 4-гидрокси-3-метоксиацетофенона (апоцинин) и производных халконов [22–25], можно предположить, что механизм действия 5-НИЕТ аналогичен таковому для ротенона.

В целях выявления селективности действия 5-НІЕТ исследовали его влияние на работу митохондрий в дрожжах *S. cerevisiae*. Как показано на рис. 4, на протяжении 10 мин инкубации в присутствии 5-НІЕТ изменения в соотношении интенсивностей флуоресценции митохондриального зонда при 530 и 590 нм относительно контроля не были зарегистрированы, что свидетельствует об отсутствии нарушения функции митохондрий.

Следует отметить, что результаты относительного влияния 5-НІЕТ на пролиферацию и работу митохондрий в клетках глиомы С6 и *S. cerevisiae* сопоставимы с аналогичными результатами, описанными в литературе для других арилкарбонильных соединений, например терпеноида  $\beta$ -лапахона [26–28]. В частности,  $\beta$ -лапахон в концентрации 8 мкмоль/л снижает рост *S. cerevisiae*, опухолевых клеток MCF-7 и MDA-MB-231 на 4; 80 и 40 % соответственно, тогда как статистически значимое снижение ММП отмечается в дрожжах и опухолевых клетках при концентрациях 1 мкмоль/л и 0,41 ммоль/л соответственно.

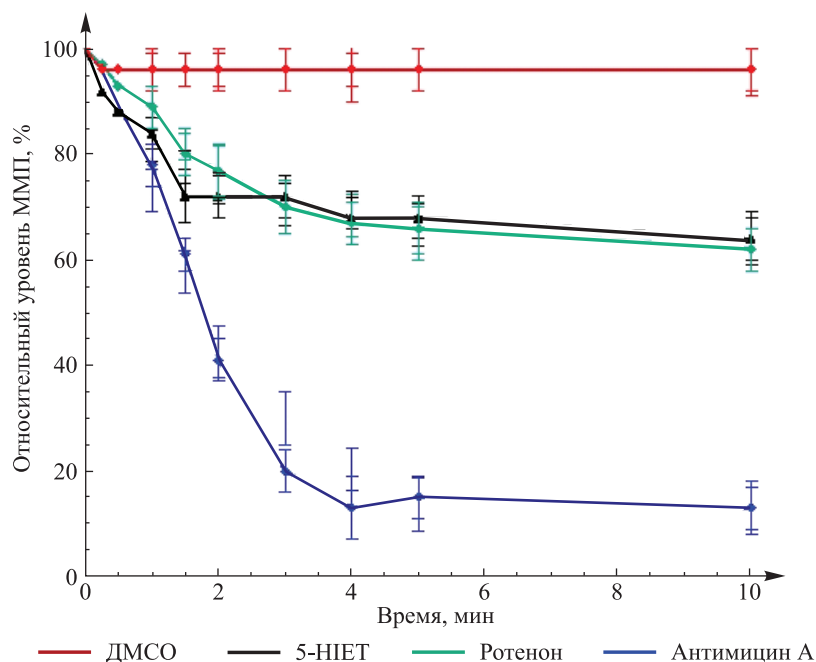


Рис. 3. Влияние 5-НІЕТ на ММП клеток глиомы С6

Fig. 3. Effect of 5-HIET on the mitochondrial membrane potential of C6 glioma cells

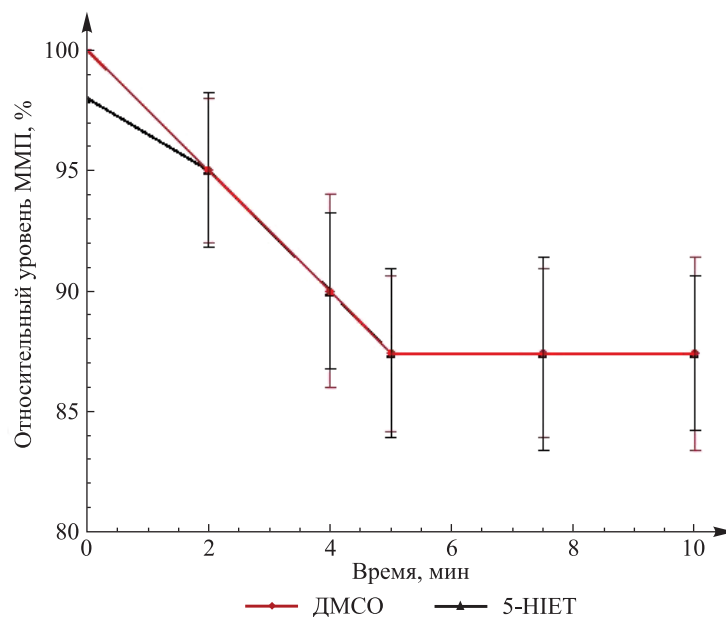


Рис. 4. Влияние 5-НІЕТ на ММП *S. cerevisiae*

Fig. 4. Effect of 5-HIET on the mitochondrial membrane potential of *S. cerevisiae*

**Влияние 5-НИЕТ на редокс-процессы и уровень активных форм кислорода.** При кратковременной инкубации клеток глиомы С6 в присутствии 10 мкмоль/л 5-НИЕТ наблюдалось значительное увеличение интенсивности флуоресценции DCF относительно контрольного образца, что свидетельствует о внутриклеточном образовании  $H_2O_2$  (рис. 5). С учетом описанного выше нарушения работы митохондрий можно предположить, что 5-НИЕТ вызывает разобщение цепи переноса электронов и образование активных форм кислорода за счет ингибирования комплекса I.

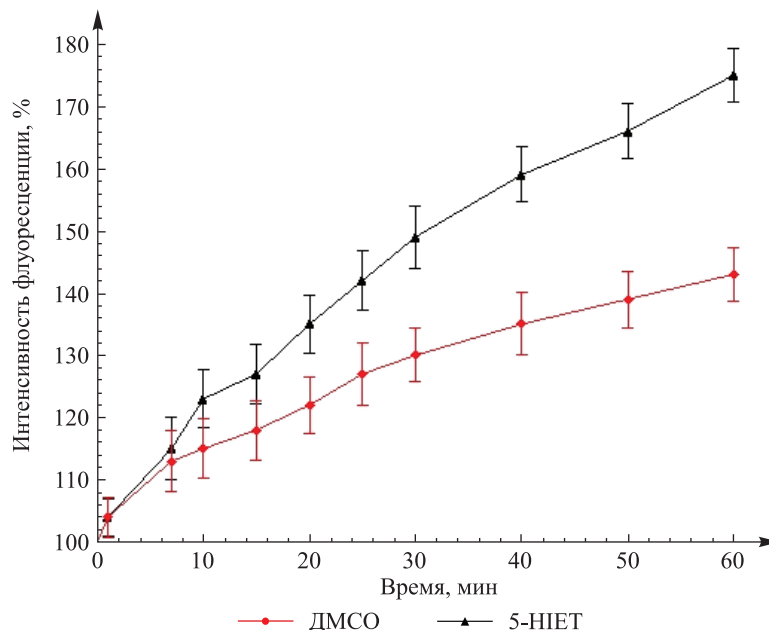


Рис. 5. Влияние 10 мкмоль/л 5-НИЕТ на образование  $H_2O_2$  в клетках глиомы С6

Fig. 5. Effect of 10  $\mu\text{mol/L}$  5-NIET on  $H_2O_2$  levels in C6 glioma cells

**Влияние 5-НИЕТ на процесс аутофагии.** После инкубации клеток глиомы С6 в присутствии 10 мкмоль/л 5-НИЕТ на протяжении 3 ч и последующего окрашивания MDC наблюдалось повышение флуоресценции до  $(138 \pm 6)$  % относительно контроля (рис. 6). В то же время клетки при инкубации в присутствии индуктора аутофагии дексаметазона в концентрации 10 мкмоль/л показывают увеличение интенсивности флуоресценции MDC на  $(176 \pm 3)$  %.

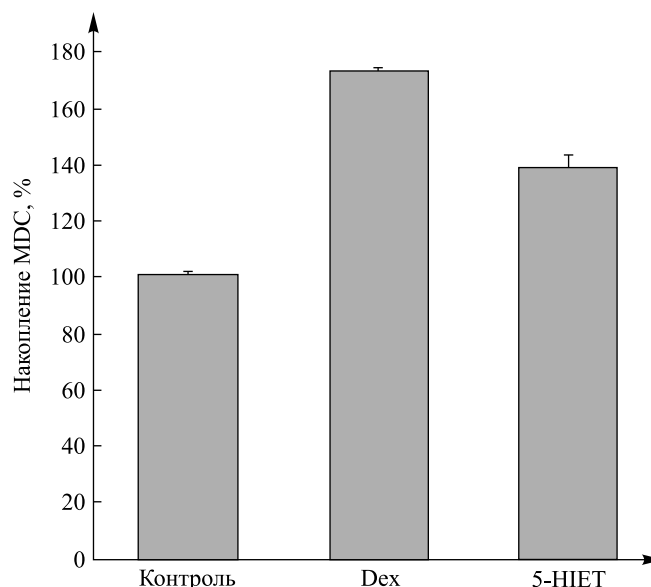


Рис. 6. Влияние 5-НИЕТ на процессы аутофагии в клетках глиомы С6

Fig. 6. Effect of 5-NIET on autophagy processes in C6 glioma cells

**Квантово-химический расчет энергии сродства к электрону.** Результаты расчетов представлены в табл. 1. Согласно расчетам 3-ацетильная группа 5-ННЕТ является более слабым акцептором электронов по сравнению с убихиноном. Данный результат позволяет предположить, что механизм действия 5-ННЕТ и повышенное образование  $H_2O_2$  в присутствии 5-ННЕТ не связаны с непосредственным оттягиванием электронов из электрон-транспортной цепи.

Таблица 1

Расчетные адиабатические энергии сродства соединений к электрону

Table 1

Predicted adiabatic electron affinity for evaluated compounds

| Соединение      | $\epsilon$ , эВ | $\epsilon$ , кДж/моль |
|-----------------|-----------------|-----------------------|
| 5-Гидроксииндол | –0,541          | –52,2                 |
| 5-ННЕТ          | 0,014           | 37,8                  |
| Убихинон Q10    | 2,072           | 199,0                 |

**Молекулярный докинг.** Результаты расчетов представлены в табл. 2. В качестве моделей были использованы кристаллографические структуры митохондриального комплекса I, связанного с лигандами, в том числе с убихиноном Q10, ротеноном и некоторыми другими низкомолекулярными соединениями. В целом энергии связывания 5-ННЕТ сопоставимы с рассчитанными энергиями для ротенона или уступают им в пределах 1 ккал/моль. Таким образом, при докинге с использованием модели жесткой структуры белка 5-ННЕТ представляет собой более слабый лиганд, чем ротенон или убихинон.

Таблица 2

Расчетные энергии взаимодействия лигандов с сайтом связывания убихинона митохондриального комплекса I, ккал/моль

Table 2

Predicted interaction energies between ligands and mitochondrial complex I ubiquinone binding site, kcal/mol

| Код структуры белка | CoQ10 | Ротенон | 5-ННЕТ |
|---------------------|-------|---------|--------|
| 5xtd                | –6,4* | –7,5    | –6,4*  |
| 6g2j                | –7,9  | –8,9    | –7,7   |
| 6g72                | –10,0 | –9,2    | –6,6   |
| 6zka                | –9,3  | –7,5    | –7,1   |
| 6zkc                | –8,3  | –8,6    | –6,7   |
| 6zkl                | –9,2  | –9,0    | –7,2   |
| 6zkm                | –8,5  | –8,7    | –7,4   |
| 7b93                | –7,9  | –8,1    | –7,1   |

\*Расчетное расположение лиганда не соответствует сайту связывания убихинона белка.

Следует отметить, что, несмотря на более низкую суммарную энергию связывания по сравнению с убихиноном Q10 или ротеноном, относительное расположение 5-ННЕТ в сайте связывания убихинона позволяет последнему образовывать две потенциальные водородные связи с остатками THR21 и ASP51, а также вступать в стекинговые  $\pi$  –  $\pi$ -взаимодействия с фенильным кольцом PHE224 (рис. 7 и 8). Данное наблюдение может быть использовано при дальнейшей структурной модификации 5-ННЕТ в целях оптимизации его биологической активности.

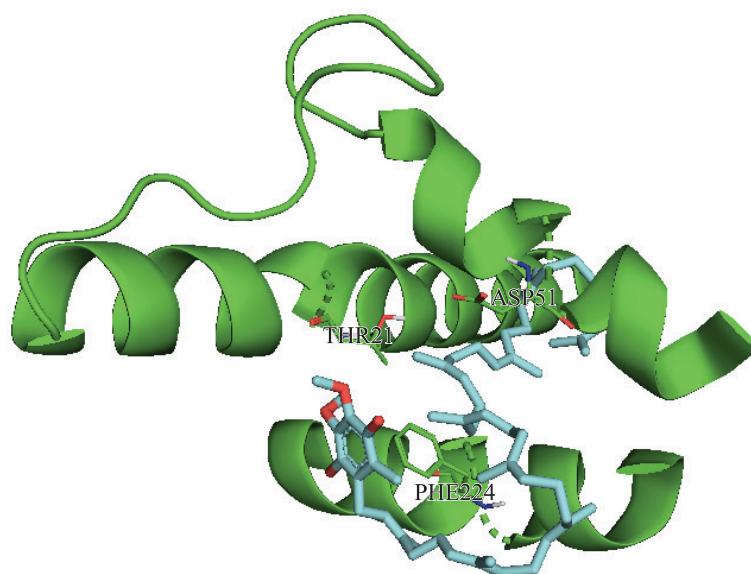


Рис. 7. Расчетное расположение убихинона Q10 в сайте связывания убихинона комплекса I (код структуры белка 7b93)

Fig. 7. Predicted localisation of ubiquinone Q10 in complex I ubiquinone binding site (PDB code 7b93)

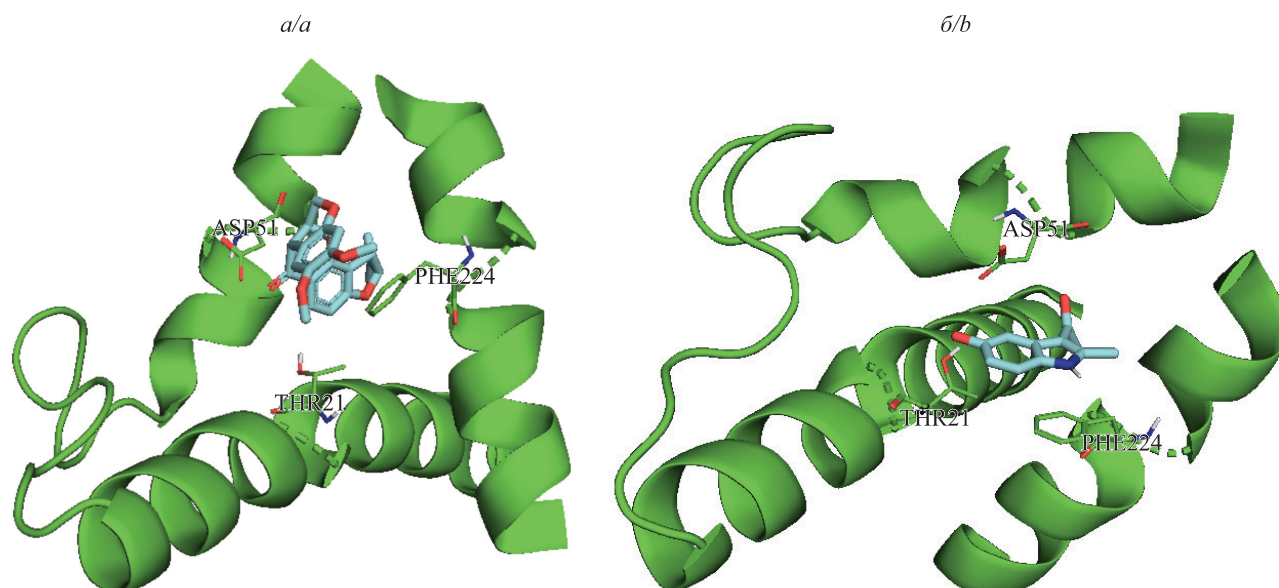


Рис. 8. Расчетное расположение ротенона (а) и 5-ННЕТ (б) в сайте связывания убихинона комплекса I

Fig. 8. Predicted localisation of rotenone (a) and 5-HIET (b) in complex I ubiquinone binding site

### Заключение

В ходе работы было получено 3-ацетилпроизводное 5-гидроксииндола и изучено его влияние на пролиферацию и метаболические процессы в клетках глиомы крысы линии С6, представляющей собой одну из моделей для исследования глиобластом. Обнаружено, что при действии на клетки синтезированное соединение в концентрации 10 мкмоль/л существенно снижает пролиферацию, нарушает работу митохондрий, приводит к повышенному образованию внутриклеточного  $H_2O_2$  и индуцирует аутофагию. Также высказано предположение, что соединение действует по механизму ингибирования NADH-зависимой убихинонредуктазы (митохондриальный комплекс I), характерному для соединений ацетофенонового ряда, в частности для ротенона. Ввиду более высокой относительной токсичности

по отношению к клеткам глиомы С6 и преимущественной локализации метаболизма 5-гидроксииндолов в тканях головного мозга 3-ацетилпроизводное 5-гидроксииндола представляет интерес как потенциальный агент для терапии глиомы и глиобластомы.

### Библиографические ссылки / References

1. Patel AP, Fisher JL, Nichols E, Abd-Allah F, Abdela J, Abdelalim A, et al. Global, regional, and national burden of brain and other CNS cancer, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurology*. 2019;18(4):376–393. DOI: 10.1016/S1474-4422(18)30468-X.
2. Bae SJ, Lee JS, Lee EK, Kim JM, Choi J, Heo H-S, et al. The anti-apoptotic action of 5-hydroxyindole: protection of mitochondrial integrity. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2010;33(4):550–555. DOI: 10.1248/bpb.33.550.
3. Pavlides S, Tsirogas A, Migneco G, Whitaker-Menezes D, Chiavarina B, Flomenberg N, et al. The autophagic tumor stroma model of cancer. *Cell Cycle*. 2010;9(17):3485–3505. DOI: 10.4161/cc.9.17.12721.
4. Yoo J-M, Lee BD, Sok D-E, Ma JY, Kim MR. Neuroprotective action of N-acetyl serotonin in oxidative stress-induced apoptosis through the activation of both TrkB/CREB/BDNF pathway and Akt/Nrf2/antioxidant enzyme in neuronal cells. *Redox Biology*. 2017;11:592–599. DOI: 10.1016/j.redox.2016.12.034.
5. Karmakar S, Lal G. Role of serotonin receptor signaling in cancer cells and anti-tumor immunity. *Theranostics*. 2021;11(11):5296–5312. DOI: 10.7150/thno.55986.
6. Lu Q, Ding Y, Li Y, Lu Q. 5-HT receptor agonist valerenic acid enhances the innate immunity signal and suppresses glioblastoma cell growth and invasion. *International Journal of Biological Sciences*. 2020;16(12):2104–2115. DOI: 10.7150/ijbs.44906.
7. Suzuki S, Yamamoto M, Sanomachi T, Togashi K, Sugai A, Seino S, et al. Brexpiprazole, a serotonin-dopamine activity modulator, can sensitize glioma stem cells to osimertinib, a third-generation EGFR-TKI, via survivin reduction. *Cancers*. 2019;11(7):947. DOI: 10.3390/cancers11070947.
8. Panada J, Klopava V, Kulahava T, Frolova N, Faletrov Y, Shkumatov V. New 3 $\beta$ -hydroxysteroid-indolamine conjugates: design, synthesis and inhibition of C6 glioma cell proliferation. *Steroids*. 2020;164:108728. DOI: 10.1016/j.steroids.2020.108728.
9. Becke AD. Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Physical Review A*. 1988;38(6):3098. DOI: 10.1103/PhysRevA.38.3098.
10. Becke AD. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *Journal of Chemical Physics*. 1993;98(7):5648. DOI: 10.1063/1.464913.
11. Dobson JF, Vignale G, Das MP. *Electronic density functional theory*. Boston: Springer US; 1998. 396 p. DOI: 10.1007/978-1-4899-0316-7.
12. Tsuzuki S, Uchimaru T. Accuracy of intermolecular interaction energies, particularly those of hetero-atom containing molecules obtained by DFT calculations with Grimme's D2, D3 and D3BJ dispersion corrections. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2020;22(39):22508–22519. DOI: 10.1039/D0CP03679J.
13. Weigend F, Ahlrichs R. Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence and quadruple zeta valence quality for H to Rn: design and assessment of accuracy. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2005;7(18):3297–3305. DOI: 10.1039/b508541a.
14. Zheng J, Xu X, Truhlar DG. Minimally augmented Karlsruhe basis sets. *Theoretical Chemistry Accounts*. 2011;128(3):295–305. DOI: 10.1007/s00214-010-0846-z.
15. Neese F. The ORCA program system. *WIREs Computational Molecular Science*. 2012;2(1):73–78. DOI: 10.1002/wcms.81.
16. Neese F. Software update: the ORCA program system, version 4.0. *WIREs Computational Molecular Science*. 2018;8(1):e1327. DOI: 10.1002/wcms.1327.
17. Borioni JL, Puiatti M, Vera DMA, Pierini AB. In search of the best DFT functional for dealing with organic anionic species. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2017;19(13):9189. DOI: 10.1039/C6CP06163J.
18. Boerrigter PM, Velde GT, Baerends JE. Three-dimensional numerical integration for electronic structure calculations. *International Journal of Quantum Chemistry*. 1988;33(2):87–113. DOI: 10.1002/qua.560330204.
19. Treutler O, Ahlrichs R. Efficient molecular numerical integration schemes. *Journal of Chemical Physics*. 1995;102(1):346. DOI: 10.1063/1.469408.
20. Becke AD. A multicenter numerical integration scheme for polyatomic molecules. *Journal of Chemical Physics*. 1988;88(4):2547. DOI: 10.1063/1.454033.
21. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*. 2010;31(2):455–461. DOI: 10.1002/jcc.21334.
22. Ghosh A, Langley MR, Harischandra DS, Neal ML, Jin H, Anantharam V, et al. Mitoapocynin treatment protects against neuroinflammation and dopaminergic neurodegeneration in a preclinical animal model of Parkinson's disease. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2016;11(2):259–278. DOI: 10.1007/s11481-016-9650-4.
23. Mullarky E, Xu J, Robin AD, Huggins DJ, Jennings A, Noguchi N, et al. Inhibition of 3-phosphoglycerate dehydrogenase (PHGDH) by indole amides abrogates de novo serine synthesis in cancer cells. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 2019;29(17):2503–2510. DOI: 10.1016/j.bmcl.2019.07.011.
24. Hossain M, Das U, Dimmock JR. Recent advances in  $\alpha,\beta$ -unsaturated carbonyl compounds as mitochondrial toxins. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2019;183:111687. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.111687.
25. Noser AA, Abdelmonsef AH, El-Naggar M, Salem MM. New amino acid schiff bases as anticancer agents via potential mitochondrial complex I-associated hexokinase inhibition and targeting AMP-protein kinases/mTOR signaling pathway. *Molecules*. 2021;26(17):5332. DOI: 10.3390/molecules26175332.
26. de Moraes DC, Cardoso KM, Domingos LTS, Pinto MCFR, Monteiro RQ, et al.  $\beta$ -Lapachone enhances the antifungal activity of fluconazole against a Pdr5p-mediated resistant *Saccharomyces cerevisiae* strain. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2020;51(3):1051–1060. DOI: 10.1007/s42770-020-00254-9.
27. Yang Y, Zhou X, Xu M, Piao J, Zhang Y, Lin Z, et al.  $\beta$ -Lapachone suppresses tumour progression by inhibiting epithelial-to-mesenchymal transition in NQO1-positive breast cancers. *Scientific Reports*. 2017;7:2681. DOI: 10.1038/s41598-017-02937-0.
28. Bang W, Jeon Y-J, Cho JH, Lee RH, Park S-M, Shin J-C, et al.  $\beta$ -Lapachone suppresses the proliferation of human malignant melanoma cells by targeting specificity protein 1. *Oncology Reports*. 2016;35(2):1109–1116. DOI: 10.3892/or.2015.4439.

Получена 14.11.2021 / исправлена 23.11.2021 / принята 09.12.2021.  
Received 14.11.2021 / revised 23.11.2021 / accepted 09.12.2021.

УДК 577.117.2+577.151.63+577.112;004.942

ФЛУОРЕСЦЕИНА ДИГЕКСАНОАТ КАК ПРОФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ  
МАРКЕР ДЛЯ МОНИТОРИНГА ГИДРОЛИТИЧЕСКОЙ ДЕСТРУКЦИИ  
ПОЛИЛАКТИДНЫХ МАТЕРИАЛОВД. А. БЕЛОВ<sup>1)</sup>, Я. В. ФАЛЕТРОВ<sup>1), 2)</sup>, П. С. ЯКОВЕЦ<sup>1)</sup>, В. М. ШКУМАТОВ<sup>1), 2)</sup><sup>1)</sup>Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь<sup>2)</sup>Научно-исследовательский институт физико-химических проблем БГУ,  
ул. Ленинградская, 14, 220006, г. Минск, Беларусь

Полилактид является одним из перспективных полимеров для получения биodeградируемых и биосовместимых материалов. Оценка скорости гидролитической деструкции материалов на основе полилактида имеет важное значение как в период планирования их применения, так и во время их эксплуатации. Рассматриваются синтез флуоресцеина дигексаноата и возможность его использования как профлуоресцентного маркера гидролитической деструкции материалов на основе двух типов полилактидов. Отмечается, что увеличение флуоресценции коррелировало с закономерно более быстрой деструкцией поли-D,L-лактида, а также меньшей стабильностью полилактидов в отношении щелочного гидролиза. Показывается применимость флуоресцеина дигексаноата для оценки гидролитической деструкции материалов на основе полилактида по флуоресценции практически в режиме реального времени.

**Ключевые слова:** полилактид; поли-L-лактид; поли-D,L-лактид; флуоресцеина дигексаноат; флуоресценция; гидролиз.

**Благодарность.** Работа выполнена при поддержке государственной программы научных исследований «Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биоорганхимия» (№ гос. регистрации 20210560).

**Образец цитирования:**

Белов ДА, Фалетров ЯВ, Яковец ПС, Шкуматов ВМ. Флуоресцеина дигексаноат как профлуоресцентный маркер для мониторинга гидролитической деструкции полилактидных материалов. *Журнал Белорусского государственного университета. Химия.* 2022;1:53–60 (на англ.).  
<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2022-1-53-60>

**For citation:**

Belov DA, Faletrov YV, Yakovets PS, Shkumatov VM. Fluorescein dihexanoate as a profluorescent marker for monitoring of hydrolytic destruction of polylactide-based materials. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry.* 2022;1:53–60.  
<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2022-1-53-60>

**Авторы:**

**Дмитрий Александрович Белов** – кандидат химических наук; доцент кафедры высокомолекулярных соединений химического факультета.

**Ярослав Вячеславович Фалетров** – кандидат химических наук, доцент; доцент кафедры высокомолекулярных соединений химического факультета<sup>1)</sup>, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии лекарственных препаратов<sup>2)</sup>.

**Полина Сергеевна Яковец** – студентка химического факультета. Научный руководитель – Я. В. Фалетров.

**Владимир Макарович Шкуматов** – член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биологических наук, профессор; профессор кафедры высокомолекулярных соединений химического факультета<sup>1)</sup>, главный научный сотрудник лаборатории биохимии лекарственных препаратов<sup>2)</sup>.

**Authors:**

**Dmitry A. Belov**, PhD (chemistry); associate professor at the department of macromolecular compounds, faculty of chemistry. [beldis@tut.by](mailto:beldis@tut.by)

**Yaroslav V. Faletrov**, PhD (chemistry), docent; associate professor at the department of macromolecular compounds, faculty of chemistry<sup>a</sup>, and leading researcher at the laboratory of biochemistry of drugs<sup>b</sup>.  
[yaroslav82@tut.by](mailto:yaroslav82@tut.by)

**Polina S. Yakovets**, student at the faculty of chemistry.

**Vladimir M. Shkumatov**, corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus, doctor of science (biology), full professor; professor at the department of macromolecular compounds, faculty of chemistry<sup>a</sup>, and chief researcher at the laboratory of biochemistry of drugs<sup>b</sup>.  
[vlad.shkumatov@tut.by](mailto:vlad.shkumatov@tut.by)

## FLUORESC EIN DIHEXANOATE AS A PROFLUORESCENT MARKER FOR MONITORING OF HYDROLYTIC DESTRUCTION OF POLYLACTIDE-BASED MATERIALS

*D. A. BELOV<sup>a</sup>, Y. V. FALETROV<sup>a, b</sup>, P. S. YAKOVETS<sup>a</sup>, V. M. SHKUMATOV<sup>a, b</sup>*

<sup>a</sup>*Belarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus*

<sup>b</sup>*Research Institute for Physical Chemical Problems, Belarusian State University,  
14 Lieninhradskaja Street, Minsk 220006, Belarus*

*Corresponding author: D. A. Belov (beldis@tut.by)*

Poly(lactide (PLA) is one of the most promising biodegradable and biocompatible polymer materials. Estimation of hydrolytic destruction of PLA is of high importance for their applications both at planning and at real-time exploitation. This paper reports on synthesis and applicability of fluorescein-O-dihexanoate as a pro-fluorescent marker of hydrolytic destruction of two types of PLA-based materials. Fluorescence enhancement correlated with adequately more fast destruction of poly-D,L-lactide as well as less stability to alkaline hydrolysis. Thus, applicability of fluorescein-O-dihexanoate for fluorescence-based estimation of hydrolytic destruction of PLA-based materials is shown in quite real time mode.

**Keywords:** poly-L-lactide; poly-D,L-lactide; fluorescein-O-dihexanoate; fluorescence; hydrolysis.

**Acknowledgements.** The work was supported by governmental program of scientific researches «Chemical processes, reagents and technologies, bioregulators and bioorgchemistry» (No. 20210560).

### Introduction

Biodegradable materials are designed to degrade under environmental conditions or to be recycled in biological waste treatment plants. This degradation can follow the path of composting and microbiological biogasification of waste. For the medical biological and pharmaceutical industries, special requirements are imposed on the destruction process to control the biotransformation processes of the used polymeric materials. It defines the need for the development and standardisation of appropriate test methods for determining the biodegradation of polymers. Poly(lactide (PLA) has become a popular polymer to create materials for various biomedical applications because its biocompatibility and ability to hydrolytic decomposition [1–10].

Conversely, fluorescent polymers are widely used as fluorescent coatings, fluorescent probes, sensors, solid-state dye lasers and for the preparation of materials for luminescent conversion [11–17]. Notably that there are neither fluorescent nor fluorogenic groups in common PLA. So, to use this phenomenon to analyse the state of PLA-based materials, the task to make PLA-based fluorescent or pro-fluorescent (fluorogenic) material has to be solved. One of such solutions can be a usage of a compound compatible with PLA matrices and live cells as well as able to change its fluorescence properties in accordance with polymer destruction. To do this, one of the technologically-convenient methods is to add a low molecular weight pro-fluorescent marker into a polymer solution followed by solvent removal. Despite the simplicity of this method of pro-fluorescent composite manufacturing, compatibility of a certain polymer with a certain marker must be taken into consideration.

Fluorescein is known to be one of the most abundant xanthene fluorophores that have found wide biomedical application, however, it is polar compound and not compatible with hydrophobic aliphatic polyester like PLA. Moreover, the compound's fluorescence does not depend too much with respect to polarity and hydrophobicity of microenvironment. Conversely, non-fluorescent fluorescein esters like fluorescein-O-dihexanoate (FDHex) are hydrophobic and able to recover fluorescein and, thus, fluorescence during hydrolytic destruction [17–23]. Therefore, the aim of the study was to show compatibility of FDHex with PLA matrix and demonstrate correlation of hydrolytic destruction of FDHex and PLA matrix for the corresponding composite materials.

### Experimental section

Poly-L-lactide 4042D ( $M_w = 125$  kDa) and poly-D,L-lactide Ingeo 2002D ( $M_w = 150$  kDa) (Nature Works, USA) (fig. 1) was used. Its molecular weight characteristics were confirmed by gel-permeation chromatography (chromatographic system HPLC (Agilent Technologies, USA) refractometric detector, eluent trichloromethane, 30 °C; NUCLEOGEL GPC 50-5 column; pores size is 50 Å). The number-average molecular weight was estimated at 75 000 (poly-L-lactide), 79 000 (poly-D,L-lactide); degree of polydispersity – at 1.62 (poly-L-lactide) and 1.9 (poly-D,L-lactide).

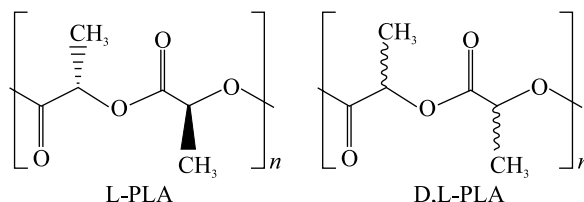


Fig. 1. A structural formula of poly-L-lactide and poly-D,L-lactide

Poly-L-lactide, poly-D,L-lactide and blend films (50 : 50) with 0.1 % FDHex were produced by casting the solution of the polymer in chloroform with PLA concentration of 1 g/L onto silicon and glass substrates, as well as by the centrifugation technique [3]. The thermal history of the film was erased by additional heat treatment at 180 °C.

Synthesis of FDHex are schematically shown on fig. 2.

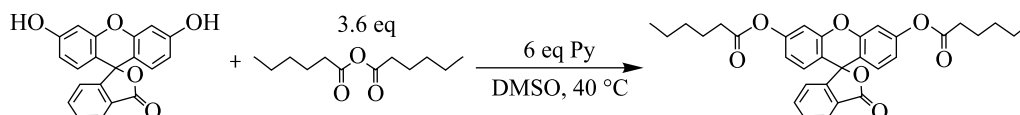


Fig. 2. Scheme for FDHex

Briefly, fluorescein disodium salt (*Sigma*, Germany) has been added to the penicillin vial as 50 mg and dissolved in 6 mL of dimethyl sulfoxide (DMSO; *Fartekhnologia*, Belarus). To the resulting solution 66  $\mu$ L of pyridine (*Lenin Nizhny Tagil Iron and Steel Works*, USSR) followed by 111  $\mu$ L of hexanoic acid anhydride (*Fluka*, Germany) were added dropwise. The penicillin bottle was equipped with a magnet. To the reaction mixture by hexanoic acid anhydride (111  $\mu$ L), dissolved in 1 mL of DMSO with constant stirring. The resulting mixture was stirred 4 h at temperature 40 °C until clarification of the solution. The progress of the reaction was monitored using method of thin layer chromatography. At the end of the reaction, the mixture filtered through cotton wool using a glass funnel. The product was purified using silica gel (*Applichem*, Germany) column chromatography (4  $\times$  10 cm) using benzene – acetone (*Ekos*, Russia) gradient elution.

The solvent as well as hexanoic acid and pyridine (byproducts) was removed using freeze-drying resulting in FDHex as yellowish solid with the yield about 70 %.

Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) measurements were performed using the LCMS-2020 (*Shimadzu*, Japan) system equipped with a photodiode array detector and a mass-spectrometer. The latter was operated in the LC-MS mode at a detector voltage of 1.2 kV, heat block temperature of 400 °C and desolvation line temperature of 250 °C. Both negative and positive ions were monitored simultaneously. Nitrogen was used as a drying and nebulizer gas at flow rates of 1.5 and 15.0 L/min respectively. Synthesised compounds were directly injected as methanol solutions.

Chromatography was performed on a Discovery C8 column (150  $\times$  4 mm, 5  $\mu$ m; *Phenomenex*, USA) using 100 % methanol as the eluent, elution rate 0.4 mL/min.

On the chromatogram is shown one distinct peak of the target product (fig. 3);  $m/z = 529.23$  for the  $[M + H]^+$  ion confirms the molecular weight of the FDHex (empirical formula  $C_{32}H_{32}O_7$ ).

**Fluorescence.** Spectrophotometry and fluorimetry were conducted using a spectrofluorimeter SM2203 (*Solar*, Belarus). The slits were set at 5 nm for all measurements.

**Differential scanning calorimetry.** The study of crystallisation and melting of polylactide crystallites and their mixtures was carried out by differential scanning calorimetry (DSC). DSC curves were recorded and processed on a NETZCSH STA 449C thermal analyser (Netherlands). For each test, between 5 and 7 mg of samples were weighted and then sealed in an aluminium sample pan. When using the DSC, all samples were subjected to a heating rate of 10 °C/min from 20 to 200 °C in a nitrogen atmosphere (flow rate of 20 mL/min) to determine the melting temperature and percentage crystallinity of the sample. The value of the enthalpy of crystalline fusion is possible to estimate the crystallinity of the material using equation

$$\chi^{\text{DSC}} = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_m^{100}},$$

where  $\Delta H_m$  – enthalpy of crystalline fusion;  $\Delta H_m^{100}$  – fusion enthalpy of the 100 % crystalline material (93.1 J/g for poly-L-lactide and poly-D,L-lactide);  $\chi^{\text{DSC}}$  – crystallinity, %.

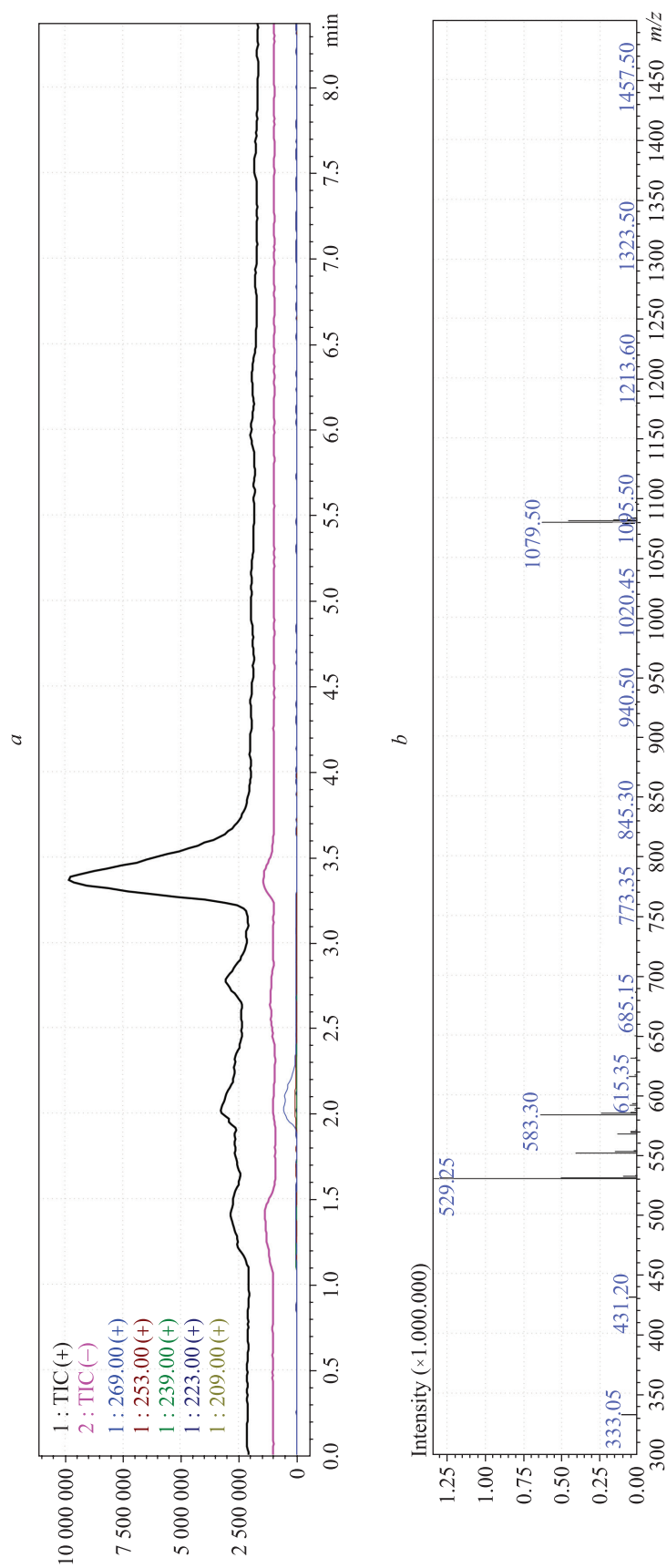


Fig. 3. LC-MS chromatogram (*a*) and mass-spectrum (*b*) of FDHex

## Results and discussion

The PLA matrix is widely used in biomedical applications as a material for orthopedic and tissue engineering structures, in this case it requires high strength and retention of properties for a significant period of time, however, the usefulness of PLA is not limited to these areas, since it can serve as a component of the controlled release of biologically active substances. For these purposes, it is necessary to use PLA with special properties (easy processability, relatively short degradation period) and provide the ability to control the process of destruction of the carrier matrix. Tactical poly-D,L-lactide in the form of film samples containing a compatible hydrophobic fluorescent agent was chosen as such a material.

A fluorescent compound is necessary for studying the destruction process, since it is quite difficult to evaluate objectively and comprehensively due to the many reactions that occur. The release of a substance with fluorescent properties allows us to correlate the destruction of the polymer and changes in the physical properties of the liquid medium. To optimise the study time, solutions of sodium hydroxide and hydrochloric acid were used to accelerate destruction.

In this work, the intensity of fluorescence was recorded as a function of the residence time of the image in a 0.1 mol/L solution of sodium hydroxide. As shown earlier [24–26], the hydrolytic destruction of PLA in saline (*in vitro*) and in living organisms (*in vivo*) depends to an important degree on the relaxation and phase state of polymers, and takes place over a period from several months to a year.

Thereby, the use of alkaline solution makes it possible to simulate the process of hydrolytic destruction in a short time. At the same time, a correlation is observed between the physical destruction of the polymer body – the loss of mass by the sample – and the fluorescence intensity, due to the release of FDHex into the solution.

As known, an important role of the processes of hydrolytic destruction of PLA is played by its phase state, highly ordered regions of amorphous-crystalline poly-L-lactide (degree of crystallinity is 37 %), give much greater resistance to destruction of relatively incapable of crystallisation atactic poly-D,L-lactide (degree of crystallinity 0 %). However, in the case where destruction is a factor responsible for the release of any substances from the polymer matrix, it is necessary to be able to vary this parameter. The simplest way to achieve this seems to be the use of mixtures of amorphous- and amorphous-crystalline PLA (the degree of crystallinity of the mixed sample is 16 %). As follows from the graphs, the presence of ordered regions in PLA leads to a slowdown in hydrolytic degradation, the shape of the mixture curve is near poly-L-lactide (fig. 4).

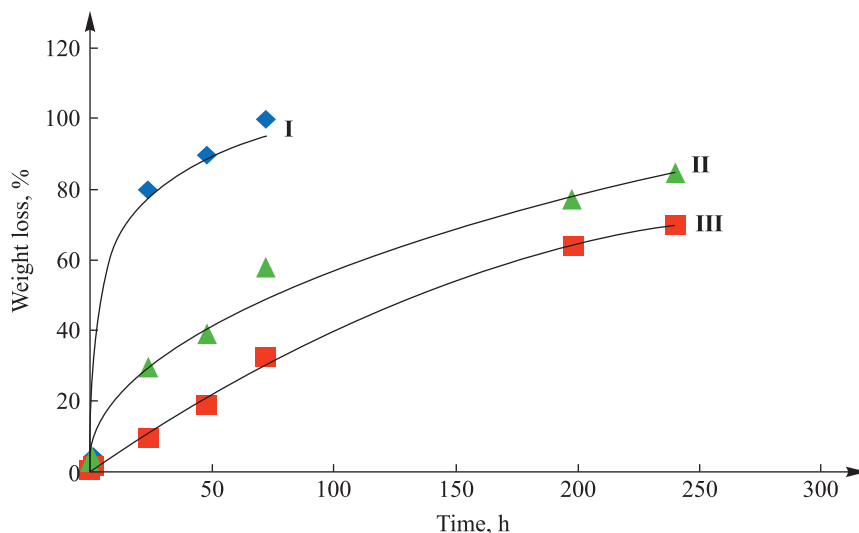


Fig. 4. Weight loss during exposure poly-D,L-lactide (I), poly-D,L-lactide and poly-L-lactide (50 : 50) (II), poly-L-lactide (III) polymer – FDHex composite in 0.1 mol/L NaOH solution

By method fluorescence, the similarity of the curves of mixtures of PLA and poly-D,L-lactide is assessed. The crystalline regions in the mixed sample, even with their small amount (16 %), prevent the destruction of the amorphous regions, however, the smaller size and defectiveness of the supramolecular formations in the PLA mixture leads to an intensive washout of the fluorescent marker from the polymer sample (fig. 5).

So, it was revealed that the dependence of the fluorescence intensity of the solution is influenced not only by the rate of destruction, but also by the phase state of the polymer: the presence of crystalline regions extends the time of hydrolytic decomposition, but to a lesser degree prevents the elution of the fluorescent marker from the polymer sample.

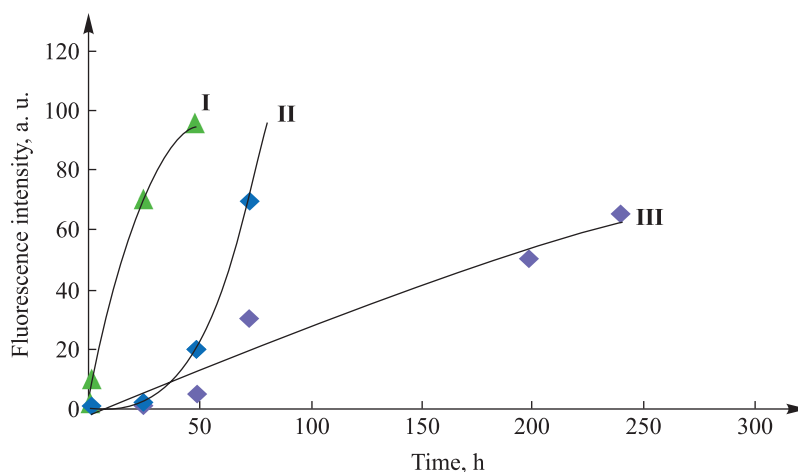


Fig. 5. Effect of exposure poly-D,L-lactide (I), poly-D,L- and poly-L-lactide (50 : 50) (II), poly-L-lactide (III) polymer – FDHex composite in 0.1 mol/L NaOH solution

So, it was found that the dependence of the fluorescence intensity of the solution is influenced not only by the hydrolysing agent, but also by the phase state of the polymer: the presence of crystalline regions increases the time of hydrolytic decomposition and weight loss. At the same time, the small size, defectiveness of crystallites and, as a consequence, the low degree of crystallinity in the poly-D,L- and poly-L-lactide (50 : 50) mixed sample leads to comparable elution of the fluorescent marker from the polymer matrix to amorphous poly-D,L-lactide.

## Conclusions

As a result of the work, a fluorescent compound FDHex was synthesised, which has an affinity for the organic phase of an aliphatic biodegradable polyester, PLA. The introduction of FDHex into the matrix made it possible to evaluate the hydrolytic destruction of PLA, to establish the regularities of the effect of low molecular weight components on the release of fluorophore and weight loss by the polymer. The formation of PLA films containing fluorescent can give structural insights of the structure of the polymer itself or make it possible to create biodegradable materials, products from which will find application in the biomedical field.

## Библиографические ссылки

- Ikada Y, Tsuji H. Biodegradable polyesters for medical and ecological applications. *Macromolecular Rapid Communications*. 2000;21(3):117–132. DOI: 10.1002/(SICI)1521-3927(20000201)21:3<117::AID-MARC117>3.0.CO;2-X.
- Vichaibun V, Chulavatnatol MA. A new assay for the enzymatic degradation of polylactic acid. *Science Asia*. 2003;29:297–300. DOI: 10.2306/scienceasia1513-1874.2003.29.297.
- Alwattar A, Haddad A, Zhou Q, Nascimento T, Greenhalgh R, Medeiros E, et al. Synthesis and characterisation of fluorescent pyrene-end-capped polylactide fibres. *Polymer International*. 2018;68(3):360–368. DOI: 10.1002/pi.5712.
- Fukuzaki H, Yoshida M, Asano M, Kumakura M. Synthesis of copoly(D,L-lactic acid) with relatively low molecular weight and *in vitro* degradation. *European Polymer Journal*. 1989;25(10):1019–1026. DOI: 10.1016/0014-3057(89)90131-6.
- Richert A, Olewnik-Kruszkowska E. Enzymatic degradation of biostatic materials based on polylactide. *Ecological Questions*. 2018;29(2):91–97. DOI: 10.12775/EQ.2018.014.
- Patel RB, Carlson AN, Solorio L, Exner AA. Characterization of formulation parameters affecting low molecular weight drug release from *in situ* forming drug delivery systems. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*. 2010;94(2):476–484. DOI: 10.1002/jbm.a.32724.
- Emadian SM, Onay TT, Demirel B. Biodegradation of bioplastics in natural environments. *Waste Management*. 2017;59:526–536. DOI: 10.1016/j.wasman.2016.10.006.
- Yew GH, Mohd Yusof AM, Mohd Ishak ZA, Ishiaku US. Water adsorption and enzymatic degradation of poly(lactid)/rice starch composites. *Polymer Degradation and Stability*. 2005;90(3):488–500. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2005.04.006.
- Tsuji H, Echizen Y, Nishimura Y. Enzymatic degradation of poly(L-lactid acid): effects of UV irradiation. *Journal of Polymers and the Environment*. 2006;14(3):239–248. DOI: 10.1007/s10924-006-0023-6.
- Peng H, Ling J, Liu J, Zhu N, Ni X, Shen Z. Controlled enzymatic degradation of poly( $\epsilon$ -caprolactone)-based copolymers in the presence of porcine pancreatic lipase. *Polymer Degradation and Stability*. 2010;95(4):643–650. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2009.12.005.
- Li S, Liu L, Garreau H, Vert M. Lipase-catalyzed biodegradation of poly( $\epsilon$ -caprolactone) blended with various polylactide-based polymers. *Biomacromolecules*. 2003;4(2):372–377. DOI: 10.1021/bm025748j.

12. Göpferich A. Mechanisms of polymer degradation and erosion. *Biomaterials*. 1996;17(2):103–114. DOI: 10.1016/0142-9612(96)85755-3.
13. Göpferich A, Langer R. Modeling of polymer erosion. *Macromolecules*. 1993;26(16):4105–4112. DOI: 10.1021/ma00068a006.
14. Freichels H, Danhier F, Pr  at V, Lecomte P, Jérôme C. Fluorescent labeling of degradable poly(lactide-co-glycolide) for cellular nanoparticles tracking in living cells. *The International Journal of Artificial Organs*. 2011;34(2):152–160. DOI: 10.5301/ijao.2011.6420.
15. Tosi G, Rivasi F, Gandolfi F, Costantino L, Vandelli MA, Forni F. Conjugated poly(D,L-lactide-co-glycolide) for the preparation of *in vivo* detectable nanoparticles. *Biomaterials*. 2005;26(19):4189–4195. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2004.10.025.
16. Hu J, Guo J, Xie Z, Shan D, Gerhard E, Qian G, et al. Fluorescence imaging enabled poly(lactide-co-glycolide). *Acta Biomaterialia*. 2016;29:307–319. DOI: 10.1016/j.actbio.2015.10.010.
17. Robin MP, O'Reilly RK. Strategies for preparing fluorescently labelled polymer nanoparticles. *Polymer International*. 2014;64(2):174–182. DOI: 10.1002/pi.4842.
18. Woo J, Park H, Na Y, Kim S, Il Choi W, Lee JH, et al. Novel fluorescein polymer-based nanoparticles: facile and controllable one-pot synthesis, assembly, and immobilization of biomolecules for application in a highly sensitive biosensor. *RSC Advances*. 2020;10(5):2998–3004. DOI: 10.1039/C9RA09106H.
19. Jarz  bski M, Pepli  ska B, Florczak P, Gapi  nski J, Flak D, Ma  a P, et al. Fluorescein ether-ester dyes for labeling of fluorinated methacrylate nanoparticles. *Journal of Photochemistry and Photobiology. Part A: Chemistry*. 2019;382:111956. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2019.111956.
20. Demina TS, Grandfils Ch. Solid-state modified polylactides for processing of 3D materials with enhanced biocompatibility. *Materials Today: Proceedings*. 2019;12(1):93–96. DOI: 10.1016/J.MATPR.2019.03.072.
21. Ma H, Zhang A, Zhang X, Zhao H, Cui Z, Fu P, et al. Novel platform for visualization monitoring of hydrolytic degradation of biodegradable polymers based on aggregation-induced emission (AIE) technique. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2020;304:12734. DOI: 10.1016/j.snb.2019.127342.
22. Bardakova KN, Grebenik EA, Minaev NV, Churbanov SN, Moldagazyeva Z, Krupinov GE, et al. Tailoring the collagen film structural properties via direct laser crosslinking of star-shaped polylactide for robust scaffold formation. *Materials Science and Engineering: C*. 2020;107:110300. DOI: 10.1016/j.msec.2019.110300.
23. Agnieszka R, D  browska GB. Enzymatic degradation and biofilm formation during biodegradation of polylactide and polycaprolactone polymers in various environments. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;176:226–232. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.01.202.
24. Белов ДА. Влияние процессов радиационной и гидролитической деструкции на фазовые и релаксационные переходы в поли-L- и поли-D,L-лактидах. *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия химических наук*. 2010;1:40–43.
25. Круль ЛП, Белов ДА, Бутовская ГВ. Структура и физико-химические свойства биодеградируемых материалов на основе полилактидов. *Вестник БГУ. Серия 2. Химия. Биология. География*. 2011;3:5–11.
26. Krul LP, Belov DA, Butovskja GV, Poloiko NA, Artushkevich AS. Poly-D,L-lactide destruction *in vivo* and *in vitro*. In: Kricheldorf HR, Schwarz G, Wutz C, editors. *Biomaterials. 29<sup>th</sup> Hamburger makromolekulares symposium; 2006 October 1–4; Hamburg, Germany*. Hamburg: Universität Hamburg; 2006. p. 88.

## References

1. Ikada Y, Tsuji H. Biodegradable polyesters for medical and ecological applications. *Macromolecular Rapid Communications*. 2000;21(3):117–132. DOI: 10.1002/(SICI)1521-3927(20000201)21:3<117::AID-MARC117>3.0.CO;2-X.
2. Vichaiabun V, Chulavatnatol MA. A new assay for the enzymatic degradation of polylactic acid. *Science Asia*. 2003;29:297–300. DOI: 10.2306/scienceasia1513-1874.2003.29.297.
3. Alwattar A, Haddad A, Zhou Q, Nascimento T, Greenhalgh R, Medeiros E, et al. Synthesis and characterisation of fluorescent pyrene-end-capped polylactide fibres. *Polymer International*. 2018;68(3):360–368. DOI: 10.1002/pi.5712.
4. Fukuzaki H, Yoshida M, Asano M, Kumakura M. Synthesis of copoly(D,L-lactic acid) with relatively low molecular weight and *in vitro* degradation. *European Polymer Journal*. 1989;25(10):1019–1026. DOI: 10.1016/0014-3057(89)90131-6.
5. Richert A, Olewnik-Kruszkowska E. Enzymatic degradation of biostatic materials based on polylactide. *Ecological Questions*. 2018;29(2):91–97. DOI: 10.12775/EQ.2018.014.
6. Patel RB, Carlson AN, Solorio L, Exner AA. Characterization of formulation parameters affecting low molecular weight drug release from *in situ* forming drug delivery systems. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*. 2010;94(2):476–484. DOI: 10.1002/jbm.a.32724.
7. Emadian SM, Onay TT, Demirel B. Biodegradation of bioplastics in natural environments. *Waste Management*. 2017;59:526–536. DOI: 10.1016/j.wasman.2016.10.006.
8. Yew GH, Mohd Yusof AM, Mohd Ishak ZA, Ishiaku US. Water adsorption and enzymatic degradation of poly(lactid)/rice starch composites. *Polymer Degradation and Stability*. 2005;90(3):488–500. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2005.04.006.
9. Tsuji H, Echizen Y, Nishimura Y. Enzymatic degradation of poly(L-lactid acid): effects of UV irradiation. *Journal of Polymers and the Environment*. 2006;14(3):239–248. DOI: 10.1007/s10924-006-0023-6.
10. Peng H, Ling J, Liu J, Zhu N, Ni X, Shen Z. Controlled enzymatic degradation of poly(  -caprolactone)-based copolymers in the presence of porcine pancreatic lipase. *Polymer Degradation and Stability*. 2010;95(4):643–650. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2009.12.005.
11. Li S, Liu L, Garreau H, Vert M. Lipase-catalyzed biodegradation of poly(  -caprolactone) blended with various polylactide-based polymers. *Biomacromolecules*. 2003;4(2):372–377. DOI: 10.1021/bm025748j.
12. Göpferich A. Mechanisms of polymer degradation and erosion. *Biomaterials*. 1996;17(2):103–114. DOI: 10.1016/0142-9612(96)85755-3.
13. Göpferich A, Langer R. Modeling of polymer erosion. *Macromolecules*. 1993;26(16):4105–4112. DOI: 10.1021/ma00068a006.
14. Freichels H, Danhier F, Pr  at V, Lecomte P, Jérôme C. Fluorescent labeling of degradable poly(lactide-co-glycolide) for cellular nanoparticles tracking in living cells. *The International Journal of Artificial Organs*. 2011;34(2):152–160. DOI: 10.5301/ijao.2011.6420.

15. Tosi G, Rivasi F, Gandolfi F, Costantino L, Vandelli MA, Forni F. Conjugated poly(D,L-lactide-co-glycolide) for the preparation of *in vivo* detectable nanoparticles. *Biomaterials*. 2005;26(19):4189–4195. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2004.10.025.
16. Hu J, Guo J, Xie Z, Shan D, Gerhard E, Qian G, et al. Fluorescence imaging enabled poly(lactide-co-glycolide). *Acta Biomaterialia*. 2016;29:307–319. DOI: 10.1016/j.actbio.2015.10.010.
17. Robin MP, O'Reilly RK. Strategies for preparing fluorescently labelled polymer nanoparticles. *Polymer International*. 2014; 64(2):174–182. DOI: 10.1002/pi.4842.
18. Woo J, Park H, Na Y, Kim S, Il Choi W, Lee JH, et al. Novel fluorescein polymer-based nanoparticles: facile and controllable one-pot synthesis, assembly, and immobilization of biomolecules for application in a highly sensitive biosensor. *RSC Advances*. 2020;10(5):2998–3004. DOI: 10.1039/C9RA09106H.
19. Jarzębski M, Peplińska B, Florczak P, Gapiński J, Flak D, Mała P, et al. Fluorescein ether-ester dyes for labeling of fluorinated methacrylate nanoparticles. *Journal of Photochemistry and Photobiology. Part A: Chemistry*. 2019;382:111956. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2019.111956.
20. Demina TS, Grandfils Ch. Solid-state modified polylactides for processing of 3D materials with enhanced biocompatibility. *Materials Today: Proceedings*. 2019;12(1):93–96. DOI: 10.1016/J.MATPR.2019.03.072.
21. Ma H, Zhang A, Zhang X, Zhao H, Cui Z, Fu P, et al. Novel platform for visualization monitoring of hydrolytic degradation of biodegradable polymers based on aggregation-induced emission (AIE) technique. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2020;304:12734. DOI: 10.1016/j.snb.2019.127342.
22. Bardakova KN, Grebenik EA, Minaev NV, Churbanov SN, Moldagazyeva Z, Krupinov GE, et al. Tailoring the collagen film structural properties via direct laser crosslinking of star-shaped polylactide for robust scaffold formation. *Materials Science and Engineering: C*. 2020;107:110300. DOI: 10.1016/j.msec.2019.110300.
23. Agnieszka R, Dąbrowska GB. Enzymatic degradation and biofilm formation during biodegradation of polylactide and polycaprolactone polymers in various environments. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;176:226–232. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.01.202.
24. Belov DA. Influence of the processes of radiation and hydrolytic destruction on the phase and relaxation transitions in poly-L- and poly-D,L-lactides. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*. 2010;1:40–43. Russian.
25. Krul LP, Belov DA, Butovskaya GV. Structure and physicochemical properties of biodegradable materials based on polylactides. *Vestnik BGU. Seriya 2. Khimiya. Biologiya. Geografiya*. 2011;3:5–11. Russian.
26. Krul LP, Belov DA, Butovskaja GV, Poloiko NA, Artushkevich AS. Poly-D,L-lactide destruction *in vivo* and *in vitro*. In: Kricheldorf HR, Schwarz G, Wutz C, editors. *Biomaterials. 29<sup>th</sup> Hamburger makromolekulares symposium; 2006 October 1–4; Hamburg, Germany*. Hamburg: Universität Hamburg; 2006. p. 88.

Received 29.10.2021 / revised 26.11.2021 / accepted 09.12.2021.

ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА И БЕЛОК-ЛИГАНДНЫЕ  
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО РОТОРА  
НА ОСНОВЕ БОРДИПИРРОМЕТАНАА. Р. ДУДКО<sup>1)</sup>, М. С. ХОРЕЦКИЙ<sup>1)</sup>, Н. С. ФРОЛОВА<sup>1)</sup>,  
Я. В. ФАЛЕТРОВ<sup>1), 2)</sup>, В. М. ШКУМАТОВ<sup>1), 2)</sup><sup>1)</sup>Научно-исследовательский институт физико-химических проблем БГУ,  
ул. Ленинградская, 14, 220006, г. Минск, Беларусь<sup>2)</sup>Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Получен и охарактеризован флуоресцентный молекулярный ротор (ФМР) на основе 4,4-дифтор-4-бора-3а,4а-диаза-*S*-индацена. Параметры эмиссии флуоресценции соединения в значительной мере зависят от изменения вязкости среды. Так, увеличение вязкости системы при переходе из среды этанола в среду глицерина приводит к росту интенсивности эмиссии флуоресценции полученного ФМР в 27 раз. Вместе с этим соединение не обладает ярко выраженным сольватохромизмом. Рассмотренный ФМР способен также аффинно связываться с бычьим сывороточным альбумином, что подтверждается увеличением интенсивности эмиссии флуоресценции соединения при их взаимодействии. Методом молекулярного докинга определены два возможных сайта связывания соединения и описано ближайшее аминокислотное окружение лиганда. Полученные данные могут быть использованы для создания новых флуоресцентных сенсоров вязкости и белок-лигандных взаимодействий в биосистемах *in vitro* и *in vivo*.

**Ключевые слова:** бордипиррометен; бычий сывороточный альбумин; молекулярный докинг; молекулярный ротор; флуоресценция.

**Благодарность.** Работа выполнена при поддержке Белорусского фонда фундаментальных исследований (грант № X21М-059) и в рамках государственной программы научных исследований «Химические технологии и материалы».

**Образец цитирования:**

Дудко АР, Хорецкий МС, Фролова НС, Фалетров ЯВ, Шкуматов ВМ. Флуоресцентные свойства и белок-лигандные взаимодействия молекулярного ротора на основе бордипиррометана. *Журнал Белорусского государственного университета. Химия*. 2022;1:61–71.  
<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2022-1-61-71>

**For citation:**

Dudko AR, Horetski MS, Frolova NS, Faletrov YV, Shkumatov VM. Fluorescent properties and protein-ligand interactions of boron dipyrromethene molecular rotor. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry*. 2022;1:61–71. Russian.  
<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2022-1-61-71>

**Авторы:**

**Анастасия Руслановна Дудко** – стажер младшего научно-го сотрудника лаборатории биохимии лекарственных препаратов.

**Матвей Сергеевич Хорецкий** – младший научный сотрудник лаборатории биохимии лекарственных препаратов.

**Нина Степановна Фролова** – научный сотрудник лаборатории биохимии лекарственных препаратов.

**Ярослав Вячеславович Фалетров** – кандидат химических наук, доцент; ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии лекарственных препаратов<sup>1)</sup>, доцент кафедры высокомолекулярных соединений химического факультета<sup>2)</sup>.

**Владимир Макарович Шкуматов** – член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биологических наук, профессор; главный научный сотрудник лаборатории биохимии лекарственных препаратов<sup>1)</sup>, профессор кафедры высокомолекулярных соединений химического факультета<sup>2)</sup>.

**Authors:**

**Anastasiya R. Dudko**, junior researcher trainee at the laboratory of biochemistry of drugs.

[chem.dudkoar@gmail.com](mailto:chem.dudkoar@gmail.com)

**Matvey S. Horetski**, junior researcher at the laboratory of biochemistry of drugs.

[matvey.horetski@gmail.com](mailto:matvey.horetski@gmail.com)

**Nina S. Frolova**, researcher at the laboratory of biochemistry of drugs.

[biopharm@bsu.by](mailto:biopharm@bsu.by)

**Yaroslav V. Faletrov**, PhD (chemistry), docent; leading researcher at the laboratory of biochemistry of drugs<sup>a</sup> and associate professor at the department of macromolecular compounds, faculty of chemistry<sup>b</sup>.

[yaroslav82@tut.by](mailto:yaroslav82@tut.by)

**Vladimir M. Shkumatov**, corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus, doctor of science (biology), full professor; chief researcher at the laboratory of biochemistry of drugs<sup>a</sup> and professor at the department of macromolecular compounds, faculty of chemistry<sup>b</sup>.

[vlad.shkumatov@tut.by](mailto:vlad.shkumatov@tut.by)

## FLUORESCENT PROPERTIES AND PROTEIN-LIGAND INTERACTIONS OF BORON DIPYRROMETHENE MOLECULAR ROTOR

A. R. DUDKO<sup>a</sup>, M. S. HORETSKI<sup>a</sup>, N. S. FROLOVA<sup>a</sup>,  
Y. V. FALETROV<sup>a, b</sup>, V. M. SHKUMATOV<sup>a, b</sup>

<sup>a</sup>Research Institute for Physical Chemical Problems, Belarusian State University,  
14 Leningradskaya Street, Minsk 220006, Belarus

<sup>b</sup>Belarusian State University, 4 Nezavisimosti Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: A. R. Dudko (chem.dudkoar@gmail.com)

A fluorescent molecular rotor (FMR) based on boron dipyrromethene core was obtained. Fluorescence emission properties of the compound strongly depend on the medium viscosity. The emission intensity increases 27 times after viscosity changing from ethanol to glycerol medium. At the same time, the compound appeared almost insensitive to solvatochromic effects. Obtained FMR also can affinity bind with the bovine serum albumin protein active sites followed by noticeable emission intensity growth. Possible ligand binding sites and main amino acid surrounding were described with molecular docking simulations and are in an agreement with experimental data. The results can be used for further design and synthesis of novel fluorescent viscosity and protein-ligand interactions sensors suitable for implementation in biosystems *in vitro* and *in vivo*.

**Keywords:** boron dipyrromethene; bovine serum albumin; molecular docking; molecular rotor; albumin; fluorescence.

**Acknowledgements.** The work was supported by Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (grant No. X21M-059) and governmental program of scientific researches «Chemical technologies and materials».

### Введение

Современные физико-химические методы исследования, использующие флуоресценцию в качестве аналитического сигнала, являются востребованными в разных областях химии, биологии, медицины. Так, к наиболее распространенным методам относят получение и применение различных флуоресцентно меченных биологически активных соединений. Данные производные содержат фрагмент флуорофора, но сохраняют физико-химические свойства, схожие с физико-химическими свойствами природных аналогов [1–4]. Это значительно упрощает изучение динамических процессов в клетках и их визуализацию [5; 6]. Например, использование флуоресцентных меток позволяет избежать применения радиоактивно меченных соединений, основными недостатками которых являются ограниченные времена полураспада, накопление высокоактивных отходов и трудность коммерческого использования [7; 8]. Отдельной группой флуоресцентных соединений, применяемых в изучении клеточных процессов, выступают флуоресцентные молекулярные ротаторы (ФМР) [9]. Структурные фрагменты таких флуорофоров способны претерпевать свободное вращение относительно друг друга или некоторого макроскопического объекта, такого как поверхность или твердое тело. Составная часть ФМР, которая осуществляет вращение и обычно имеет наименьший момент инерции, является ротатором, стационарная часть ФМР – статором [10]. Как правило, статор и ротатор составляют единую систему сопряжения, поэтому параметры их вращения относительно друг друга влияют и на флуоресцентные свойства соединения в целом. В то же время внутримолекулярное вращение в ФМР зависит от параметров среды, а именно свойств микроокружения молекул. В связи с этим подобные структуры применяются в качестве молекулярных инструментов для изучения микровязкости клеточного содержимого [11; 12]. Аномальные изменения данных показателей зачастую сопутствуют таким заболеваниям, как болезнь Альцгеймера, атеросклероз, диабет [13–15].

Представителями классических ФМР являются стильбены, бензилиденвые малонитрилы, различные арилметиновые структуры [16]. В качестве ФМР также находят применение тиофлавины Т. Его связывание с амилоидными фибриллами и прочими белковыми агрегатами позволяет следить за их образованием через увеличение квантового выхода флуоресценции (Ф) тиофлавина Т [17; 18]. Однако максимальная величина квантового выхода флуоресценции тиофлавина Т в изученных системах невелика и составляет менее 10 %, поэтому целесообразно разрабатывать другие структуры ФМР, обладающие большими значениями квантового выхода флуоресценции [19]. К таким структурам можно отнести производные 4,4-дифтор-4-бора-3а,4а-диаза-5-индацена (BODIPY), часто характеризующиеся высокими значениями коэффициентов молярного поглощения ( $\epsilon$ ), квантового выхода флуоресценции и приемлемой устойчивостью в биологических средах [20–22]. Вместе с тем разнообразные структурные модификации BODIPY позволяют получать флуорофоры с заданными оптическими свойствами, что также обеспечивает интерес к BODIPY. Как и другие ФМР, BODIPY-ФМР применяют в качестве

сенсоров микровязкости окружения. Так, представленные в литературе соединения на основе BODIPY могут проникать в митохондрии клеток HeLa и позволяют проводить количественное определение изменения микровязкости органелл с помощью метода визуализации времени жизни флуоресценции (*fluorescence lifetime imaging*), использующего коррелированный по времени счет одиночных фотонов (*time correlated single photon counting*) [23; 24]. К другим примерам применения BODIPY-ФМР можно отнести мониторинг мембранной вязкости в дифференцирующих стволовых клетках [25].

Зависимость флуоресцентных свойств BODIPY-ФМР от состава и вязкости среды также позволяет следить за реализацией белок-лигандных взаимодействий. Связывание ФМР в активных центрах белков способно воспроизводить высоковязкие среды за счет относительной фиксации структуры ФМР в пространстве. Это делает возможным изучение различных клеточных процессов, связанных с целевыми белками, а также детектирование самих биомолекул через изменение параметров флуоресценции ФМР. Так, известны случаи использования некоторых BODIPY-ФМР для исследования компонентов плазмы крови, а возможность взаимодействия BODIPY-ФМР с альбумином подтверждает вероятность применения белка в качестве модельной системы для анализа взаимодействий BODIPY-ФМР и биомолекул [26; 27]. К другим примерам использования BODIPY-ФМР в данной области можно отнести изучение процессов агрегации амилоидных пептидов, важных маркеров болезни Альцгеймера, через ковалентную модификацию пептидов по аминокислотным остаткам лизина с помощью BODIPY-ФМР [28; 29].

Вместе с тем уже представленные в литературе BODIPY-ФМР, как правило, используются в качестве флуоресцентной метки для других целевых соединений, а данные о физико-химических свойствах и белок-лигандных взаимодействиях индивидуальных BODIPY-ФМР недостаточно описаны [30; 31]. Вследствие этого важным является изучение свойств индивидуальных BODIPY-ФМР как инструментов для определения вязкостных характеристик сред, температуры и белок-лигандных взаимодействий [32]. В настоящей работе получено производное BODIPY флуорофора, обладающее свойствами ФМР. Соединение содержит только один фенильный заместитель в *мезо*-положении BODIPY и является удобной модельной системой. Оптические свойства полученного производного в значительной мере зависят от вязкости среды и реализации белок-лигандных взаимодействий, показанных на примере бычьего сывороточного альбумина (БСА). Установленные зависимости важны для разработки новых флуоресцентных красителей на основе BODIPY-ФМР и для их применения в различных микробиологических и биохимических исследованиях [33; 34].

### Материалы и методы исследования

Все реагенты и растворители были коммерчески доступны, очищены и подготовлены непосредственно перед использованием согласно стандартным методикам [8]. Спектры ядерного магнитного резонанса (ЯМР) регистрировались на приборе Bruker Avance III 400 MHz (Швейцария) в дейтерохлороформе ( $\text{CDCl}_3$ ) при 293 К. Химические сдвиги ( $\delta$ ) указаны в миллионных долях относительно остаточного сигнала  $\text{CDCl}_3$ , принятого за 7,26 м. д. Спектры поглощения и эмиссии флуоресценции соединений записывали на спектрофлуориметре SOLAR CM2203 (Беларусь) в термостатированной кварцевой кювете с длиной светового пути 1 см. Для осуществления молекулярного докинга кристаллическую структуру БСА взяли из базы данных белков RCSB PDB (код структуры белка 4f5s). Предварительную обработку структуры белка проводили в программе *Discovery Studio 2016* и программном пакете *MGLTools* (версия 1.5.6). Структуру лиганда заранее оптимизировали в программе *ORCA* (версия 4.2.0) (PBE0-D3BJ/def2-SVP) [35–39]. Молекулярный докинг осуществляли с помощью программного пакета *Autodock Vina* [40]. Область докирования лиганда имела центр, соответствующий центру сайта связывания белка, и размеры  $30 \times 30 \times 30$  Å с параметром тщательности 512.

**Получение 4,4-дифтор-4-бора-3а,4а-диаза-8-фенил-*S*-индацена (соединение 1).** Соединение 1 получили путем конденсации пиррола и бензальдегида с последующим окислением соответствующего дипиррометана 2,3-дихлоро-5,6-дицианобензохиноном до дипиррометена и его комплексации с эфиром трифторида бора (рис. 1) согласно описанной в литературе методике [41]. Выход вещества составил 14 %.

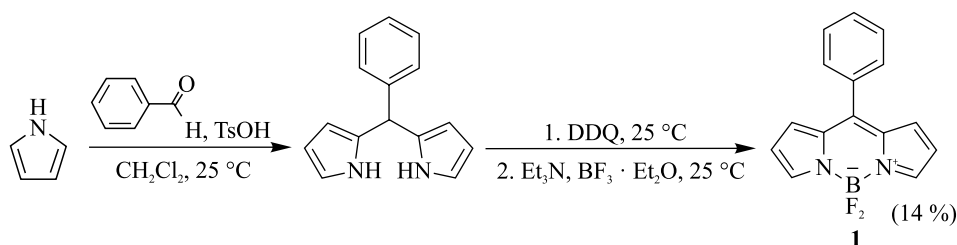


Рис. 1. Схема синтеза соединения 1

Fig. 1. Synthetic scheme of compound 1

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м. д.): 7,95 (2H, с), 7,64–7,48 (5H, м), 6,94 (2H, д,  $J = 4,2$  Гц), 6,55 (2H, д,  $J = 3,7$  Гц); спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м. д.): 147,51, 144,24, 135,08, 133,90, 130,89, 130,60, 128,56, 118,67.

**Общая методика определения коэффициентов молярного поглощения и квантового выхода флуоресценции соединения 1.** Для вычисления коэффициентов молярного поглощения и построения графика их зависимости от длины волны поглощения ( $\lambda_{\text{полг}}$ ) использовали растворы соединения 1 в этаноле различной концентрации. Значения оптических плотностей ( $D$ ) анализируемых растворов находились в диапазоне от 0,1 до 1,0. Сдвиги Стокса рассчитывали как разность длин волн максимумов поглощения и эмиссии флуоресценции флуорофора. Для вычисления квантового выхода флуоресценции соединения 1 в этаноле использовали раствор флуоресцеина в 0,1 моль/л NaOH ( $\Phi_{\text{ст}} = 79\%$ ) в качестве стандарта. Измерения и обработка данных проводились согласно описанному в литературе протоколу [42]. Значения оптических плотностей рабочих растворов на длине волны возбуждения ( $\lambda_{\text{возб}}$ ) находились в диапазоне от 0,02 до 0,1 для минимизации концентрационного тушения флуоресценции. Квантовый выход флуоресценции рассчитывали по формуле

$$\Phi_x = \Phi_{\text{ст}} \left( \frac{\text{grad}_x}{\text{grad}_{\text{ст}}} \right) (\eta_x^2 \eta_{\text{ст}}^2),$$

где  $\Phi_x$  и  $\Phi_{\text{ст}}$  – значения квантовых выходов флуоресценции соединения 1 и стандарта соответственно;  $\text{grad}_x$  и  $\text{grad}_{\text{ст}}$  – тангенсы угла наклона графика соответствующих линеаризованных зависимостей площади под кривой эмиссии флуоресценции соединения 1 и стандарта от значений оптических плотностей их растворов;  $\eta_x$  и  $\eta_{\text{ст}}$  – показатели преломления сред, в которых проводилась запись спектров соединения 1 и стандарта.

**Определение зависимости интенсивности эмиссии флуоресценции соединения 1 от вязкости среды.** Для определения влияния вязкости среды на флуоресцентные свойства 1 равные навески соединения растворяли в одинаковых объемах смесей этанол – глицерин с различной мольной долей ( $\chi$ ) глицерина и термостатировали в течение 30 мин при 25 °С. Вязкость полученных смесей, использованная при обработке данных, представлена в работе [43]. Для всех образцов записывали спектры эмиссии флуоресценции на длине волны возбуждения 360 нм и определяли площади под кривыми эмиссии флуоресценции ( $S_{\text{фл}}$ ). Для вычисления коэффициента чувствительности соединения 1 к изменению вязкости среды ( $\eta$ ) рассматривали зависимость значения десятичного логарифма изменения  $S_{\text{фл}}$  от величины десятичного логарифма  $\eta$ . Искомый коэффициент приняли как тангенс угла наклона графика аппроксимированной линейной зависимости. Из-за отсутствия ярко выраженного сольватохромизма соединения 1 влияние полярности среды на результаты описанных измерений считали несущественным.

**Обратное титрование соединения 1 бычьим сывороточным альбумином.** Раствор соединения 1 приготовили в 1 ммоль/л фосфатном буфере с добавлением 5 % N,N-диметилформамида [44]. В свою очередь, раствор БСА приготовили в аналогичном растворе лиганда для поддержания постоянной концентрации последнего в процессе титрования. На начальном этапе записывали спектры поглощения и эмиссии флуоресценции образца, содержащего индивидуальный лиганд. Затем раствор БСА добавляли к раствору лиганда в заданном соотношении. После каждого добавления порции белка и перед следующим измерением спектров поглощения и эмиссии флуоресценции образец термостатировали в течение 10 мин при температуре 25 °С. Длина волны возбуждения для всех измерений составляла 490 нм. Для построения кривой титрования были найдены отношения  $S_{\text{фл}}$  соответствующих образцов с БСА к  $S_{\text{фл}}$  исходного индивидуального раствора лиганда ( $S_{\text{фл}}^0$ ). Построен график зависимости найденных отношений  $\frac{S_{\text{фл}}}{S_{\text{фл}}^0}$  от количества добавленных эквивалентов белка.

### Результаты и их обсуждение

Соединение 1 содержит в структуре BODIPY только фенильный заместитель, возможность вращения которого относительно плоскости BODIPY обуславливает использование данного соединения в качестве ФМР (см. рис. 1, соединение 1). Вместе с тем, за исключением фрагмента  $\text{BF}_2$ , в структуре соединения 1 отсутствуют заместители, способные к специфическому взаимодействию (образованию водородных связей, ковалентному связыванию) с молекулярным окружением соединения 1, что делает его хорошим модельным BODIPY-ФМР.

Соединение 1 обладает высокими значениями коэффициентов молярного поглощения в широком диапазоне длин волн (рис. 2, а), при этом максимальная величина коэффициентов молярного поглощения наблюдается в видимой области спектра при  $\lambda_{\text{полг}} = 499$  нм и равняется  $56\,835 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ . В то же время квантовый выход флуоресценции составляет лишь 2,86 %. Низкое значение квантового

выхода флуоресценции, вероятно, связано с возможностью незатрудненного внутримолекулярного вращения фенильного заместителя относительно плоскости BODIPY в среде этанола, имеющего сравнительно низкую вязкость (1,214 мПа · с при 25 °С) [43]. Это приводит к преобладанию процессов безызлучательной релаксации флуорофора из возбужденного состояния. Вместе с тем, как показано на рис. 2, формы спектров поглощения и эмиссии флуоресценции соединения **1** в этаноле сходные, что свидетельствует о подобии геометрий основного и того возбужденного состояния, из которого происходит излучательная релаксация флуорофора.

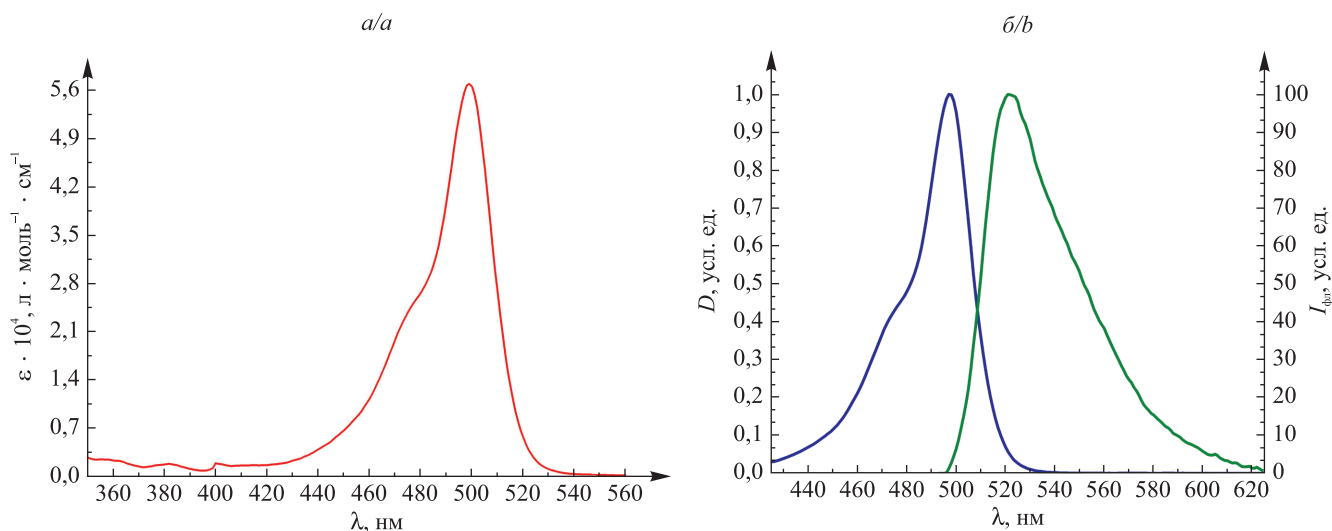


Рис. 2. Зависимость коэффициента молярного поглощения соединения **1** от длины волны ( $\lambda$ ) (а) и спектры поглощения (—) и эмиссии флуоресценции (—) соединения **1** в этаноле (б)

Fig. 2. Molar absorption coefficient dependence on the absorption wavelength ( $\lambda$ ) (a) and absorption (—) and emission (—) spectra of compound **1** in ethanol (b)

Для изучения влияния полярности растворителя на оптические свойства соединения **1** определяли длины волн максимумов поглощения ( $\lambda_{\text{макс. погл.}}$ ) и эмиссии флуоресценции ( $\lambda_{\text{макс. эм.}}$ ), а также рассчитывали значения сдвигов Стокса ( $\Delta\lambda$ ) в различных растворителях. Данные представлены в таблице. Для растворителей приведены значения полярности ( $E_T^N$ ), полученные из соответствующих спектров поглощения 2,6-дифенил-4-(2,4,6-трифенил-1-пиридино)фенолята [45].

Значения длин волн максимумов поглощения  
и эмиссии флуоресценции, а также соответствующих  
сдвигов Стокса соединения **1** в различных растворителях

Wavelengths of absorption and emission maxima  
and Stokes shifts of compound **1** in various solvents

| Растворитель   | $E_T^N$ | $\lambda_{\text{макс. погл.}}, \text{ нм}$ | $\lambda_{\text{макс. эм.}}, \text{ нм}$ | $\Delta\lambda, \text{ нм}$ |
|----------------|---------|--------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------|
| Этанол         | 0,654   | 499                                        | 518                                      | 19                          |
| 1,2-Дихлорэтан | 0,327   | 501                                        | 524                                      | 23                          |
| Дихлорметан    | 0,309   | 501                                        | 523                                      | 22                          |
| Этилацетат     | 0,228   | 498                                        | 523                                      | 25                          |
| Толуол         | 0,099   | 504                                        | 530                                      | 26                          |
| n-Гексан       | 0,009   | 500                                        | 522                                      | 22                          |

Полученные данные свидетельствуют о слабовыраженном сольватохромизме соединения **1**. Так, сдвиги  $\lambda_{\text{макс. погл.}}$  при переходе от этанола к n-гексану составляют менее 5 нм. Сходные данные наблюдаются и для соответствующих значений  $\lambda_{\text{макс. эм.}}$ . Сдвиги Стокса соединения **1** также слабо зависят от изменения полярности среды и находятся в диапазоне от 19 до 26 нм. Этот факт можно объяснить отсутствием в соединении **1** функциональных групп, способных вступать во взаимодействие с растворителем.

и значительно влиять на дипольный момент молекулы в различных электронных состояниях, формируя при этом возбужденные состояния, чувствительные к полярности среды, например возбужденное состояние с переносом заряда [12]. Это также согласуется со сходностью формы спектров поглощения и эмиссии флуоресценции соединения **1**. Отсутствие выраженных сольватохромных эффектов позволяет не учитывать полярность используемой среды и упрощает применение производного соединения **1** в качестве молекулярного инструмента определения вязкости среды, а также специфических белок-лигандных взаимодействий.

Для оценки влияния вязкости микроокружения на оптические свойства соединения **1** изучали параметры эмиссии флуоресценции соединения **1** в системах этанол – глицерин различных мольных соотношений. На рис. 3 изображены некоторые рассмотренные растворы соединения **1** в системе этанол – глицерин с различной мольной долей глицерина.

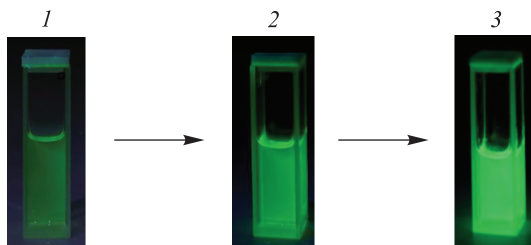


Рис. 3. Растворы соединения **1** в системе этанол – глицерин с различной мольной долей глицерина:  
 $\chi = 0$  (1);  $\chi = 0,45$  (2);  $\chi = 1$  (3)

Fig. 3. Solutions of compound **1** in ethanol – glycerol mixtures with different glycerol mole fractions:  
 $\chi = 0$  (1);  $\chi = 0.45$  (2);  $\chi = 1$  (3)

Полученные спектры эмиссии флуоресценции растворов соединения **1** (рис. 4, а) свидетельствуют о значительном росте интенсивности флуоресценции ( $I_{\text{фл}}$ ) по мере увеличения вязкости среды. Вместе с тем изменение интенсивности флуоресценции нелинейно зависит от мольной доли глицерина в смеси. Так, увеличение мольной доли глицерина от 0 до 0,45 приводит к росту интенсивности флуоресценции в 3 раза. В чистом глицерине интенсивность флуоресценции увеличивается в 27 раз относительно интенсивности флуоресценции соединения **1** в этаноле.

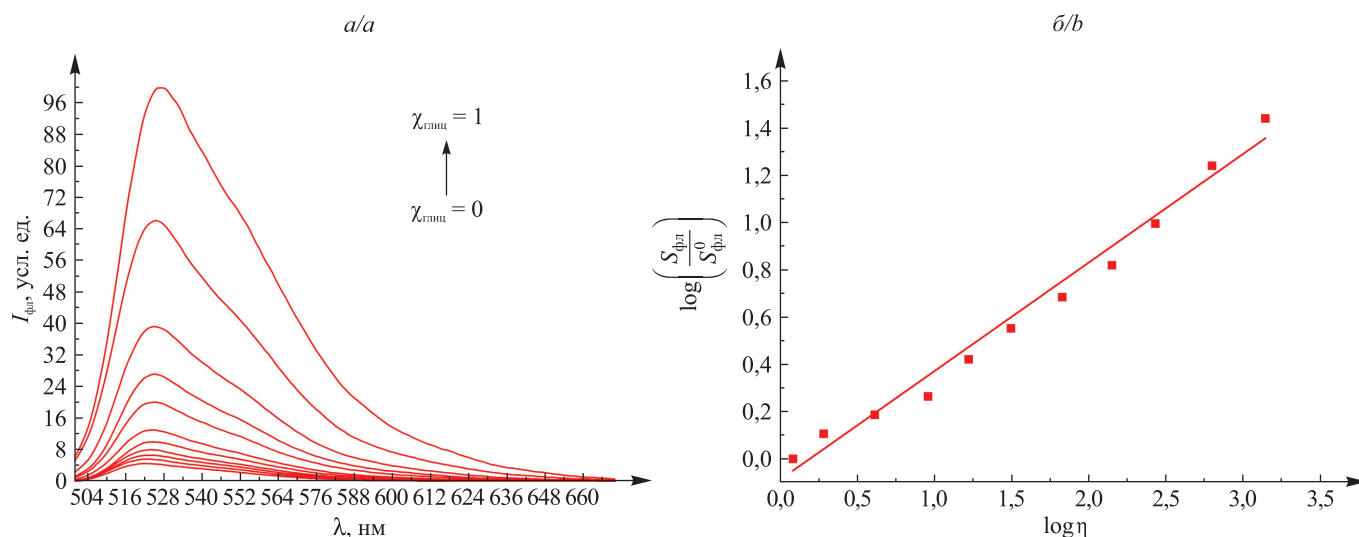


Рис. 4. Спектры эмиссии флуоресценции соединения **1** в системах этанол – глицерин различных соотношений (а) и зависимость десятичного логарифма отношения  $\frac{S_{\text{фл}}}{S_{\text{фл}}^0}$  от десятичного логарифма вязкости ( $\eta$ ) среды (б)

Fig. 4. Emission spectra of compound **1** in different ethanol – glycerol mixtures (а) and the  $\frac{S_{\text{фл}}}{S_{\text{фл}}^0}$  ratio decimal logarithm dependence on the medium viscosity value ( $\eta$ ) decimal logarithm (б)

Вследствие того, что для соединения **1** сольватохромные эффекты выражены крайне слабо, зависимость интенсивности эмиссии флуоресценции от вязкости системы может быть количественно описана уравнением Хоффмана – Фёрстера [46]:

$$\log \left( \frac{S_{\text{фл}}}{S_{\text{фл}}^0} \right) = C + x \log \eta, \quad (1)$$

где  $S_{\text{фл}}$  – площадь под кривой эмиссии флуоресценции исследуемых растворов соединения **1**;  $S_{\text{фл}}^0$  – площадь под кривой эмиссии флуоресценции стандартного раствора соединения **1** в этаноле;  $C$  и  $x$  – зависящие от растворителя и ФМР константы;  $\eta$  – вязкость среды.

На основе уравнения (1) построили график зависимости логарифма изменения площади под кривой эмиссии флуоресценции соединения **1** от логарифма вязкости среды (рис. 4, б). Полученная зависимость является линейной в широком интервале вязкостей изучаемых сред и характеризуется коэффициентом корреляции  $R^2 = 0,985$ . Тангенс угла наклона полученного графика равен 0,49 и соответствует величине чувствительности флуоресценции соединения **1** к изменению вязкости окружения. Результаты хорошо коррелируют с литературными данными для подобных соединений и дополнительно подтверждают преимущественное влияние именно вязкости среды на эмиссию флуоресценции соединения **1** и незначительную роль полярности среды [47]. Полученные данные делают перспективным дальнейшее изучение зависимости флуоресцентных свойств соединения **1** от вязкости окружения в клеточных и других средах, а также применение соединения **1** в качестве сенсора микровязкости его окружения.

Так как параметры эмиссии флуоресценции соединения **1** значительно зависят от вязкости среды и слабо зависят от изменения ее полярности, данное соединение может использоваться в качестве флуорогенного сенсора реализации белок-лигандных взаимодействий. Фиксация структуры флуорофора в центре связывания белка за счет различных нековалентных взаимодействий с его аминокислотным окружением может воспроизводить эффект увеличения вязкости микроокружения молекул соединения. Аналогично изменению вязкости среды за счет изменения состава растворителя белок-лигандные взаимодействия должны оказывать влияние на оптические свойства исследуемого BODIPY-ФМР. В связи с этим методом прямого титрования оценивали возможность применения соединения **1** как флуорогенного сенсора белок-лигандных взаимодействий. Для этого в качестве модельного белка использовали БСА, являющийся одним из наиболее распространенных белков плазмы крови млекопитающих и отвечающий за многие биохимические процессы, в том числе за транспортную функцию [48]. В качестве аналитического сигнала в процессе титрования детектировалось увеличение площади под кривой эмиссии флуоресценции растворов соединения **1**. Полученные спектры эмиссии флуоресценции растворов соединения **1** после добавления различного количества эквивалентов БСА свидетельствуют об усилении интенсивности флуоресценции соединения **1** с увеличением концентрации БСА (рис. 5). Так, после добавления четырех эквивалентов БСА наблюдается рост интенсивности максимума эмиссии флуоресценции соединения **1** в 3,5 раза по сравнению с исходной величиной. Длина волны максимума эмиссии флуоресценции при этом претерпевает несущественный bathochromный сдвиг, что согласуется с вышеописанными сольватохромными свойствами соединения **1**.

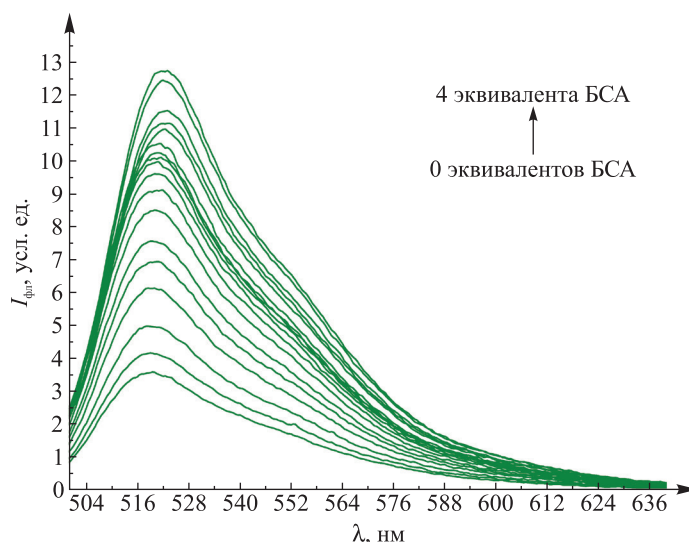


Рис. 5. Спектры эмиссии флуоресценции растворов соединения **1** после добавления различных количеств эквивалентов БСА

Fig. 5. Emission spectra of compound **1** after addition of a different amounts of bovine serum albumin equivalents

Для определения возможных сайтов связывания флуорофора БСА применяли метод молекулярного докинга. Так, наибольшая аффинность соединения **1** наблюдается для двух сайтов связывания – Судлоу I (C1) и Судлоу II (C2) – бычьего сывороточного альбумина. Значения свободных энергий связывания соединения **1** в соответствующих активных центрах БСА составили –9,4 и –8,5 ккал/моль. Сайты C1 и C2 отвечают за связывание различных гидрофобных молекул и за транспорт БСА таких лекарственных препаратов и биологически активных соединений, как варфарин, гидроксихинолин, производные нафталимида и т. д. [49; 50]. Графическое изображение локализации соединения **1** в сайтах связывания C1 и C2 бычьего сывороточного альбумина представлено на рис. 6 и 7. В случае локализации соединения **1** в C1 ближайшее окружение фенильного заместителя флуорофора составляют остатки таких неполярных аминокислот, как TYR149, LEU259. Фрагмент BF<sub>2</sub> соединения **1** стабилизирован водородной связью между гуанидиновым фрагментом остатка ARG217 и атомами фтора соединения **1**. При локализации флуорофора в C2 ближайшее гидрофобное аминокислотное окружение составляют PHE133, TYR160, ILE181 и LEU115, аналогично стабилизирующие связывание соединения **1** с БСА.

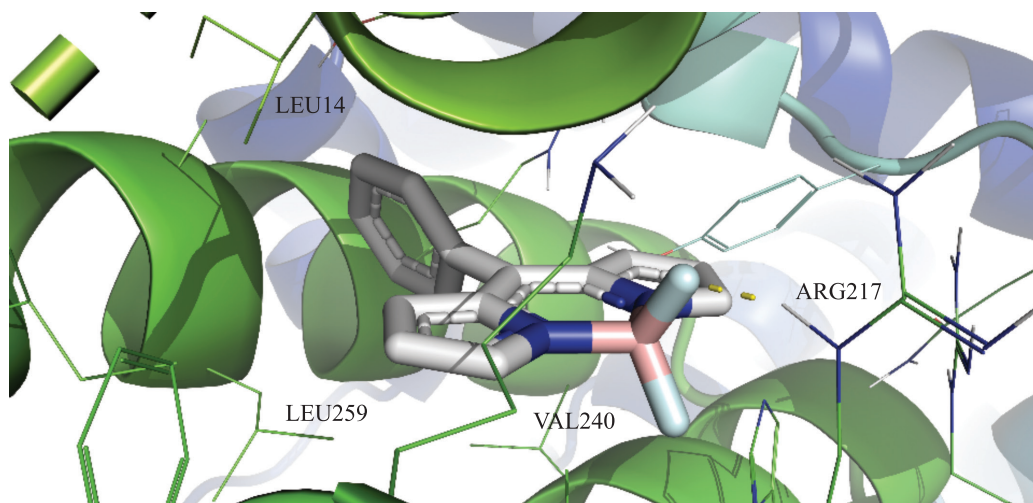


Рис. 6. Рассчитанная локализация соединения **1** в активном центре C1 бычьего сывороточного альбумина и его ближайшее аминокислотное окружение

Fig. 6. Calculated localisation of compound **1** in the C1 active site of bovine serum albumin and its' closest amino acid surrounding

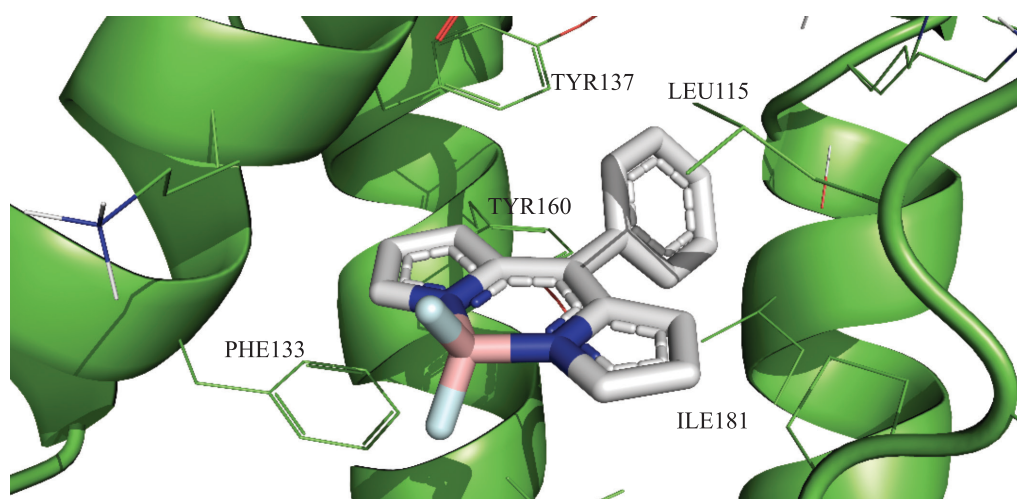


Рис. 7. Рассчитанная локализация соединения **1** в активном центре C2 бычьего сывороточного альбумина и его ближайшее аминокислотное окружение

Fig. 7. Calculated localisation of compound **1** in the C2 active site of bovine serum albumin and its' closest amino acid surrounding

### Заключение

Полученные данные свидетельствуют о наличии зависимости оптических свойств соединения **1**, в частности интенсивности флуоресценции и квантового выхода флуоресценции от вязкости его окружения. Показано, что увеличение вязкости системы при переходе из среды этанола в среду глицерина приводит к 27-кратному увеличению интенсивности флуоресценции соединения **1**. Обнаруженная

линейная зависимость десятичных логарифмов  $\frac{S_{\text{фл}}}{S_{\text{фл}}^0}$  от соответствующих десятичных логарифмов  $\eta$

наблюдается во всем диапазоне изучаемых вязкостей и согласуется с теорией Хоффмана – Фёрстера. Вместе с тем сольватохромные эффекты для соединения **1** выражены слабо, что делает его удобным BODIPY-ФМР для изучения изменения вязкости сред и в перспективе микровязкости в живых системах. Впервые для соединения **1** экспериментально представлена возможность аффинного связывания с БСА, также сопровождающаяся увеличением интенсивности флуоресценции соединения **1**. Методом молекулярного докинга показано, что вероятными сайтами связывания соединения **1** являются C1 и C2, ответственные за связывание белком многих значимых липофильных биологически активных соединений. Рассчитанные значения соответствующих свободных энергий связывания при этом составили –9 и –8 ккал/моль соответственно. Полученные данные указывают на перспективу развития способов использования таких BODIPY-ФМР в качестве сенсоров изменения вязкостных характеристик сред и реализации белок-лигандных взаимодействий.

### Библиографические ссылки / References

1. Pratt A, Garcia-Effron G, Zhao Y, Park S, Mustaev A, Pillai S, et al. Evaluation of fungal-specific fluorescent labeled echinocandin probes as diagnostic adjuncts. *Medical Mycology*. 2013;51(1):103–107. DOI: 10.3109/13693786.2012.685767.
2. Sameiro M, Gonçalves T. Fluorescent labeling of biomolecules with organic probes. *Chemical Reviews*. 2009;109(1):190–212. DOI: 10.1021/Cr0783840.
3. Faletrov YV, Efimova VS, Horetski MS, Tugaeva KV, Frolova NS, Lin Q, et al. New 20-hydroxycholesterol-like compounds with fluorescent NBD or alkyne labels: synthesis, *in silico* interactions with proteins and uptake by yeast cells. *Chemistry and Physics of Lipids*. 2020;227:104850. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2019.104850.
4. Horetski MS, Faletrov YV, Rudaya EV, Shkumatov VM. Fluorescent BODIPY dyes as ligands for major steroidogenic proteins: *in silico* evaluation. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry*. 2018;1:22–27.
5. Hölttä-Vuori M, Uronen R-L, Repakova J, Salonen E, Vattulainen I, Panula P, et al. BODIPY-cholesterol: a new tool to visualize sterol trafficking in living cells and organisms. *Traffic*. 2008;9(11):1839–1849. DOI: 10.1111/j.1600-0854.2008.00801.x.
6. Gee KR, Kang HC, Meier TI, Zhao G, Blaszcak LC. Fluorescent Bocillins: synthesis and application in the detection of penicillin-binding proteins. *Electrophoresis*. 2001;22(5):960–965. DOI: 10.1002/1522-2683(200105)22:5<960::AID-ELPS960>3.0.CO;2-9.
7. Masson JM, Labia R. Synthesis of a <sup>125</sup>I-radiolabeled penicillin for penicillin-binding proteins studies. *Analytical Biochemistry*. 1983;128(1):164–168. DOI: 10.1016/0003-2697(83)90357-3.
8. Preston DA, Wu CY, Blaszcak LC, Seitz DE, Halligan NG. Biological characterization of a new radioactive labeling reagent for bacterial penicillin-binding proteins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1990;34(5):718–721. DOI: 10.1128/aac.34.5.718.
9. Guterres MFAN, Ronconi CM. Máquinas moleculares artificiais. *Revista Virtual de Química*. 2009;1(2):104–116. DOI: 10.5935/1984-6835.20090013.
10. Kottas GS, Clarke LI, Horinek D, Michl J. Artificial molecular rotors. *Chemical Reviews*. 2005;105(4):1281–1376. DOI: 10.1021/Cr0300993.
11. Kung CE, Reed JK. Fluorescent molecular rotors: a new class of probes for tubulin structure and assembly. *Biochemistry*. 1989;28(16):6678–6686. DOI: 10.1021/Bi00442a022.
12. Uzhinov BM, Ivanov VL, Melnikov MYa. Molecular rotors as luminescence sensors of local viscosity and viscous flow in solutions and organized systems. *Russian Chemical Reviews*. 2011;80(12):1179–1190. DOI: 10.1070/Rc2011v080n12abeh004246.
13. Zubenko GS, Kopp U, Seto T, Firestone LL. Platelet membrane fluidity individuals at risk for Alzheimer's disease: a comparison of results from fluorescence spectroscopy and electron spin resonance spectroscopy. *Psychopharmacology*. 1999;145(2):175–180. DOI: 10.1007/S002130051046.
14. Nadiv O, Shinitzky M, Manu H, Hecht D, Roberts CT, LeRoith D, et al. Elevated protein tyrosine phosphatase activity and increased membrane viscosity are associated with impaired activation of the insulin receptor kinase in old rats. *Biochemical Journal*. 1994;298(2):443–450. DOI: 10.1042/Bj2980443.
15. Deliconstantinos G, Villiotou V, Stavrides JC. Modulation of particulate nitric oxide synthase activity and peroxynitrite synthesis in cholesterol enriched endothelial cell membranes. *Biochemical Pharmacology*. 1995;49(11):1589–1600. DOI: 10.1016/0006-2952(95)00094-G.
16. Haidekker MA, Theodorakis EA. Environment-sensitive behavior of fluorescent molecular rotors. *Journal of Biological Engineering*. 2010;4:11. DOI: 10.1186/1754-1611-4-11.
17. Ziaunys M, Sakalauskas A, Smirnovas V. Identifying insulin fibril conformational differences by thioflavin T binding characteristics. *Biomacromolecules*. 2020;21(12):4989–4997. DOI: 10.1021/Acs.Biomac.0c01178.
18. Amdursky N, Erez Y, Huppert D. Molecular rotors: what lies behind the high sensitivity of the thioflavin T fluorescent marker. *Accounts of Chemical Research*. 2012;45(9):1548–1557. DOI: 10.1021/Ar300053p.

19. Maskevich AA, Stsiapura VI, Kuzmitsky VA, Kuznetsova IM, Povarova OI, Uversky VN, et al. Spectral properties of thioflavin T in solvents with different dielectric properties and in a fibril-incorporated form. *Journal of Proteome Research*. 2007;6(4):1392–1401. DOI: 10.1021/Pr0605567.
20. Kamkaew A, Lim SH, Lee HB, Kiew LV, Chung LY, Burgess K. BODIPY dyes in photodynamic therapy. *Chemical Society Reviews*. 2013;42(1):77–88. DOI: 10.1039/C2cs35216h.
21. Miao W, Yu C, Hao E, Jiao L. Functionalized BODIPYs as fluorescent molecular rotors for viscosity detection. *Frontiers in Chemistry*. 2019;7:825. DOI: 10.3389/fchem.2019.00825.
22. Boens N, Leen V, Dehaen W. Fluorescent indicators based on BODIPY. *Chemical Society Reviews*. 2012;41(3):1130–1172. DOI: 10.1039/C1cs15132k.
23. Yang Z, He Y, Lee JH, Park N, Suh M, Chae WS, et al. A self-calibrating bipartite viscosity sensor for mitochondria. *Journal of the American Chemical Society*. 2013;135(24):9181–9185. DOI: 10.1021/JA403851P.
24. Su D, Teoh CL, Gao N, Xu Q-H, Chang Y-T. A simple BODIPY-based viscosity probe for imaging of cellular viscosity in live cells. *Sensors*. 2016;16(9):1397. DOI: 10.3390/S16091397.
25. Kashirina AS, López-Duarte I, Kubánková M, Gulín AA, Dudenkova VV, Rodimova SA, et al. Monitoring membrane viscosity in differentiating stem cells using BODIPY-based molecular rotors and FLIM. *Scientific Reports*. 2020;10(1):14063. DOI: 10.1038/S41598-020-70972-5.
26. Marfin YuS, Aleksakhina EL, Merkushev DA, Rumyantsev EV, Tomilova IK. Interaction of BODIPY dyes with the blood plasma proteins. *Journal of Fluorescence*. 2016;26(1):255–261. DOI: 10.1007/S10895-015-1707-X.
27. Vodyanova OS, Kochergin BA, Usoltsev SD, Marfin YuS, Rumyantsev EV, Aleksakhina EL, et al. BODIPY dyes in bio environment: spectral characteristics and possibilities for practical application. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2018;350:44–51. DOI: 10.1016/J.jphotochem.2017.09.049.
28. Dzyuba SV. BODIPY dyes as probes and sensors to study amyloid- $\beta$ -related processes. *Biosensors*. 2020;10(12):192. DOI: 10.3390/Bios10120192.
29. Kubánková M, López-Duarte I, Bull JA, Vadukul DM, Serpell LC, de Saint Victor M, et al. Probing supramolecular protein assembly using covalently attached fluorescent molecular rotors. *Biomaterials*. 2017;139:195–201. DOI: 10.1016/J.biomaterials.2017.06.009.
30. Tiwari R, Shinde PS, Sreedharan S, Dey AK, Vallis KA, Mhaske SB, et al. Photoactivatable prodrug for simultaneous release of mertansine and CO along with a BODIPY derivative as a luminescent marker in mitochondria: a proof of concept for NIR image-guided cancer therapy. *Chemical Science*. 2021;12(7):2667–2673. DOI: 10.1039/D0sc06270g.
31. Testolin G, Cirsni K, Rox K, Prochnow H, Fetz V, Grandclaude C, et al. Synthetic studies of cystobactamids as antibiotics and bacterial imaging carriers lead to compounds with high *in vivo* efficacy. *Chemical Science*. 2020;11(5):1316–1334. DOI: 10.1039/C9sc04769g.
32. Adhikari S, Moscatelli J, Smith EM, Banerjee C, Puchner EM. Single-molecule localization microscopy and tracking with red-shifted states of conventional BODIPY conjugates in living cells. *Nature Communications*. 2019;10(1):3400. DOI: 10.1038/S41467-019-11384-6.
33. Guan Q, Fu D-D, Li Y-A, Kong X-M, Wei Z-Y, Li W-Y, et al. BODIPY-decorated nanoscale covalent organic frameworks for photodynamic therapy. *iScience*. 2019;14:180–198. DOI: 10.1016/J.isci.2019.03.028.
34. Sun S, Zhuang X, Wang L, Liu B, Zhang B, Chen Y. BODIPY-based conjugated polymer covalently grafted reduced graphene oxide for flexible nonvolatile memory devices. *Carbon*. 2017;116:713–721. DOI: 10.1016/J.carbon.2017.02.034.
35. Adamo C, Barone V. Toward reliable density functional methods without adjustable parameters: the PBE0 model. *Journal of Chemical Physics*. 1999;110(13):6158–6170. DOI: 10.1063/1.478522.
36. Tsuzuki S, Uchimaru T. Accuracy of intermolecular interaction energies, particularly those of hetero-atom containing molecules obtained by DFT calculations with Grimme's D2, D3 and D3BJ dispersion corrections. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2020;22(39):22508–22519. DOI: 10.1039/D0cp03679j.
37. Weigend F, Ahlrichs R. Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence and quadruple zeta valence quality for H to Rn: design and assessment of accuracy. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2005;7(18):3297–3305. DOI: 10.1039/B508541A.
38. Neese F. The ORCA program system. *WIREs Computational Molecular Science*. 2012;2(1):73–78. DOI: 10.1002/Wcms.81.
39. Neese F. Software update: the ORCA program system, version 4.0. *WIREs Computational Molecular Science*. 2018;8(1):e1327. DOI: 10.1002/Wcms.1327.
40. Allouche A-R. Gabedit – a graphical user interface for computational chemistry softwares. *Journal of Computational Chemistry*. 2011;32(1):174–182. DOI: 10.1002/jcc.21600.
41. Wagner RW, Lindsey JS. Boron-dipyrromethene dyes for incorporation in synthetic multi-pigment light-harvesting arrays. *Pure and Applied Chemistry*. 1996;68(7):1373–1380. DOI: 10.1351/Pac199668071373.
42. Würth C, Grabolle M, Pauli J, Spieles M, Resch-Genger U. Relative and absolute determination of fluorescence quantum yields of transparent samples. *Nature Protocols*. 2013;8(8):1535–1550. DOI: 10.1038/NPROT.2013.087.
43. Alkindi AS, Al-Wahaibi YM, Muggeridge AH. Physical properties (density, excess molar volume, viscosity, surface tension, and refractive index) of ethanol + glycerol. *Journal of Chemical and Engineering Data*. 2008;53(12):2793–2796. DOI: 10.1021/Je8004479.
44. Amorim VG, Melo SMG, Leite RF, Coutinho PA, da Silva SMP, Silva AR, et al. Synthesis and characterization of two novel red-shifted isothiocyanate BODIPYs and their application in protein conjugation. *Dyes and Pigments*. 2020;182:108646. DOI: 10.1016/J.dyepig.2020.108646.
45. Giernoth R. Solvents and solvent effects in organic chemistry. 4<sup>th</sup> ed. by Christian Reichardt and Thomas Welton [book review]. *Angewandte Chemie International Edition*. 2011;50(48):11289. DOI: 10.1002/anie.201105531.
46. Lee S-C, Heo J, Woo HC, Lee J-A, Seo YH, Lee C-L, et al. Fluorescent molecular rotors for viscosity sensors. *Chemistry – A European Journal*. 2018;24(52):13706–13718. DOI: 10.1002/Chem.201801389.

47. Liu X, Chi W, Qiao Q, Kokate SV, Cabrera EP, Xu Z, et al. Molecular mechanism of viscosity sensitivity in BODIPY rotors and application to motion-based fluorescent sensors. *ACS Sensors*. 2020;5(3):731–739. DOI: 10.1021/Acscensors.9b01951.
48. Aguilera-Garrido A, del Castillo-Santaella T, Yang Y, Galisteo-González F, Gálvez-Ruiz MJ, Molina-Bolívar JA, et al. Applications of serum albumins in delivery systems: differences in interfacial behaviour and interacting abilities with polysaccharides. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2021;290:102365. DOI: 10.1016/J.Cis.2021.102365.
49. Abou-Zied OK, Al-Lawatia N. Exploring the drug-binding site Sudlow I of human serum albumin: the role of water and Trp214 in molecular recognition and ligand binding. *ChemPhysChem*. 2011;12(2):270–274. DOI: 10.1002/Cphc.201000742.
50. Joshi R, Jadhao M, Kumar H, Ghosh SK. Is the Sudlow site I of human serum albumin more generous to adopt prospective anti-cancer bioorganic compound than that of bovine: a combined spectroscopic and docking simulation approach. *Bioorganic Chemistry*. 2017;75:332–346. DOI: 10.1016/J.Bioorg.2017.10.013.

Получена 21.10.2021 / исправлена 09.11.2021 / принята 09.12.2021.  
Received 21.10.2021 / revised 09.11.2021 / accepted 09.12.2021.

УДК 544.653+544.654.2+621.357.7

## СВОЙСТВА ПОКРЫТИЙ НИКЕЛЬ – ОЛОВО, ОСАЖДАЕМЫХ ИЗ ВОДНЫХ И НЕВОДНЫХ ЭЛЕКТРОЛИТОВ

А. А. КУДАКО<sup>1)</sup>, Т. Н. ВОРОБЬЕВА<sup>1), 2)</sup>

<sup>1)</sup>Научно-исследовательский институт физико-химических проблем БГУ,

ул. Ленинградская, 14, 220006, г. Минск, Беларусь

<sup>2)</sup>Белорусский государственный университет,

пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Предложены составы водного хлоридно-фторидного и этиленгликолевого цитратного электролитов и условия электрохимического осаждения покрытий Ni – Sn, обеспечивающие получение сплава на основе интерметаллида Ni<sub>3</sub>Sn<sub>2</sub> с содержанием никеля 36–40 мас. %. Определено влияние добавок фторидов натрия и аммония, а также неионогенного поверхностно-активного вещества ОС-20 в водный электролит или добавок соляной и лимонной кислот в этиленгликолевый электролит на внутренние напряжения и коррозионную устойчивость покрытий. Выявлено, что наименьшие внутренние напряжения и наиболее высокая коррозионная устойчивость характерны для покрытий с мелкозернистой плотной структурой, не изменяющейся при увеличении толщины (в пределах 1–10 мкм), в состав которых входит единственная кристаллическая фаза Ni<sub>3</sub>Sn<sub>2</sub> с минимальными отклонениями от стехиометрии. В наибольшей мере эти характеристики обеспечиваются при осаждении покрытий из этиленгликолевого цитратного электролита.

**Ключевые слова:** сплав никель – олово; водный электролит; этиленгликолевый электролит; гальваническое покрытие; внутренние напряжения; коррозионная устойчивость.

**Благодарность.** Работа выполнена в рамках подпрограммы 2.1 «Химические технологии, процессы и реагенты» государственной программы научных исследований на 2021–2025 гг. «Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биорганическая химия» (задание 2.1.06.02).

### Образец цитирования:

Кудак АА, Воробьева ТН. Свойства покрытий никель – олово, осаждаемых из водных и неводных электролитов. *Журнал Белорусского государственного университета. Химия.* 2022;1:72–82.

<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2022-1-72-82>

### For citation:

Kudaka AA, Vorobyova TN. Properties of nickel – tin coatings deposited from aqueous and non-aqueous electrolytes. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry.* 2022;1:72–82. Russian.

<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2022-1-72-82>

### Авторы:

**Антон Александрович Кудак** – младший научный сотрудник лаборатории химии тонких пленок.

**Татьяна Николаевна Воробьева** – доктор химических наук, профессор; главный научный сотрудник лаборатории химии тонких пленок<sup>1)</sup>, профессор кафедры неорганической химии химического факультета<sup>2)</sup>.

### Authors:

**Anton A. Kudaka**, junior researcher of the thin films chemistry laboratory.

[kudako.anton@gmail.com](mailto:kudako.anton@gmail.com)

**Tatsiana N. Vorobyova**, doctor of science (chemistry), full professor; chief researcher of the thin films chemistry laboratory<sup>a</sup> and professor at the department of inorganic chemistry, faculty of chemistry<sup>b</sup>.

[vorobyovatn@gmail.com](mailto:vorobyovatn@gmail.com)

<http://orcid.org/0000-0002-3630-2508>

PROPERTIES OF NICKEL – TIN COATINGS DEPOSITED  
FROM AQUEOUS AND NON-AQUEOUS ELECTROLYTESA. A. KUDAKA<sup>a</sup>, T. N. VOROBYOVA<sup>a, b</sup><sup>a</sup>Research Institute for Physical Chemical Problems, Belarusian State University,  
14 Lieninhradskaja Street, Minsk 220006, Belarus<sup>b</sup>Belarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: A. A. Kudaka (kudako.anton@gmail.com)

The compositions of aqueous chloride-fluoride and ethylene glycol citrate electrolytes and conditions for electrochemical deposition of Ni – Sn coatings, providing the production of an alloy based on Ni<sub>3</sub>Sn<sub>2</sub> intermetallic with nickel content of 36–40 wt. %, have been proposed. The effect of sodium and ammonium fluorides additives, as well as non-ionic surfactant OS-20 in an aqueous electrolyte or hydrochloric and citric acids in ethylene glycol electrolyte on the internal stresses and corrosion resistance of coatings has been determined. The lowest internal stresses and the highest corrosion resistance have been found to be characteristic of coatings with a fine-grained dense structure that does not change with increasing of thickness (within 1–10 μm), which include a Ni<sub>3</sub>Sn<sub>2</sub> single crystalline phase with minimal deviations from stoichiometry. To the greatest extent, these characteristics are provided during the deposition of coatings from ethylene glycol citrate electrolyte.

**Keywords:** nickel – tin alloy; aqueous electrolyte; ethylene glycol electrolyte; electroplated coating; internal stresses; corrosion resistance.

**Acknowledgements.** The investigation was performed within subprogram 2.1 «Chemical technologies, processes and reagents» of the state program of scientific research for 2021–2025 «Chemical processes, reagents and technologies, bioregulators and bioorganic chemistry» (assignment 2.1.06.02).

## Введение

Электрохимически осажденные покрытия Ni – Sn широко используются для защитно-декоративной отделки изделий из меди или стали с подслоем меди, а также в электронной технике (взамен покрытий драгоценными металлами) при производстве печатных плат и электрических контактов. Никель-оловянные покрытия, содержащие (65 ± 5) мас. % олова, по своей коррозионной устойчивости превосходят никелевые, оловянные и хромовые, характеризуются пролонгированной способностью к пайке (до 1 года и более), повышенной твердостью и износостойкостью [1–6]. Они выдерживают воздействие разбавленных растворов H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и HCl, стойки в концентрированной азотной кислоте, сухом воздухе до 320 °C, сухом хлоре, оксидах азота, сернистых соединениях, не восприимчивы к солевым средам (в частности, к растворам NaCl), не корродируют при 100 % влажности. Коррозионная устойчивость гальванического сплава обусловлена как его фазовым составом (при совместном восстановлении никеля и олова формируются интерметаллиды), так и мелкозернистой плотноупакованной структурой, что затрудняет проникновение агрессивной среды в глубь покрытия и его разрушение.

Для электрохимического осаждения покрытий Ni – Sn с наиболее востребованными свойствами традиционно используют водные хлоридно-фторидные [1–3; 7–9] и дифосфатные [1; 4; 9–12] электролиты. Стоит отметить возросший в последнее десятилетие интерес к процессам электрохимического осаждения металлов и сплавов из неводных растворов. Такие электролиты, в отличие от водных, более стабильны, в них подавлены процессы гидролиза солей металлов, сведено к минимуму восстановление на катоде водорода, которое обычно вызывает гидролиз вследствие подщелачивания прикатодной области и ухудшает защитные свойства покрытий. Помимо этого, неводные растворители часто образуют комплексные соединения с ионами металлов, что не только стабилизирует растворы, но и позволяет управлять электродными потенциалами металлов и скоростью процесса осаждения. Предложено осажждать сплав Ni – Sn из неводных электролитов на основе холинхлорида в смеси с этиленгликолем (ЭГ) [5; 13].

Ранее нами были предложены модифицированный по составу хлоридно-фторидный [14] и прежде неизвестный неводный этиленгликолевый [15] электролиты и условия электроосаждения мелкозернистых, плотных, ненапряженных покрытий Ni – Sn с содержанием олова 60–65 мас. % и высоким выходом по току (более 90 %). Однако изучение таких важных свойств покрытий, как внутренние напряжения (ВН) и коррозионная устойчивость, не проводилось.

Цель данного исследования заключалась в изучении влияния состава электролита и условий осаждения покрытий сплавом Ni – Sn на ВН в покрытиях и их коррозионную устойчивость, а также в выявлении факторов, способствующих снижению величины ВН в покрытиях и повышению их коррозионной устойчивости.

### Материалы и методы исследования

Для электрохимического осаждения сплава Ni – Sn в настоящей работе были испытаны водные слабокислые хлоридно-фторидные электролиты составов № 1–3, указанных в табл. 1. Их выбор обусловлен относительной стабильностью электролитов по отношению к процессам гидролиза и окисления соединений Sn(II), возможностью осаждения коррозионно-стойких покрытий на основе интерметаллических соединений. По сравнению с литературными рекомендациями [1–3; 7–9] авторы модифицировали состав растворов № 1–3 варьированием концентрации хлоридов металлов, введением добавок фторидов натрия или аммония и поверхностно-активного вещества ОС-20 [14].

Таблица 1

Составы электролитов и условия электроосаждения сплава Ni – Sn

Table 1

Electrolytes compositions and conditions for Ni – Sn alloys electrodeposition

| Компоненты (моль/дм <sup>3</sup> )<br>и условия                 | Номер раствора (растворитель) |                      |                       |        |        |
|-----------------------------------------------------------------|-------------------------------|----------------------|-----------------------|--------|--------|
|                                                                 | 1 (H <sub>2</sub> O)          | 2 (H <sub>2</sub> O) | 3 (H <sub>2</sub> O)  | 4 (ЭГ) | 5 (ЭГ) |
| NiCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O                           | 0,42                          | 0,42                 | 0,42                  | 0,84   | 0,84   |
| SnCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O                           | 0,09                          | 0,09                 | 0,09                  | 0,18   | 0,18   |
| NaF                                                             | 0,71                          | –                    | 0,71                  | –      | –      |
| NH <sub>4</sub> F                                               | –                             | 0,71                 | –                     | –      | –      |
| OC-20                                                           | –                             | –                    | 0,5 г/дм <sup>3</sup> | –      | –      |
| HCl                                                             | –                             | –                    | –                     | 0,04   | –      |
| C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> · H <sub>2</sub> O | –                             | –                    | –                     | –      | 0,35   |
| pH                                                              | 4,0 ± 0,2                     |                      |                       | –      | –      |
| Температура, °C                                                 | 60 ± 2                        |                      |                       | 85 ± 2 |        |
| Плотность тока, А/дм <sup>2</sup>                               | 0,5–1,0                       |                      |                       |        |        |

Неводные этиленгликолевые электролиты для осаждения сплава Ni – Sn, содержащие кристаллогидраты хлоридов металлов, а также соляную кислоту (№ 4) или моногидрат лимонной кислоты (№ 5), были разработаны в целях подавления процессов гидролиза соединений олова(II), катодного восстановления водорода и исключения экологически небезопасных и токсичных фторид-ионов [15].

Для определения ВН в покрытиях использовали метод гибкого катода. Гибким катодом служил полиимид марки *Kapton® HPP-ST (DuPont™)* толщиной 50 мкм с нанесенным на одну его сторону никелевым покрытием толщиной 100 нм. Никель осаждали методом химического восстановления гипофосфитом из слабокислого ацетатного раствора по методике, описанной в работе [16]. Из металлизированного полиимида вырезали полоски размером 6 × 1 см. Полоски погружали в электролит параллельно никелевому аноду на глубину 4,5 см. На никелированный полиимид осаждали покрытия Ni – Sn толщиной 1; 5 и 10 мкм. Образцы промывали в дистиллированной воде, высушивали, отрезали часть полоски с нанесенным никель-оловянным покрытием и выдерживали сутки до измерения ВН. Стрелу прогиба образцов, помещенных на стеклянную пластину, измеряли, используя окуляр с миллиметровой шкалой. Погрешность измерения составляла ±0,1 мм.

При оценке величины ВН в единицах давления ( $\sigma$ ) использовали приближенную формулу Стони для случая, когда толщина покрытия значительно меньше толщины подложки [17]:

$$\sigma = \frac{4}{3} \left( \frac{E_{\text{подл}}}{1 - \nu_{\text{подл}}} \right) \left( \frac{d_{\text{подл}}^2}{d_{\text{пл}} l_{\text{подл}}^2} \right) z,$$

где  $E_{\text{подл}}$  – модуль упругости (модуль Юнга) подложки;  $\nu_{\text{подл}}$  – коэффициент Пуассона подложки;  $d_{\text{подл}}$  – толщина подложки (пленка полиимида плюс пленка Ni – P суммарной толщиной 50,1 мкм);  $d_{\text{пл}}$  – толщина осажденного покрытия Ni – Sn;  $l_{\text{подл}}$  – длина подложки;  $z$  – стрела прогиба.

Множитель  $\frac{E_{\text{подл}}}{1 - \nu_{\text{подл}}}$  был выбран равным  $2 \cdot 10^{11}$  Па исходя из следующих соображений. Известно, что этот множитель для химически осажденных покрытий Ni – P примерно равен  $2 \cdot 10^{11}$  Па [18]. Эта величина почти в 50 раз превышает соответствующий множитель для полиимида. Следовательно, наибольший вклад в упругие свойства двухслойной подложки под покрытием Ni – Sn вносит именно слой химически осажденного никеля. Отметим, что из-за ряда допущений полученные значения  $\sigma$  позволяют лишь на полуколичественном уровне сопоставить зависимость ВН от состава электролита, плотности тока, состава и толщины получаемых покрытий.

Морфологию поверхности осажденных пленок изучали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с использованием микроскопа LEO-1420 (*Carl Zeiss*, Германия). Содержание металлов в сплавах определяли методом энергодисперсионного рентгеновского микроанализа (*energy-dispersive X-ray spectroscopy*, EDX) с помощью приставки Rontec к сканирующему электронному микроскопу LEO-1420.

Фазовый состав покрытий изучали с помощью рентгеновского дифрактометра ДРОН-3.0 (ИЦ «Буревестник», Россия), используя  $\text{CoK}_\alpha$ -излучение ( $\lambda = 1,78897 \text{ \AA}$ ). Скорость записи рентгенограмм составляла 0,1 град/мин. Расшифровку рентгенограмм проводили с помощью картотеки базы ICDD PDF-2.

Коррозионную устойчивость покрытий изучали в 3,5 % растворе NaCl методом вольтамперометрии. Электрохимические исследования проводили при комнатной температуре в трехэлектродной ячейке, включающей рабочий электрод, насыщенный хлорсеребряный электрод сравнения и платиновый вспомогательный электрод. Запись поляризационных кривых осуществляли с помощью потенциостата – гальваностата Autolab PGSTAT204 (*Metrohm*, Нидерланды) и программного обеспечения *Nova* (версия 2.1). Скорость развертки потенциала составляла 0,5 мВ/с. Рабочим электродом служили осажденные на медную фольгу (50 мкм, 99,9 % Cu) покрытия Ni – Sn толщиной 5 мкм. Для сравнительной оценки коррозионной устойчивости записывали поляризационные кривые никелевого электрода, представляющего собой слой никеля толщиной 5 мкм, электрохимически осажденного из электролита Уоттса на медную фольгу [6].

## Результаты и их обсуждение

**Состав и структура покрытий Ni – Sn.** По данным рентгенофазового анализа покрытия, осажденные из водных и неводных электролитов № 1, 2, 4 и 5, содержат фазу интерметаллидов либо  $\text{Ni}_3\text{Sn}_2$ , либо  $\text{Ni}_3\text{Sn}_4$  и согласно результатам EDX включают от 36 до 50 мас. % никеля (табл. 2). Судя по уширенным рефлексам на рентгенограммах, эти интерметаллиды являются нестехиометрическими соединениями и содержат избыток олова [14; 15]. Исключение составляют покрытия, полученные из водного электролита № 3 – аналога раствора № 2, содержащего добавку ОС-20. В таком сплаве доминирует олово (99,6 мас. %) в составе фазы  $\beta$ -Sn. Покрытия из водного (№ 1) и этиленгликолевого (№ 5) электролитов очень близки по фазовому и элементному составу.

Данные СЭМ исследования свидетельствуют, что покрытия, осажденные из водных электролитов № 1 и 2 (рис. 1, а – д) и ЭГ электролитов № 4 и 5 (рис. 2), состоят из плотноупакованных округлых зерен интерметаллических соединений с размерами в пределах от 0,2 до 6,0 мкм.

Для покрытий, осажденных из электролитов № 1 и 4, с ростом толщины от 1 до 5 мкм характерно увеличение размеров частиц в указанных пределах, в то время как в случае осаждения сплава из электролитов № 2, № 3 (см. рис. 1, з – з) и № 5 (см. рис. 2, в – д) размеры основной массы частиц не зависят от толщины покрытий.

Таблица 2

Влияние состава электролита на структуру и фазовый состав покрытий Ni – Sn, осаждаемых при плотности тока 0,5 А/дм<sup>2</sup>

Table 2

Effect of electrolyte composition on the structure and phase composition of Ni – Sn coatings deposited at the current density 0.5 A/dm<sup>2</sup>

| Номер раствора | Толщина покрытия, мкм | Элементный состав, мас. % | Преобладающая кристаллическая фаза | Пределы размеров частиц в покрытии (преобладающий размер), мкм | Особенности морфологии поверхности                                              |
|----------------|-----------------------|---------------------------|------------------------------------|----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| 1              | 1                     | Sn – 64<br>Ni – 36        | Ni <sub>3</sub> Sn <sub>2</sub>    | 0,4–2,8 (2,0)                                                  | –                                                                               |
|                | 5                     |                           |                                    | 1,0–6,0 (3,0)                                                  | Малочисленные плоские агломераты зерен размером до 17 мкм                       |
|                | 10                    |                           |                                    | 2,0–6,0 (3,0)                                                  | Малочисленные плоские агломераты зерен размером до 17 мкм                       |
| 2              | 1                     | Sn – 64<br>Ni – 36        | Ni <sub>3</sub> Sn <sub>4</sub>    | 0,2–3,0 (2,0)                                                  | –                                                                               |
|                | 5                     |                           |                                    | 0,2–3,0 (2,0)                                                  | Крупные зерна и их агломераты размером до 15 мкм образуют сетчатую надструктуру |
| 3              | 1                     | Sn – 99,6<br>Ni – 0,4     | β-Sn                               | 0,7–4,5 (2,3)                                                  | Структура неизменна с ростом толщины покрытий                                   |
|                | 5                     |                           |                                    | 0,5–4,5 (2,3)                                                  |                                                                                 |
|                | 10                    |                           |                                    | 0,5–5,0 (3,0)                                                  |                                                                                 |
| 4              | 1                     | Sn – 50<br>Ni – 50        | Ni <sub>3</sub> Sn <sub>2</sub>    | 0,3–1,8 (0,8)                                                  | –                                                                               |
|                | 5                     |                           |                                    | 0,3–4,0 (2,0)                                                  | Объемные зерна размером 15–17 мкм в количестве 5 зерен на 100 мкм <sup>2</sup>  |
| 5              | 1                     | Sn – 60<br>Ni – 40        | Ni <sub>3</sub> Sn <sub>2</sub>    | 0,3–3,0 (2,0)                                                  | Малочисленные плоские агломераты зерен размером до 8 мкм                        |
|                | 5                     |                           |                                    | 0,3–3,5 (2,0)                                                  | Малочисленные плоские агломераты зерен размером до 12 мкм                       |
|                | 10                    |                           |                                    | 0,4–3,5 (2,0)                                                  | Малочисленные плоские агломераты зерен размером до 17 мкм                       |

В покрытиях, осажденных из электролита № 1, при их толщине 5 мкм и более имеется малочисленная фракция плоских агломератов зерен размером до 12–17 мкм, а также в них отчетливо заметны поры (см. рис. 1, б и в).

Структура покрытий, осажденных из электролита № 3 и включающих в основном фазу олова, довольно сильно отличается (см. рис. 1, е – з). Покрытия состоят из более крупных пластинчатых кристаллов неправильной формы, сростающихся и наслаивающихся друг на друга. Фракция частиц с размерами менее 0,5 мкм отсутствует. Структура практически не меняется с ростом толщины покрытий.

Покрытия, осажденные из электролита № 2 в присутствии добавки фторида аммония (см. рис. 1, г и д), имеют свои характерные особенности, заключающиеся в том, что наиболее крупные частицы образуют «гирлянды», формирующие своеобразную сетчатую надструктуру, ярко выраженную уже при толщине 5 мкм. Необходимо отметить, что в покрытиях имеются многочисленные трещины.

В свою очередь, покрытия, осажденные из ЭГ электролита № 5 (см. рис. 2, в и з), отличаются от остальных тем, что с ростом толщины их структура практически не изменяется. При толщине 5–10 мкм они имеют плотную мелкозернистую структуру. Средние размеры зерен составляют около 2 мкм. В них отсутствуют трещины и поры.

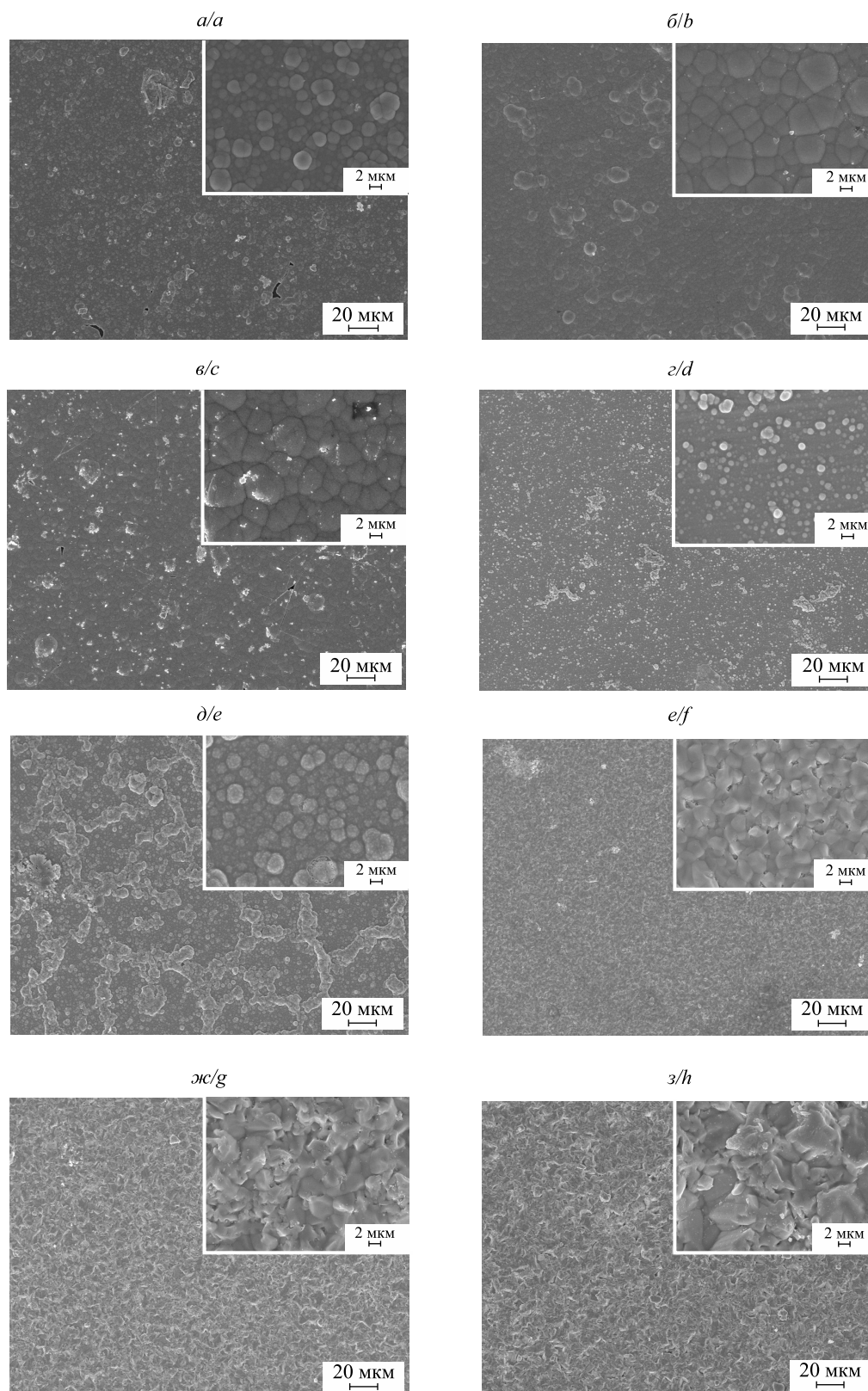


Рис. 1. СЭМ-фотографии поверхности покрытий Ni – Sn толщиной 1 мкм (а, з, е), 5 мкм (б, д, ж) и 10 мкм (в, з), осаждаемых из хлоридно-фторидных электролитов № 1 (а – в), № 2 (з, д) и № 3 (е – з) при плотности тока 0,5 А/дм<sup>2</sup>

Fig. 1. SEM images of the surface of Ni – Sn coatings with the thickness of 1 μm (а, d, f), 5 μm (b, e, g) and 10 μm (c, h) deposited from chloride-fluoride electrolytes No. 1 (а – c), No. 2 (d, e) and No. 3 (f – h) at the current density 0.5 A/dm<sup>2</sup>

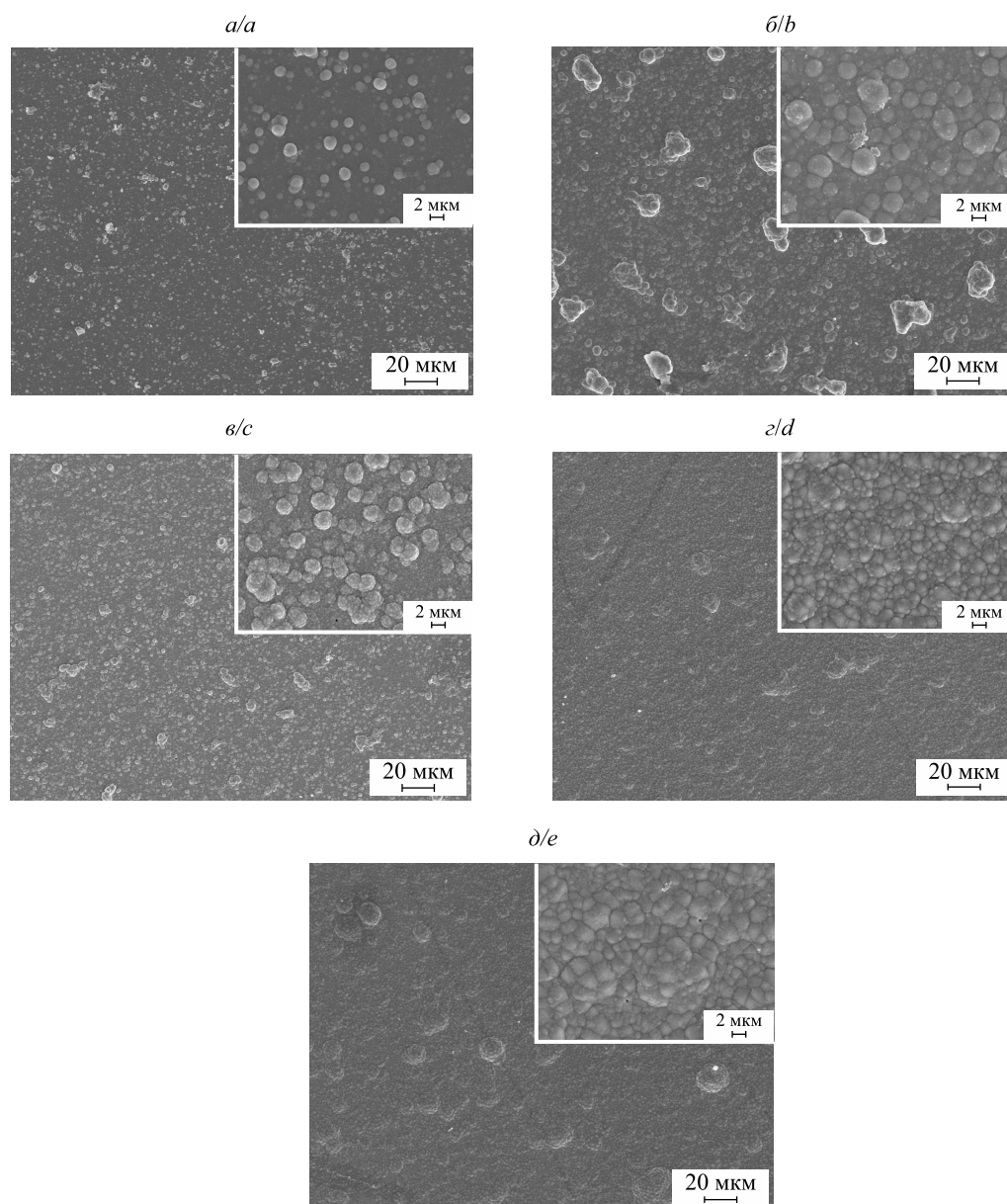


Рис. 2. СЭМ-фотографии поверхности покрытий Ni – Sn толщиной 1 мкм (а, в), 5 мкм (б, г) и 10 мкм (д), осаждаемых из ЭГ электролитов № 4 (а, б) и № 5 (в – д) при плотности тока 0,5 А/дм<sup>2</sup>

Fig. 2. SEM images of the surface of Ni – Sn coatings with the thickness of 1  $\mu\text{m}$  (a, c), 5  $\mu\text{m}$  (b, d) and 10  $\mu\text{m}$  (e) deposited from ethylene glycol electrolytes No. 4 (a, b) and No. 5 (c – e) at the current density 0.5 A/dm<sup>2</sup>

Из электролита № 4 осаждаются покрытия, характеризующиеся большим разбросом зерен по размерам и наличием значительного количества крупных объемных зерен (см. рис. 2, б, и табл. 2).

**Внутренние напряжения в покрытиях.** Экспериментальные данные, приведенные в табл. 3, свидетельствуют, что наибольшие ВН характерны для покрытий Ni – Sn, осаждаемых из водного хлоридно-фторидного электролита № 2 с добавкой фторида аммония.

Это согласуется с известными данными об осаждении покрытий с более высокими напряжениями при введении в электролит добавки  $\text{NH}_4\text{F}$  вместо  $\text{NaF}$  [19]. Результаты СЭМ-исследования позволяют отчасти объяснить высокие ВН особенностями изменения структуры покрытий по мере их роста, в процессе которого происходит частичная рекристаллизация с образованием надструктуры из сетки крупных зерен, что не характерно для покрытий, получаемых из других исследованных электролитов. Изменения структуры покрытий в процессе роста являются одной из основных причин появления ВН [6]. Кроме того, сопоставление результатов рентгенофлуоресцентного анализа (РФА) и СЭМ-исследований о фазовом и элементном составе покрытий, включающих фазу нестехиометрического интерметаллида  $\text{Ni}_3\text{Sn}_4$

с большим избытком олова (см. табл. 2), также указывает на возможные причины искажения кристаллической решетки. Это подтверждается уширением рефлексов фазы интерметаллида на рентгенограммах покрытий, полученных из электролита № 2.

Таблица 3

Влияние состава электролита и плотности тока  
на величину ВН  $\sigma$  ( $\times 10^8$  Па) в покрытиях Ni – Sn

Table 3

Effect of electrolyte composition and current density on the value  
of internal stresses  $\sigma$  ( $\times 10^8$  Pa) in Ni – Sn coatings

| Плотность тока,<br>А/дм <sup>2</sup> | Толщина покрытия,<br>мкм | Номер электролита |       |      |       |      |
|--------------------------------------|--------------------------|-------------------|-------|------|-------|------|
|                                      |                          | 1                 | 2     | 3    | 4     | 5    |
| 0,5                                  | 1                        | +18,2             | +41,6 | +5,0 | –20,8 | +1,3 |
|                                      | 5                        | +3,2              | +10,5 | +1,3 | ***   | +1,3 |
|                                      | 10                       | +0,8*             | **    | +0,3 | ***   | –2,7 |
| 1,0                                  | 1                        | +24,1             | **    | +2,0 | –27,4 | +1,3 |
|                                      | 5                        | +4,0              | **    | +0,5 | ***   | –2,2 |
|                                      | 10                       | +1,9*             | **    | +0,9 | ***   | –2,5 |

Примечание. \* – наблюдается незначительное отслоение покрытия от краев подложки; \*\* – покрытие сильно растрескивается и отслаивается от подложки; \*\*\* – подложка закручивается в спираль с небольшим отслоением покрытия.

Покрyтия, осаждаемые из электролита № 3 с добавкой ОС-20, имеют очень малые ВН в связи с тем, что они более чем на 99 % состоят из олова, а не из интерметаллидов в отличие от других покрытий.

Малые ВН характерны для покрытий, осаждаемых из ЭГ электролита № 5, что выгодно отличает их от всех других покрытий на основе интерметаллидов. По данным СЭМ структура этих покрытий практически не меняется по мере их роста, а отклонения от стехиометрического состава фазы Ni<sub>3</sub>Sn<sub>2</sub>, судя по соотношению данных EDX и РФА, крайне невелики.

Отметим, что в ряде случаев ВН уменьшаются при увеличении толщины покрытий от 1 до 5 мкм, а с дальнейшим ростом толщины ВН перестают изменяться. Объяснить снижение ВН при росте толщины покрытий можно тем, что первичный слой сплава осаждается на подложку из никеля, после формирования которого дальнейшее образование, рост зародышей и их рекристаллизация протекают на поверхности ранее сформировавшегося сплава и характеризуются иными закономерностями.

При повышении плотности тока от 0,5 до 1,0 А/дм<sup>2</sup> ВН в покрытиях на основе интерметаллидов, которые осаждаются из электролитов № 1, 2, 4 и 5, возрастают примерно на 30 % (см. табл. 3). Это заметно в случае покрытий толщиной 5 мкм (особенно востребованы в технике). Данный факт позволяет рекомендовать плотность тока 0,5 А/дм<sup>2</sup> как оптимальную.

Необходимо отметить, что из водных электролитов осаждаются покрытия с ВН растяжения (знак «плюс»), а в случае гликолевых электролитов более характерны ВН сжатия (знак «минус»). Возможно, причины различия кроются в особенностях процессов рекристаллизации по мере увеличения толщины покрытий. Внутренние напряжения сжатия характерны для процессов уплотнения покрытий по мере их роста в результате частичного срастания зерен в агломераты, что характерно для покрытий, осаждаемых из электролитов № 4 и 5 (см. табл. 2 и рис. 2).

**Коррозионная устойчивость покрытий.** Методом вольтамперометрии изучали коррозионную устойчивость в растворе хлорида натрия покрытий Ni – Sn, осажденных из хлоридно-фторидного электролита № 1 и ЭГ электролита № 5 при оптимальной плотности тока 0,5 А/дм<sup>2</sup>. Выбор обусловлен тем, что именно из этих растворов в указанных условиях образуются плотные мелкозернистые покрытия на основе интерметаллидов с наиболее востребованным элементным и фазовым составом и наименьшими ВН.

На рис. 3 представлены поляризационные кривые, иллюстрирующие поведение в растворе NaCl электродов из никеля и сплавов Ni – Sn толщиной 5 мкм, а в табл. 4 указаны коррозионные потенциалы и логарифмы плотности тока коррозии.

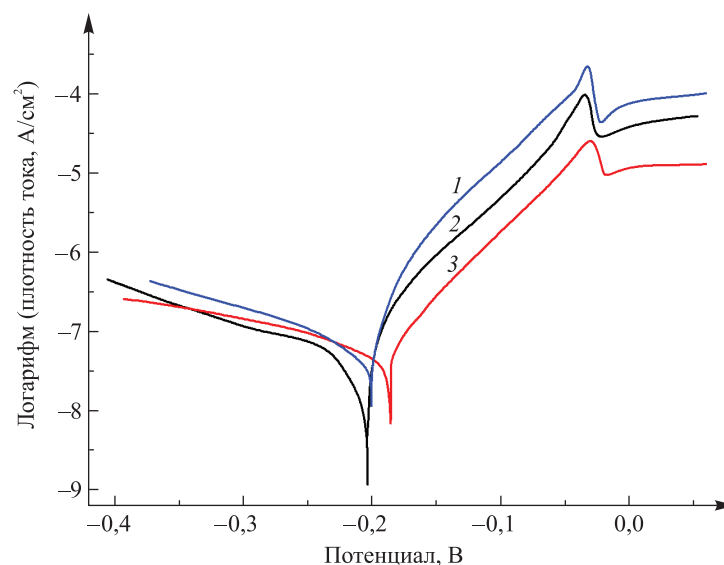


Рис. 3. Потенциодинамические поляризационные кривые, полученные в 3,5 % растворе NaCl для никеля (1) и сплавов Ni – Sn, осажденных при плотности тока 0,5 А/дм<sup>2</sup> из хлоридно-фторидного электролита № 1 (2) и ЭГ электролита № 5 (3)

Fig. 3. Potentiodynamic polarisation curves obtained in 3.5 % NaCl for nickel (1) and Ni – Sn alloys deposited at the current density 0.5 A/dm<sup>2</sup> from chloride-fluoride electrolyte No. 1 (2) and ethylene glycol electrolyte No. 5 (3)

Данные свидетельствуют о том, что потенциалы коррозии никеля и сплава Ni – Sn, осажденного из водного хлоридно-фторидного раствора, примерно одинаковы, а в случае сплава, осажденного из цитратно-гликолевого электролита № 5, потенциал коррозии смещен в область более положительных значений.

Таблица 4

Потенциал и логарифм плотности тока коррозии никеля и электроосажденных покрытий Ni – Sn толщиной 5 мкм

Table 4

Corrosion potential and logarithm modulus of corrosion current density of nickel and electrodeposited Ni – Sn coatings with thickness of 5 μm

| Покрытие                             | Потенциал коррозии, В | Логарифм модуля плотности тока коррозии |
|--------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------------|
| Ni (осажден из электролита Уоттса)   | –0,200                | –7,53                                   |
| Ni – Sn (осажден из электролита № 1) | –0,203                | –7,71                                   |
| Ni – Sn (осажден из электролита № 5) | –0,186                | –7,50                                   |

Для покрытий из электролита № 5 характерен наименьший ток коррозии. Вид поляризационных кривых при развертке потенциала в область положительных значений также указывает на повышенную коррозионную устойчивость покрытий Ni – Sn, осажденных из электролита № 5, поскольку именно в этом случае наблюдается наиболее низкая плотность анодных токов.

Полученные данные свидетельствуют, что повышению коррозионной устойчивости гальванического сплава Ni – Sn способствуют мелкозернистая плотная структура в отсутствие пор и трещин, не изменяющаяся по мере роста толщины покрытий, доминирование в сплаве интерметаллида Ni<sub>3</sub>Sn<sub>2</sub> состава, близкого к стехиометрическому, минимальные ВН в покрытиях. В наибольшей мере эти характеристики обеспечиваются при осаждении покрытий из ЭГ электролита № 5.

## Заключение

Сопоставлены состав, структура, ВН и коррозионная устойчивость покрытий Ni – Sn, электрохимически осаждаемых из водных хлоридно-фторидных электролитов и разработанного авторами настоящей статьи ЭГ цитратного раствора. Показано, что в отсутствие добавок поверхностно-активных веществ при температуре 60–85 °С и плотности тока 0,5 А/дм<sup>2</sup> как из водных, так и из ЭГ электролитов осаждаются покрытия на основе интерметаллидов Ni<sub>3</sub>Sn<sub>2</sub> или Ni<sub>3</sub>Sn<sub>4</sub> нестехиометрического состава с содержанием никеля в пределах 36–50 мас. %. Введение добавки ОС-20 в качестве поверхностно-активного вещества приводит к резкому снижению доли никеля в покрытиях.

Покрытия на основе интерметаллидов состоят из плотноупакованных округлых зерен с размерами в пределах от 0,2 до 6,0 мкм. С ростом толщины от 1 до 5 мкм в случае водного хлоридно-фторидного раствора с добавкой фторида натрия (№ 1) и в случае ЭГ раствора с добавкой соляной кислоты (№ 4) вместо лимонной кислоты размеры зерен увеличиваются.

Покрытия из ЭГ цитратного электролита (№ 5) наиболее мелкозернистые, плотные, их структура почти не меняется с ростом толщины (в пределах 1–10 мкм). Они характеризуются наименьшими ВН. Наиболее велики ВН при осаждении из водных электролитов с добавкой фторида аммония и при осаждении из ЭГ электролита с добавкой соляной кислоты. Выявлено, что малые ВН характерны для покрытий, структура которых по мере их роста не изменяется, а отклонения от стехиометрии у интерметаллидов минимальны. Несоблюдение этих условий является причиной высоких ВН в покрытиях, осажденных из водного хлоридно-фторидного электролита с добавкой фторида аммония и из ЭГ электролита с добавкой соляной кислоты.

Полученные данные свидетельствуют о том, что повышению коррозионной устойчивости гальванического сплава Ni – Sn способствуют мелкозернистая плотная структура, не изменяющаяся по мере роста толщины покрытий, отсутствие пор и трещин, доминирование в сплаве интерметаллида Ni<sub>3</sub>Sn<sub>2</sub> с составом, близким к стехиометрическому, минимальные ВН в покрытиях. В наибольшей мере эти характеристики обеспечиваются при осаждении покрытий из ЭГ электролита № 5.

## Библиографические ссылки

1. Kuznetsov BV, Vorobyova TN, Glibin VP. A comparative study of tin – nickel alloys obtained by electroplating and casting. *Metal Finishing*. 2013;111(3):38–41. DOI: 10.1016/S0026-0576(13)70233-2.
2. Refaey SAM, Taha F, Hasanin THA. Passivation and pitting corrosion of nanostructured Sn – Ni alloy in NaCl solutions. *Electrochimica Acta*. 2006;51(14):2942–2948. DOI: 10.1016/j.electacta.2005.09.033.
3. Subramanian B, Mohan S, Jayakrishnan S. Selective area deposition of tin – nickel alloy coating – an alternative for decorative chromium plating. *Journal of Applied Electrochemistry*. 2007;37(2):219–224. DOI: 10.1007/s10800-006-9236-6.
4. Wan C, Zhang L, Liu X. Corrosion assessment of Sn – Ni alloy coatings using neutral salt spray tests and electrochemical methods. *International Journal of Electrochemical Science*. 2020;15(1):26–38. DOI: 10.20964/2020.01.20.
5. Anicai L, Petica A, Costovici S, Prioteasa P, Visan T. Electrodeposition of Sn and NiSn alloys coatings using choline chloride based ionic liquids – evaluation of corrosion behavior. *Electrochimica Acta*. 2013;114:868–877. DOI: 10.1016/j.electacta.2013.08.043.
6. Gamburg YD, Zangari G. *Theory and practice of metal electrodeposition*. New York: Springer; 2011. 378 p. DOI: 10.1007/978-1-4419-9669-5.
7. Georgiou EP, Van der Donck T, Celis J-P. Electrodeposition and structural characteristics of intermetallic nickel – tin based coatings. *Transactions of the IMF*. 2017;95(6):301–307. DOI: 10.1080/00202967.2017.1352125.
8. Spiridonov BA, Berezina NN. Electroplating and structure of tin – nickel coatings. *Protection of Metals*. 2004;40(1):85–88. DOI: 10.1023/B:PROM.0000013118.11144.97.
9. Jiménez H, Gil L, Staia MH, Puchi-Cabrera ES. Effect of deposition parameters on adhesion, hardness and wear resistance of Sn – Ni electrolytic coatings. *Surface and Coatings Technology*. 2008;202(10):2072–2079. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2007.08.071.
10. Lačnjevac U, Jović BM, Jović VD. Electrodeposition of Ni, Sn and Ni – Sn alloy coatings from pyro-phosphate-glycine bath. *Journal of the Electrochemical Society*. 2012;159(5):D310–D318. DOI: 10.1149/2.042205JES.
11. Shetty S, Hegde AC. Electrodeposition of Sn – Ni alloy coatings for water-splitting application from alkaline medium. *Metalurgical and Materials Transactions B*. 2017;48(1):632–641. DOI: 10.1007/s11663-016-0784-9.
12. Zhu Y, Zhang X, Song J, Wang W, Yue F, Ma Q. Microstructure and hydrogen evolution catalytic properties of Ni – Sn alloys prepared by electrodeposition method. *Applied Catalysis A: General*. 2015;500:51–57. DOI: 10.1016/j.apcata.2015.05.005.
13. Rosoiu SP, Pantazi AG, Petica A, Cojocaru A, Costovici S, Zanella C, et al. Comparative study of Ni – Sn alloys electrodeposited from choline chloride based ionic liquids in direct and pulsed current. *Coatings*. 2019;9(12):801. DOI: 10.3390/coatings9120801.
14. Воробьева ТН, Кудак АА. Зависимость состава, микроструктуры и свойств электрохимических покрытий Ni – Sn от условий осаждения из фторидно-хлоридного электролита. *Журнал Белорусского государственного университета. Химия*. 2017;2:28–35.
15. Vorobyova TN, Kudaka AA. Electrodeposition of Ni – Sn alloy from ethylene glycol electrolyte. Part 1. Cathodic reactions. *Transactions of the IMF*. 2022;100(1):36–42. DOI: 10.1080/00202967.2021.2005861.
16. Vorobyova TN. Adhesion interaction between electrolessly deposited copper film and polyimide. *Journal of Adhesion Science and Technology*. 1997;11(2):167–182. DOI: 10.1163/156856197X00282.

17. Pauleau Y. *Materials surface processing by direct energy techniques*. Amsterdam: Elsevier Science; 2006. 744 p. DOI: 10.1016/B978-0-08-044496-3.X5000-X.
18. Хасс Г, Тун РЭ, редакторы. *Физика тонких пленок. Современное состояние исследований и технические применения. Том 3*. Москва: Мир; 1968. 331 с.
19. Cuthbertson JW, Parkinson N, Rooksby HP. Electrodeposition of tin – nickel alloy plate from chloride-fluoride electrolytes. *Journal of the Electrochemical Society*. 1953;100(3):107–119. DOI: 10.1149/1.2781091.

## References

1. Kuznetsov BV, Vorobyova TN, Glibin VP. A comparative study of tin – nickel alloys obtained by electroplating and casting. *Metal Finishing*. 2013;111(3):38–41. DOI: 10.1016/S0026-0576(13)70233-2.
2. Refaey SAM, Taha F, Hasanin THA. Passivation and pitting corrosion of nanostructured Sn – Ni alloy in NaCl solutions. *Electrochimica Acta*. 2006;51(14):2942–2948. DOI: 10.1016/j.electacta.2005.09.033.
3. Subramanian B, Mohan S, Jayakrishnan S. Selective area deposition of tin – nickel alloy coating – an alternative for decorative chromium plating. *Journal of Applied Electrochemistry*. 2007;37(2):219–224. DOI: 10.1007/s10800-006-9236-6.
4. Wan C, Zhang L, Liu X. Corrosion assessment of Sn – Ni alloy coatings using neutral salt spray tests and electrochemical methods. *International Journal of Electrochemical Science*. 2020;15(1):26–38. DOI: 10.20964/2020.01.20.
5. Anicai L, Petica A, Costovici S, Prioteasa P, Visan T. Electrodeposition of Sn and NiSn alloys coatings using choline chloride based ionic liquids – evaluation of corrosion behavior. *Electrochimica Acta*. 2013;114:868–877. DOI: 10.1016/j.electacta.2013.08.043.
6. Gamburg YD, Zangari G. *Theory and practice of metal electrodeposition*. New York: Springer; 2011. 378 p. DOI: 10.1007/978-1-4419-9669-5.
7. Georgiou EP, Van der Donck T, Celis J-P. Electrodeposition and structural characteristics of intermetallic nickel – tin based coatings. *Transactions of the IMF*. 2017;95(6):301–307. DOI: 10.1080/00202967.2017.1352125.
8. Spiridonov BA, Berezina NN. Electroplating and structure of tin – nickel coatings. *Protection of Metals*. 2004;40(1):85–88. DOI: 10.1023/B:PROM.0000013118.11144.97.
9. Jiménez H, Gil L, Staia MH, Puchi-Cabrera ES. Effect of deposition parameters on adhesion, hardness and wear resistance of Sn – Ni electrolytic coatings. *Surface and Coatings Technology*. 2008;202(10):2072–2079. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2007.08.071.
10. Lačnjevac U, Jović BM, Jović VD. Electrodeposition of Ni, Sn and Ni – Sn alloy coatings from pyro-phosphate-glycine bath. *Journal of the Electrochemical Society*. 2012;159(5):D310–D318. DOI: 10.1149/2.042205JES.
11. Shetty S, Hegde AC. Electrodeposition of Sn – Ni alloy coatings for water-splitting application from alkaline medium. *Metalurgical and Materials Transactions B*. 2017;48(1):632–641. DOI: 10.1007/s11663-016-0784-9.
12. Zhu Y, Zhang X, Song J, Wang W, Yue F, Ma Q. Microstructure and hydrogen evolution catalytic properties of Ni – Sn alloys prepared by electrodeposition method. *Applied Catalysis A: General*. 2015;500:51–57. DOI: 10.1016/j.apcata.2015.05.005.
13. Rosoiu SP, Pantazi AG, Petica A, Cojocaru A, Costovici S, Zanella C, et al. Comparative study of Ni – Sn alloys electrodeposited from choline chloride based ionic liquids in direct and pulsed current. *Coatings*. 2019;9(12):801. DOI: 10.3390/coatings9120801.
14. Vorobyova TN, Kudaka AA. The dependence of composition, microstructure and properties of electroplated Ni – Sn coatings on conditions of deposition from fluoride-chloride electrolyte. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry*. 2017;2:28–35. Russian.
15. Vorobyova TN, Kudaka AA. Electrodeposition of Ni – Sn alloy from ethylene glycol electrolyte. Part 1. Cathodic reactions. *Transactions of the IMF*. 2022;100(1):36–42. DOI: 10.1080/00202967.2021.2005861.
16. Vorobyova TN. Adhesion interaction between electrolessly deposited copper film and polyimide. *Journal of Adhesion Science and Technology*. 1997;11(2):167–182. DOI: 10.1163/156856197X00282.
17. Pauleau Y. *Materials surface processing by direct energy techniques*. Amsterdam: Elsevier Science; 2006. 744 p. DOI: 10.1016/B978-0-08-044496-3.X5000-X.
18. Hass G, Thun RE, editors. *Physics of thin films. Advances in research and development. Volume 3*. New York: Academic Press; 1966. 342 p.
- Russian edition: Hass G, Thun RE, editors. *Fizika tonkikh plenok. Sovremennoe sostoyanie issledovaniy i tekhnicheskie primeneniya. Tom 3*. Moscow: Mir; 1968. 331 p.
19. Cuthbertson JW, Parkinson N, Rooksby HP. Electrodeposition of tin – nickel alloy plate from chloride-fluoride electrolytes. *Journal of the Electrochemical Society*. 1953;100(3):107–119. DOI: 10.1149/1.2781091.

Получена 19.12.2021 / исправлена 11.01.2021 / принята 10.02.2022.  
Received 19.12.2021 / revised 11.01.2021 / accepted 10.02.2022.

СИНТЕЗ И СТРОЕНИЕ КОМПЛЕКСНЫХ СОЕДИНЕНИЙ  
ТИОЦИАНАТА И НИТРАТА МЕДИ(II)  
С 1-*tert*-БУТИЛ-1H-1,2,4-ТРИАЗОЛОММ. М. ДЕГТЯРИК<sup>1)</sup>, А. С. ЛЯХОВ<sup>1)</sup>, И. М. ГРИГОРЬЕВА<sup>1)</sup>,  
Л. С. ИВАШКЕВИЧ<sup>1)</sup>, Ю. В. ГРИГОРЬЕВ<sup>1)</sup>, О. А. ИВАШКЕВИЧ<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Научно-исследовательский институт физико-химических проблем БГУ,  
ул. Ленинградская, 14, 220006. г. Минск, Беларусь

Методом прямого синтеза в результате взаимодействия металлической меди, соли аммония  $\text{NH}_4\text{X}$  ( $\text{X} = \text{NCS}$ ,  $\text{NO}_3$ ) и 1-*tert*-бутил-1H-1,2,4-триазола (L) получены комплексные соединения меди(II) –  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_3]$ ,  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{L}_4]$  и  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_4] \cdot \text{L}$ . Их состав и строение определены методами элементного анализа, рентгеноструктурного анализа монокристаллов и ИК-спектроскопии (область  $4000\text{--}500\text{ см}^{-1}$ ). Установлено, что все синтезированные комплексы имеют моноядерное строение. В них триазол выступает в качестве монодентатного лиганда, координированного атомом  $\text{N}^4$  гетероцикла. Анионы  $\text{NCS}^-$  и  $\text{NO}_3^-$  проявляют монодентатную N- и O-координацию соответственно. В комплексе  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_3]$  катион меди(II) имеет квадратно-пирамидальное окружение из атомов азота двух лигандов L и двух тиоцианат-анионов в базальных позициях и лиганда L в апикальном положении. В комплексах  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{L}_4]$  и  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_4] \cdot \text{L}$  катион меди(II) формирует октаэдрическое окружение из атомов азота лиганда L в экваториальных позициях и атомов O или N анионов в аксиальных позициях.

**Ключевые слова:** 1,2,4-триазолы; комплексные соединения; прямой синтез; рентгеноструктурный анализ; ИК-спектроскопия.

**Благодарность.** Исследования проводились в рамках государственной программы научных исследований Республики Беларусь «Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биоорганическая химия» (проект 2.1.01.01).

**Образец цитирования:**

Дегтярик ММ, Ляхов АС, Григорьева ИМ, Ивашкевич ЛС, Григорьев ЮВ, Ивашкевич ОА. Синтез и строение комплексных соединений тиоцианата и нитрата меди(II) с 1-*tert*-бутил-1H-1,2,4-триазолом. *Журнал Белорусского государственного университета. Химия*. 2022;1:83–95.  
<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2022-1-83-95>

**For citation:**

Degtyarik MM, Lyakhov AS, Grigorieva IM, Ivashkevich LS, Grigoriev YuV, Ivashkevich OA. Synthesis and structure of copper(II) thiocyanate and nitrate complexes with 1-*tert*-butyl-1H-1,2,4-triazole. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry*. 2022;1:83–95. Russian.  
<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2022-1-83-95>

**Авторы:**

**Михаил Михайлович Дегтярик** – кандидат химических наук; ведущий научный сотрудник лаборатории химии конденсированных сред.

**Александр Семенович Ляхов** – кандидат химических наук, доцент; ведущий научный сотрудник лаборатории химии конденсированных сред.

**Инна Михайловна Григорьева** – научный сотрудник лаборатории химии конденсированных сред.

**Людмила Сергеевна Ивашкевич** – кандидат химических наук, доцент; заведующий лабораторией физико-химических методов исследования.

**Юрий Викторович Григорьев** – кандидат химических наук, доцент; заведующий лабораторией химии конденсированных сред.

**Олег Анатольевич Ивашкевич** – академик НАН Беларуси, доктор химических наук, профессор; главный научный сотрудник лаборатории химии конденсированных сред.

**Authors:**

**Mikhail M. Degtyarik**, PhD (chemistry); leading researcher at the laboratory for chemistry of condensed systems.

[dmonijamm@mail.ru](mailto:dmonijamm@mail.ru)

**Alexander S. Lyakhov**, PhD (chemistry), docent; leading researcher at the laboratory for chemistry of condensed systems.  
[lyakov@bsu.by](mailto:lyakov@bsu.by)

**Inna M. Grigorieva**, researcher at the laboratory for chemistry of condensed systems.

**Ludmila S. Ivashkevich**, PhD (chemistry), docent; head of the laboratory of physico-chemical investigations.  
[iva@bsu.by](mailto:iva@bsu.by)

**Yuri V. Grigoriev**, PhD (chemistry), docent; head of the laboratory for chemistry of condensed systems.  
[azole@bsu.by](mailto:azole@bsu.by)

**Oleg A. Ivashkevich**, academician of the National Academy of Sciences of Belarus, doctor of science (chemistry), full professor; chief researcher at the laboratory for chemistry of condensed systems.  
[ivashkevicho@bsu.by](mailto:ivashkevicho@bsu.by)

## SYNTHESIS AND STRUCTURE OF COPPER(II) THIOCYANATE AND NITRATE COMPLEXES WITH 1-*tert*-BUTYL-1H-1,2,4-TRIAZOLE

M. M. DEGTYARIK<sup>a</sup>, A. S. LYAKHOV<sup>a</sup>, I. M. GRIGORIEVA<sup>a</sup>,  
L. S. IVASHKEVICH<sup>a</sup>, Yu. V. GRIGORIEV<sup>a</sup>, O. A. IVASHKEVICH<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Research Institute for Physical Chemical Problems, Belarusian State University,  
14 Leningradskaya Street, Minsk 220006, Belarus  
Corresponding author: M. M. Degtyarik (dmonijamm@mail.ru)

Complexes  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_3]$ ,  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{L}_4]$  and  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_4] \cdot \text{L}$  have been prepared by direct synthesis involving the interaction of metallic copper, ammonium salts  $\text{NH}_4\text{X}$  ( $\text{X} = \text{NCS}, \text{NO}_3$ ) and 1-*tert*-butyl-1H-1,2,4-triazole (L). Their composition and structure were determined by elemental analysis, single crystal X-ray analysis, and IR spectroscopy (range of 4000–500  $\text{cm}^{-1}$ ). All the complexes showed mononuclear structure. In them triazole acts as a monodentate ligand, being coordinated by the N<sup>4</sup> atom of the heterocycle. The  $\text{NCS}^-$  and  $\text{NO}_3^-$  anions display monodentate N- and O-coordination, accordingly. In  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_3]$ , copper(II) cation has square-pyramidal environment of nitrogen atoms of two ligands L and two thiocyanate anions in the basal sites, and one nitrogen atom of ligand L in the apical position. In complexes  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{L}_4]$  and  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_4] \cdot \text{L}$ , copper(II) cations are octahedrally surrounded by nitrogen atoms of ligand L in the equatorial sites and by O or N atoms of corresponding anions in the axial positions.

**Keywords:** 1,2,4-triazoles; coordination compounds; direct synthesis; single crystal X-ray diffraction; IR spectroscopy.

**Acknowledgements.** The research was carried out within the framework of the state program for scientific research of the Republic of Belarus «Chemical processes, reagents and technologies, bioregulators and bioorganic chemistry» (project 2.1.01.01).

### Введение

В последние десятилетия развитие координационной химии во многом связано с направленным конструированием молекулярных металлоорганических материалов. Целенаправленное сочетание в одной молекуле атомов металла и органических лигандов позволяет варьировать в широких пределах функциональные свойства комплексных соединений (КС) за счет изменения их состава и строения. При этом поиск способов управления их физическими характеристиками обуславливает использование новых типов лигандных систем, перспективными среди которых являются замещенные тетразолы и триазолы [1–11]. Наличие заместителей у атомов азота гетероцикла позволяет обеспечивать широкие возможности применения этих соединений для направленного дизайна моно- и гетерополиметаллических КС, обладающих широким спектром практически важных характеристик [1; 8–16].

Перспективным направлением в синтезе новых азолсодержащих КС считают прямой синтез, основанный на взаимодействии порошков металлов или их оксидов с замещенными азолами. Этот метод позволяет синтезировать из простых и доступных реагентов координационные соединения с необычной стехиометрией и структурой, которые не могут быть получены классическими методами [3; 5; 7; 14–16]. Несмотря на это, прямой синтез КС тетразолов и триазолов, отличающихся разнообразием типов координации и свойств [1–3; 10; 11; 17–21], пока недостаточно изучен.

Настоящее исследование является продолжением наших работ в области координационной химии переходных металлов с N-монозамещенными азолами [1–5; 20–22] и посвящено изучению строения КС, полученных методом прямого синтеза в результате взаимодействия металлической меди, соли аммония  $\text{NH}_4\text{X}$  ( $\text{X} = \text{NCS}, \text{NO}_3$ ) и 1-*т*-бутил-1H-1,2,4-триазола.

### Материалы и методы исследования

В синтезах использовали реагенты и растворители, имеющие квалификации не ниже «х. ч.» или дополнительно очищенные по общепринятым методикам [23]. Для синтеза КС применяли металлический порошок Cu ( $\geq 99,5\%$ ; размер частиц  $(5,7 \pm 0,8)$  мкм) и соли аммония  $\text{NH}_4\text{X}$  ( $\text{X} = \text{NO}_3^-, \text{NCS}^-$ ). Содержание металла в комплексах определяли методом комплексонометрического титрования трилоном Б с мурексидом в качестве индикатора после минерализации образцов в концентрированных серной и хлорной кислотах [24]. ИК-спектры (область 4000–500  $\text{cm}^{-1}$ ) записывали на спектрофотометре Thermo Avatar 330 (Nicolet, США). Рентгеновские дифракционные данные монокристаллов КС получены на дифрактометре Smart Apex II (Bruker AXS GmbH, Германия) с использованием излучения  $\text{MoK}_\alpha$  (графитовый монохроматор). Кристаллические структуры соединений решены прямыми методами с помощью программы SIR2014 [25] и уточнены полноматричным методом наименьших квадратов по  $F^2$  в программе SHELXL-2014 [26]. Молекулярная графика выполнена с использованием программного пакета PLATON [27].

**Синтез 1-*трет*-бутил-1*H*-1,2,4-триазола (L).** К раствору 16,0 г (0,23 моль) 1,2,4-триазола в 100 мл  $\text{HClO}_4$  (65 %) при перемешивании и охлаждении на ледяной бане добавляли 18,0 мл *трет*-бутилового спирта с такой скоростью, чтобы температура реакционной смеси не превышала 20 °С. Реакционную смесь перемешивали в течение 24 ч при комнатной температуре, затем добавляли 50 мл  $\text{H}_2\text{O}$  (дистиллированная) и раствором  $\text{NH}_4\text{OH}$  (25 %) доводили pH реакционной смеси до ~7. Неорганическую часть отделяли фильтрованием и целевой продукт экстрагировали из фильтрата хлористым метиленом (3 раза по 100 мл). Экстракт сушили над свежепрокаленным  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и фильтрат упаривали в вакууме. Получили 30 г (90 %) 1-*трет*-бутил-1*H*-1,2,4-триазола с температурой плавления 39–41 °С (41–42 °С [20]).

**Синтез  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_3]$ .** К перемешиваемому раствору 0,4 г (3,2 ммоль) 1-*трет*-бутил-1*H*-1,2,4-триазола в 3 мл толуола добавляли 0,02 г (0,32 ммоль) порошка металлической меди. Полученную смесь нагревали, не прекращая перемешивания, в течение 0,5 ч до 40 °С, после чего добавляли 0,049 г (0,64 ммоль) роданида аммония. Реакционную смесь перемешивали 0,5 ч без нагревания, затем температуру поднимали до 60–65 °С и перемешивали при этой температуре до полного растворения порошка металлической меди (1–2 ч). Полученный раствор темно-зеленого цвета охлаждали до комнатной температуры и фильтровали. Фильтрат оставляли медленно упариваться при комнатной температуре. Через 20–24 ч выдерживания раствора при комнатной температуре образовался кристаллический металлокомплекс зеленого цвета, который отделяли фильтрованием, промывали охлажденной до –18...–20 °С смесью этилового спирта и диэтилового эфира (1 : 3) и сушили на воздухе. Выход 79 % (0,14 г). Для  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_3]$  экспериментально найденное и теоретически вычисленное содержание меди(II) составило 11,3 и 11,5 % соответственно.

**Синтез  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{L}_4]$ .** К раствору 0,188 г (1,5 ммоль) 1-*трет*-бутил-1*H*-1,2,4-триазола в 10 мл этанола при перемешивании добавляли 0,048 г (0,75 ммоль) порошка металлической меди и 0,12 г (1,5 ммоль)  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . Реакционную смесь при интенсивном перемешивании нагревали до 60 °С и выдерживали при этой температуре до полного растворения  $\text{Cu}^0$  (~3 ч). Образовавшийся после охлаждения реакционной смеси мелкокристаллический металлокомплекс синего цвета отделяли фильтрованием, промывали диэтиловым эфиром (3 раза по 15 мл) и сушили на воздухе. Выход 67 % (0,35 г). Для  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{L}_4]$  экспериментально найденное и теоретически вычисленное содержание меди(II) составило 10,1 и 9,3 % соответственно.

**Синтез  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_4] \cdot \text{L}$ .** К раствору 0,39 г (3,1 ммоль) 1-*трет*-бутил-1*H*-1,2,4-триазола в 3 мл толуола добавляли 0,0198 г (0,31 ммоль) порошка металлической меди и 0,047 г (0,62 ммоль) роданида аммония и реакционную смесь перемешивали без нагревания в течение часа. Затем реакционную смесь нагревали до 30 °С и перемешивали при этой температуре до полного растворения порошка металлической меди (~3 ч). Полученный раствор темно-зеленого цвета охлаждали до комнатной температуры, фильтровали и фильтрат оставляли медленно упариваться при комнатной температуре. Приблизительно через 7 дней выдерживания раствора при комнатной температуре образовался кристаллический комплекс зеленого цвета. Комплекс отделяли фильтрованием, промывали охлажденной до –18...–20 °С смесью этилового спирта и диэтилового эфира (1 : 3) и сушили на воздухе. Выход 67 % (0,14 г). Для  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_4] \cdot \text{L}$  экспериментально найденное и теоретически вычисленное содержание меди(II) составило 8,3 и 7,9 % соответственно.

### Результаты и их обсуждение

Исходный 1-*трет*-бутил-1*H*-1,2,4-триазол с выходом 90 % был получен алкилированием 1,2,4-триазола *трет*-бутиловым спиртом в среде концентрированной хлорной кислоты. Схема синтеза представлена на рис. 1. Селективное протекание алкилирования по атому  $\text{N}^1$  гетероцикла может быть объяснено протонированием исходного 1,2,4-триазола с образованием катиона 4*H*-[1,2,4]триазолия, в котором только один атом азота доступен для электрофильной атаки *трет*-бутильным катионом, генерируемым в системе  $\text{BuOH} - \text{HClO}_4$ .

В 1990-х гг. появились первые публикации по синтезу КС путем взаимодействия порошков металлов или их оксидов с органическими лигандами в неводных средах (метод прямого синтеза) [17–20]. Важной особенностью этого метода является то, что реакции комплексообразования протекают в одну стадию и позволяют получать КС необычной стехиометрии и структуры [28]. Из многочисленных методов, представленных в сообщениях [17–20; 28], авторы настоящей работы для синтеза КС с 1-*трет*-бутил-1*H*-1,2,4-триазолом выбрали аммонийно-солевой метод – синтез комплексов с использованием солей аммония, схематически представленный на рис. 2. Необходимо отметить, что при синтезе КС меди(II) с 1-*трет*-бутил-1*H*-1,2,4-триазолом в качестве органического растворителя использовали этиловый спирт или толуол. Применение этих растворителей обусловлено тем, что в связи с невысокой основностью 1-*трет*-бутил-1*H*-1,2,4-триазола для синтеза его КС наиболее пригодны растворители с низкой координирующей способностью.

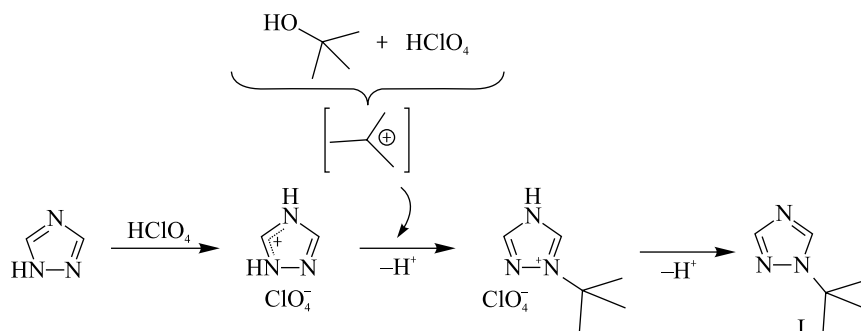


Рис. 1. Схема синтеза 1-*трет*-бутил-1*H*-1,2,4-триазола  
Fig. 1. Scheme of synthesis of 1-*tert*-butyl-1*H*-1,2,4-triazole

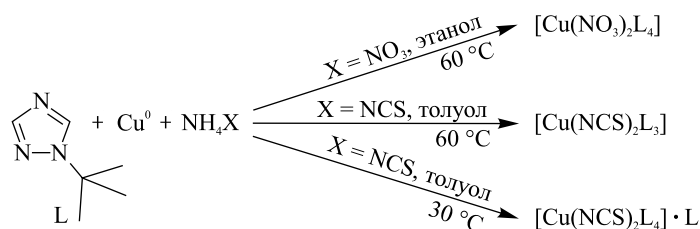


Рис. 2. Схема прямого синтеза КС  
1-*трет*-бутил-1*H*-1,2,4-триазола  
Fig. 2. Scheme of direct synthesis  
of 1-*tert*-butyl-1*H*-1,2,4-triazole coordination compounds

**Молекулярная и кристаллическая структура КС.** Кристаллическая структура комплексов 1-*трет*-бутил-1*H*-1,2,4-триазола с галогенидами меди описана ранее в сообщении [20] и депонирована в Кембриджской базе структурных данных. В настоящей работе мы исследовали кристаллическую структуру синтезированных комплексов  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_3]$ ,  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{L}_4]$  и  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_4] \cdot \text{L}$ , кристаллографические данные которых представлены в табл. 1.

Таблица 1

Кристаллографические данные синтезированных КС

Table 1

Crystal data of synthesised complex compounds

| Показатели              | $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_3]$                 | $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{L}_4]$                | $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_4] \cdot \text{L}$  |
|-------------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| Формула                 | $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{CuN}_{11}\text{S}_2$ | $\text{C}_{24}\text{H}_{44}\text{CuN}_{14}\text{O}_6$ | $\text{C}_{32}\text{H}_{55}\text{CuN}_{17}\text{S}_2$ |
| Формульный вес          | 555,23                                                | 688,27                                                | 805,59                                                |
| Излучение               | $\text{MoK}_\alpha$                                   | $\text{MoK}_\alpha$                                   | $\text{MoK}_\alpha$                                   |
| $T$ , К                 | 100(2)                                                | 100(2)                                                | 100(2)                                                |
| Пространственная группа | $P\bar{1}$                                            | $P\bar{1}$                                            | $P2_1/n$                                              |
| Сингония                | Триклинная                                            | Триклинная                                            | Моноклиная                                            |
| $a$ , Å                 | 9,67304(8)                                            | 8,02590(10)                                           | 19,0413(2)                                            |
| $b$ , Å                 | 12,28325(11)                                          | 14,78886(17)                                          | 10,70980(10)                                          |
| $c$ , Å                 | 12,42636(11)                                          | 15,1741(2)                                            | 20,8148(2)                                            |
| $\alpha$ , град         | 88,1681(4)                                            | 89,8468(5)                                            | 90                                                    |

Окончание табл. 1  
Ending table 1

| Показатели                               | $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_3]$ | $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{L}_4]$ | $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_4] \cdot \text{L}$ |
|------------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------------------|
| $\beta$ , град                           | 73,1735(4)                            | 80,5313(5)                             | 106,1499(5)                                          |
| $\gamma$ , град                          | 72,3145(4)                            | 76,7380(5)                             | 90                                                   |
| $V$ , Å <sup>3</sup>                     | 1343,91(2)                            | 1728,13(4)                             | 4077,22(7)                                           |
| $Z$                                      | 2                                     | 2                                      | 4                                                    |
| $d_{\text{расч}}$ , г · см <sup>-3</sup> | 1,372                                 | 1,323                                  | 1,312                                                |

Примечание.  $V$ ,  $Z$  – объем элементарной ячейки и число формульных единиц в ней соответственно;  
 $d_{\text{расч}}$  – кристаллографическая плотность.

Комплексы  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_3]$  и  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{L}_4]$  кристаллизуются в триклинной кристаллической системе в пространственной группе  $P\bar{1}$ , а комплекс  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_4] \cdot \text{L}$  – в моноклинной группе  $P2_1/n$ . Все три комплекса являются молекулярными моноядерными. Строение комплексных молекул в кристаллах  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_3]$ ,  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{L}_4]$  и  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_4] \cdot \text{L}$  представлены на рис. 3, а; 4, а, и 5, а, соответственно.

Асимметричная ячейка комплекса  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_3]$  включает один катион меди(II), три молекулы триазольного лиганда и два тиоцианатных аниона (см. рис. 3, а). Все атомы находятся в общих позициях. В молекуле этого комплекса катион меди(II) окружен тремя триазольными лигандами и двумя тиоцианатными лигандами. Катион меди имеет искаженное квадратно-пирамидальное окружение, образованное пятью атомами азота (дескриптор для пентакоординации  $\tau = 0,23$ ). В базальных положениях пирамиды расположены два атома азота триазольного цикла и два атома азота тиоцианат-аниона, апикальное положение занято атомом азота триазольного цикла. Все координационные связи Cu — N обычные, причем апикальная связь несколько длиннее базальных (табл. 2). Атомы серы не участвуют в координации. В кристаллической структуре этого комплекса водородные связи отсутствуют. Упаковка молекул в кристалле показана на рис. 3, б.

Таблица 2

Длины координационных связей в структуре  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_3]$ 

Table 2

Coordination bond lengths in the structure of  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_3]$ 

| Связь     | Длина, Å   |
|-----------|------------|
| Cu1 — N1  | 1,9639(11) |
| Cu1 — N2  | 1,9773(10) |
| Cu1 — N24 | 2,0328(10) |
| Cu1 — N14 | 2,0526(10) |
| Cu1 — N34 | 2,1744(10) |

В свою очередь, асимметричная ячейка комплекса  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{L}_4]$  включает два катиона меди(II) – Cu1 и Cu2, четыре молекулы триазольного лиганда и два нитратных аниона. Оба катиона меди находятся в центре симметрии, все остальные атомы – в общих позициях. Катионы Cu1 и Cu2 образуют две независимые centrosymmetric молекулы комплекса (см. рис. 4, а). Обе молекулы имеют близкое октаэдрическое окружение из четырех атомов азота N<sup>4</sup> четырех триазольных лигандов и из двух атомов кислорода двух анионов NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Длины координационных связей Cu — N и Cu — O имеют обычные значения, но связи Cu — O являются более длинными и обеспечивают образование вытянутого октаэдра (табл. 3). В кристаллической структуре комплекса  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{L}_4]$  существуют только неклассические водородные связи C — H...O атомов водорода триазольных циклов, связывающие соседние молекулы в полимерные цепи вдоль оси  $a$ . Каждая независимая молекула образует свою цепь. Упаковка молекул вдоль полимерных цепей представлена на рис. 4, б. Строение одной из двух полимерных цепей показано на рис. 4, в.

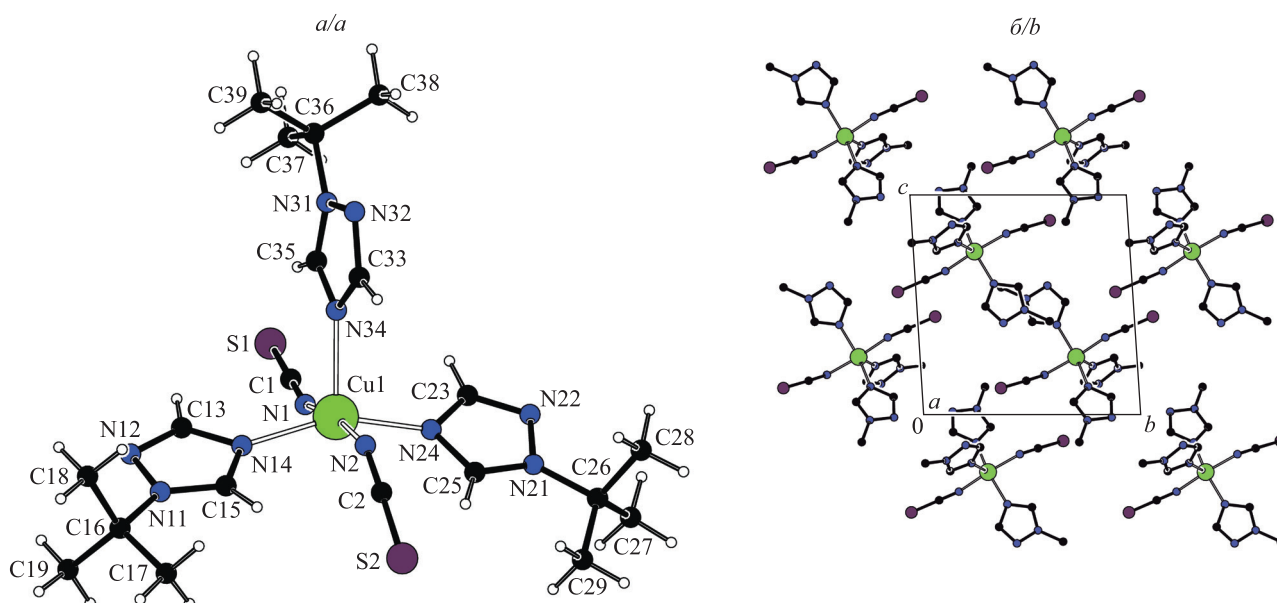


Рис. 3. Строение молекулы комплекса  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_3]$  (а) и проекция его кристаллической структуры вдоль оси  $a$  (б) (атомы водорода не показаны)

Fig. 3. The structure of complex molecule  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_3]$  (a) and the projection of its crystal structure along the  $a$  axis (b) (hydrogen atoms are omitted)

Таблица 3

Длины координационных связей в структуре  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{L}_4]$

Table 3

Coordination bond lengths in the structure of  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{L}_4]$

| Связь                | Длина, Å   |
|----------------------|------------|
| Cu1—N24 <sup>a</sup> | 2,0026(9)  |
| Cu1—N24              | 2,0026(9)  |
| Cu1—N14 <sup>a</sup> | 2,0229(9)  |
| Cu1—N14              | 2,0229(9)  |
| Cu1—O3               | 2,3759(9)  |
| Cu1—O3 <sup>a</sup>  | 2,3759(9)  |
| Cu2—N34 <sup>b</sup> | 2,0154(9)  |
| Cu2—N34              | 2,0155(9)  |
| Cu2—N44              | 2,0140(10) |
| Cu2—N44 <sup>b</sup> | 2,0141(10) |
| Cu2—O5               | 2,3741(9)  |
| Cu2—O5 <sup>b</sup>  | 2,3741(9)  |

Примечание. Преобразования симметрии:  $1-x, -y, -z$  (<sup>a</sup>);  $-x, 1-y, 1-z$  (<sup>b</sup>).

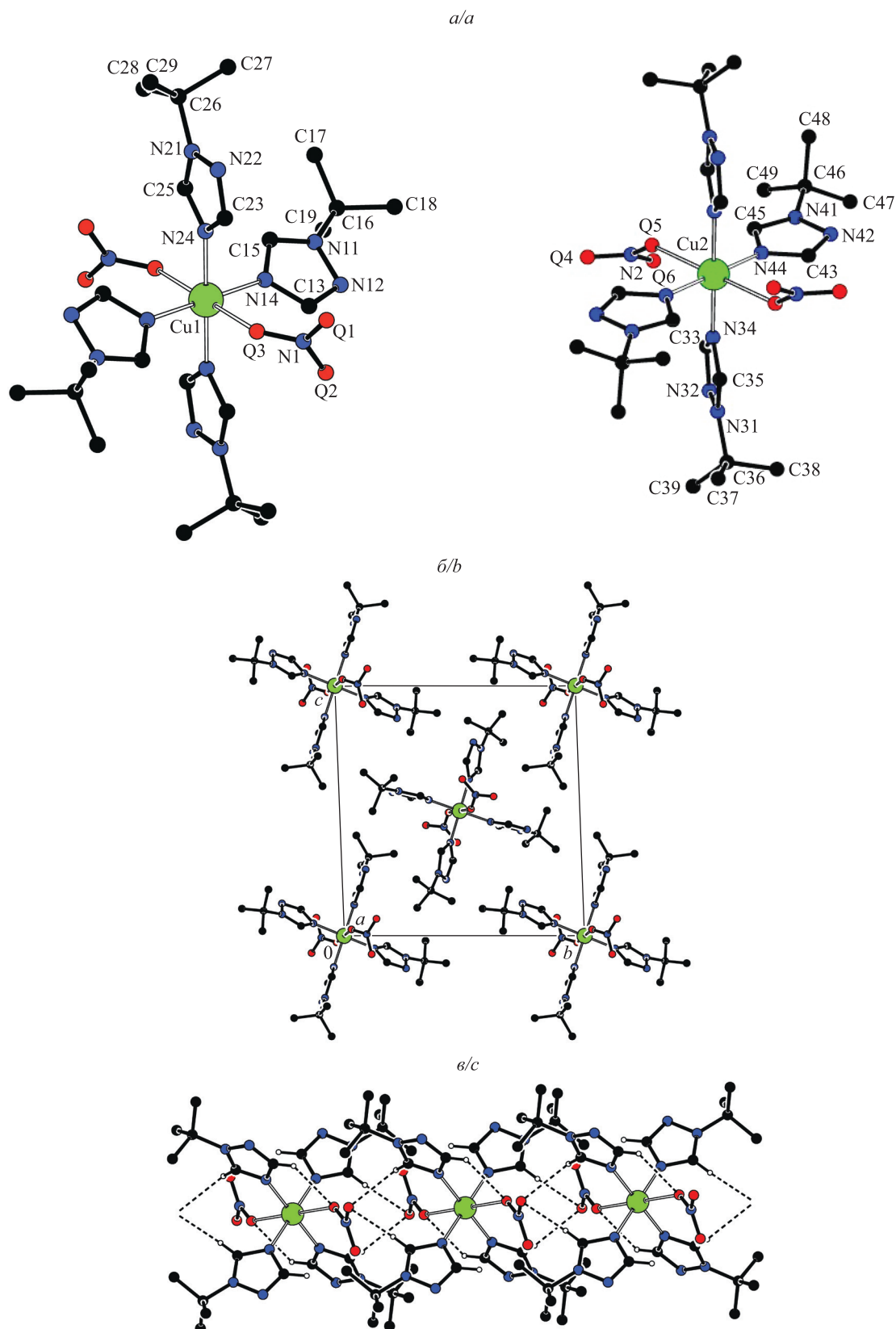


Рис. 4. Структура двух независимых молекул комплекса  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{L}_4]$  с нумерацией атомов асимметричной ячейки (а) и проекция его кристаллической структуры вдоль оси  $a$  (атомы водорода не показаны) (б), а также водородно-связанная полимерная цепь в кристаллической структуре комплекса  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{L}_4]$  (атомы водорода, не участвующие в водородных связях, не показаны) (в)

Fig. 4. The structure of two independent complex molecules of  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{L}_4]$  with atom numbering for the asymmetric unit (a) and projection of its crystal structure along the  $a$  axis (hydrogen atoms are not shown) (b); hydrogen-bonded polymer chain in the crystal structure of  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{L}_4]$  (hydrogen atoms not participating in hydrogen bonds are omitted) (c)

Асимметричная ячейка комплекса  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_4] \cdot \text{L}$  включает катион меди(II), пять молекул триазольного лиганда и два тиоцианатных аниона (рис. 5, *a*). Все атомы находятся в общих позициях. Одна из пяти молекул триазола не координирована металлом. Катион меди имеет октаэдрическое окружение из четырех атомов азота  $\text{N}^4$  четырех триазольных лигандов и из двух атомов азота двух анионов  $\text{NCS}^-$ . Длины координационных связей  $\text{Cu}-\text{N}$  с триазольными лигандами имеют обычные значения, а связи с атомами азота тиоцианатных анионов являются более длинными и обеспечивают образование вытянутого октаэдра (табл. 4).

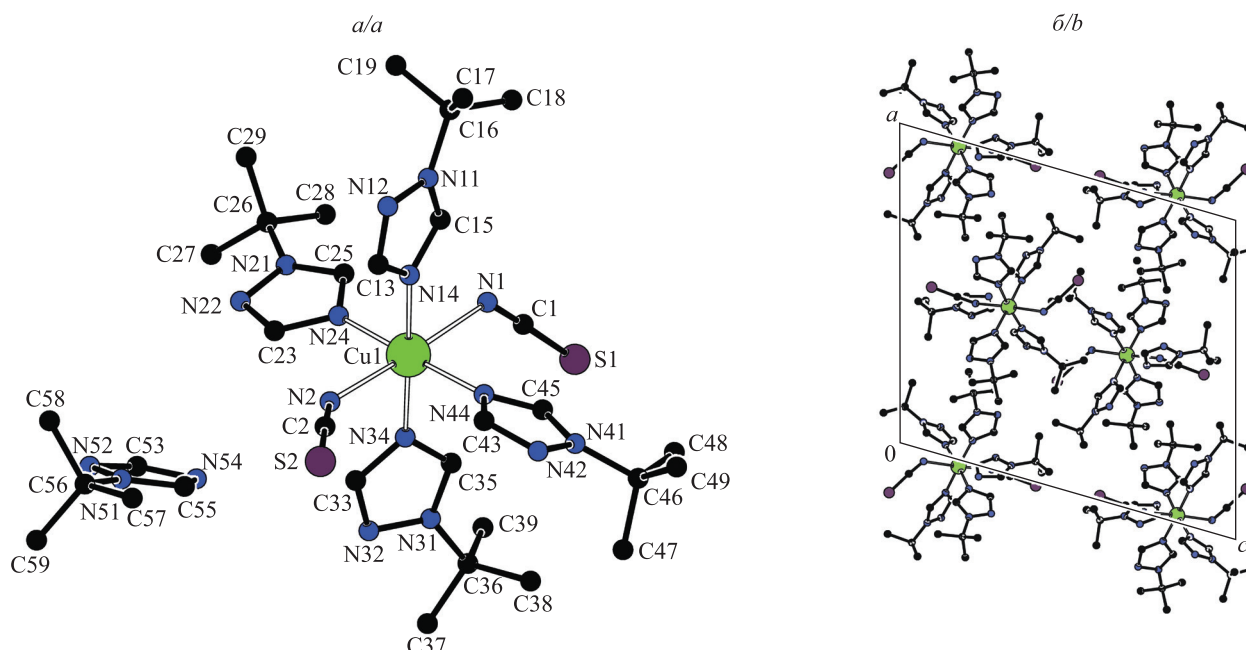


Рис. 5. Молекула комплекса и некоординированная молекула лиганда в структуре  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_4] \cdot \text{L}$  (*a*) и проекция кристаллической структуры вдоль оси *b* (*b*) (атомы водорода не показаны)

Fig. 5. Complex molecule and non-coordinated ligand molecule in the structure of the  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_4] \cdot \text{L}$  (*a*) and projection of the crystal structure along the *b* axis (*b*) (hydrogen atoms are omitted)

Таблица 4

Длины координационных связей в структуре  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_4] \cdot \text{L}$

Table 4

Coordination bond lengths in the structure of  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_4] \cdot \text{L}$

| Связь                   | Длина, Å   |
|-------------------------|------------|
| $\text{Cu1}-\text{N24}$ | 2,0278(8)  |
| $\text{Cu1}-\text{N14}$ | 2,0305(9)  |
| $\text{Cu1}-\text{N44}$ | 2,0432(9)  |
| $\text{Cu1}-\text{N34}$ | 2,0504(9)  |
| $\text{Cu1}-\text{N2}$  | 2,3453(9)  |
| $\text{Cu1}-\text{N1}$  | 2,4583(10) |

В структуре комплекса  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2\text{L}_4] \cdot \text{L}$  некоординированные молекулы лиганда удерживаются водородной связью  $\text{C33}-\text{H33}\cdots\text{N54}$  атомов водорода триазольного цикла комплексной молекулы с атомом азота гетероцикла некоординированной молекулы. В кристаллической структуре комплекса существуют также неклассические внутримолекулярные водородные связи  $\text{C}-\text{H}\cdots\text{N}$  и  $\text{C}-\text{H}\cdots\text{S}$  атомов водорода триазольных циклов с атомами азота и серы тиоцианатных анионов.

**ИК-спектроскопия в области 4000–500 см<sup>-1</sup>.** Накопленная информация по структуре лигандов и их комплексных соединений, а также данные колебательной спектроскопии представляют важность для установления корреляций между структурными особенностями комплексов и их проявлением в колебательных спектрах. Использование подобных корреляций во многих случаях дает возможность определить некоторые характеристики строения комплексов по их колебательным спектрам. Наличие рентгеноструктурных данных для 1-*трет*-бутил-1*H*-1,2,4-триазола [20] и комплексов [Cu(NCS)<sub>2</sub>L<sub>3</sub>], [Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>L<sub>4</sub>] и [Cu(NCS)<sub>2</sub>L<sub>4</sub>] · L, полученных в настоящей работе, а также для ИК-спектров этих комплексов может быть полезным для установления указанных корреляций для комплексов меди(II) с 1-*трет*-бутил-1*H*-1,2,4-триазолом. Данные ИК-спектров некоторых металлокомплексов 1-*трет*-бутил-1*H*-1,2,4-триазола, представленные в работах [11; 22], вносят свой вклад в решение описанной задачи, так как расширяют объем имеющейся экспериментальной информации.

При обсуждении ИК-спектров синтезированных комплексов прежде всего рассмотрим полосы колебаний анионов NCS<sup>-</sup> и NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, входящих в состав комплексов, а также *трет*-бутильного заместителя при атоме азота триазольного цикла. Как известно, тиоцианат-анион NCS<sup>-</sup> является амбидентатным и может координироваться как атомом азота, так и атомом серы. В комплексах двухвалентных металлов с органическими лигандами тиоцианат-анионы способны образовывать также мостиковые связи [10; 11; 34–39]. В средней области ИК-спектров изученных КС тиоцианата меди(II) с L хорошо идентифицируется полоса поглощения валентных колебаний связи C—N тиоцианатной группы ν(CN), которая расположена в области 2075 см<sup>-1</sup>. В ИК-спектрах металлокомплексов [Cu(NCS)<sub>2</sub>L<sub>3</sub>] и [Cu(NCS)<sub>2</sub>L<sub>4</sub>] · L частота колебаний ν(CN) регистрируется как узкая, очень сильной интенсивности полоса поглощения при 2077 и 2075 см<sup>-1</sup> соответственно, что согласно цитируемым выше литературным источникам указывает на монодентатную координацию данного аниона в изученных комплексах. Подтверждением этого являются также полосы поглощения валентных колебаний связи C—S координированного тиоцианатного аниона ν(CS) при 821 см<sup>-1</sup> в ИК-спектрах [Cu(NCS)<sub>2</sub>L<sub>3</sub>] и при 816 см<sup>-1</sup> в случае комплекса [Cu(NCS)<sub>2</sub>L<sub>4</sub>] · L. Монодентатная координация триазольного лиганда и тиоцианатного иона способствует формированию КС островкового типа, что подтверждается данными рентгеноструктурного анализа.

Координация аниона NO<sub>3</sub><sup>-</sup> может быть монодентатной, бидентатной хелатной и мостиковой. Однако различить эти типы координации по ИК-спектрам весьма сложно, так как симметрия аниона для разных типов координации различается незначительно. Действительно, симметрия свободного аниона (D<sub>3h</sub>) при координации понижается до симметрии C<sub>2v</sub>, C<sub>s</sub> или C<sub>1</sub>, при этом в ИК-спектре в области валентных колебаний ν(NO) (~1480–900 см<sup>-1</sup>) для всех трех случаев должны наблюдаться три полосы. Этой информации недостаточно, чтобы определить симметрию аниона и тип его координации. В ИК-спектре комплекса [Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>L<sub>4</sub>] в области валентных колебаний ν(NO) зарегистрированы три полосы поглощения – 1437, 1341 и 991 см<sup>-1</sup>, что и ожидалось при понижении симметрии аниона NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Согласно данным рентгеноструктурного анализа нитрат-анион в комплексе [Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>L<sub>4</sub>] координирован монодентатно.

В изученных ИК-спектрах как свободного лиганда, так и его КС меди(II) полосы поглощения валентных колебаний связей СН *трет*-бутильного заместителя расположены в характерной для них области спектра (3034–2876 см<sup>-1</sup>) [21; 22; 29–31; 33–35]. Экспериментальные ИК-спектры, а также литературные данные свидетельствуют, что отдельные незначительные изменения частот и интенсивностей полос поглощения ν(CH) *трет*-бутильной группы в ИК-спектрах комплексных соединений не связаны с участием этих групп в образовании связей, а определяются положением азольного цикла в координационном полиэдре.

В табл. 5 представлены максимумы основных полос поглощения триазольного цикла свободного 1-*трет*-бутил-1*H*-1,2,4-триазола и его комплексов. Отнесение полос выполнено с учетом литературных данных по спектрам свободных азолов и их КС с переходными металлами [11; 22; 30; 32; 33], а также с учетом квантово-химических расчетов [22].

Таблица 5

## Основные полосы поглощения триазольных циклов в ИК-спектрах L и его КС

Table 5

## Main absorption bands of triazole rings in IR spectra L and its complexes

| Основные полосы поглощения, см <sup>-1</sup> |                                        |                                                     |                                         | Отнесение           |
|----------------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------|
| L                                            | [Cu(NCS) <sub>2</sub> L <sub>3</sub> ] | [Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> L <sub>4</sub> ] | Cu(NCS) <sub>2</sub> L <sub>4</sub> · L |                     |
| 3150 оч. с.                                  | 3160 с.                                | 3130 оч. с.                                         | 3156 с.                                 | ν(CH) <sub>Tr</sub> |
| 3113 ср.                                     | 3127 с.                                | 3103 оч. с.                                         | 3135 с.                                 |                     |

Окончание табл. 5  
Ending table 5

| Основные полосы поглощения, см <sup>-1</sup> |                                        |                                                     |                                         | Отнесение                                                     |
|----------------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| L                                            | [Cu(NCS) <sub>2</sub> L <sub>3</sub> ] | [Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> L <sub>4</sub> ] | Cu(NCS) <sub>2</sub> L <sub>4</sub> · L |                                                               |
| 1502 оч. с.                                  | 1517 оч. с.                            | 1520 оч. с.                                         | 1522 оч. с.                             | $\nu(\text{C}=\text{N})_{\text{Tr}}$                          |
| 1424 ср.                                     | —                                      | 1401 сл.                                            | —                                       | $\nu(\text{C}_5-\text{N}_1) + \delta(\text{CH})_{\text{Bu}'}$ |
| 1369 с.                                      | 1372 оч. с.                            | 1361 оч. с.                                         | 1370 с.                                 | $\delta(\text{CH})_{\text{Bu}'} + \nu(\text{C}=\text{N})$     |
| —                                            | 1349 ср.                               | —                                                   | —                                       |                                                               |
| —                                            | —                                      | —                                                   | 1293 оч. с.                             | $\nu(\text{C}_3-\text{N}_4) + \nu(\text{N}_1-\text{N}_2)$     |
| 1273 оч. с.                                  | 1286 с.                                | 1278 оч. с.                                         | 1268 ср.                                |                                                               |
| 1227 оч. с.                                  | 1214 оч. с.                            | —                                                   | 1215 с.                                 |                                                               |
| 1174 ср.                                     | 1168 оч. с.                            | 1171 с.                                             | 1170 оч. с.                             | $\delta(\text{C}_3-\text{H})_{\text{Tr}}$                     |
| 1133 с.                                      | 1120 оч. с.                            | 1125 с.                                             | 1119 оч. с.                             | $\delta(\text{C}_5-\text{H})_{\text{Tr}}$                     |
| 1036 ср., 1004 оч. с.                        | 1038 ср.                               | 1043 ср.                                            | 1037 ср.                                | $(\omega - \delta)_{\text{Tr}}$                               |
| 962 с.                                       | 995 оч. с.                             | —                                                   | 966 сл., 998 оч. с.                     |                                                               |
| 934 сл.                                      | 937 оч. сл.                            | 936 оч. сл.                                         | 943 сл.                                 |                                                               |
| 875 оч. с.                                   | 891 с.                                 | 902 с.                                              | 895 с.                                  | $\chi(\text{CH})_{\text{Tr}}$                                 |
| —                                            | 864 с.                                 | —                                                   | 851 ср.                                 |                                                               |
| 824 сл.                                      | 821 оч. с.                             | 821 ср.                                             | 816 с.                                  |                                                               |
| 684 с.                                       | 686 с.                                 | 685 ср.                                             | 686 ср.                                 | $\tau\text{-Tr}$                                              |
| 664 оч. с.                                   | 658 оч. с.                             | 663 оч. с.                                          | 656 оч. с., 589 с.                      |                                                               |

Примечание. Обозначение интенсивности: оч. с. — очень сильная, с. — сильная, ср. — средняя, сл. — слабая, оч. сл. — очень слабая. Обозначение колебаний:  $\nu$  — валентные,  $\delta$  — деформационные,  $\chi$  — внеплоскостные,  $\omega$  — плоскостные,  $\tau$  — торсионные. Другие обозначения: Tr — триазольный цикл, Bu' — *трет*-бутил.

Сравнивая полосы поглощения триазольного цикла некоординированного лиганда и его комплексов (см. табл. 5), отметим следующее. Из всех полос поглощения некоординированного лиганда полоса 962 см<sup>-1</sup> деформационного колебания триазольного цикла обнаруживает значительное смещение в спектрах комплексов. Для [Cu(NCS)<sub>2</sub>L<sub>3</sub>], [Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>L<sub>4</sub>] и [Cu(NCS)<sub>2</sub>L<sub>4</sub>] · L она наблюдается при 995; 992 и 998 см<sup>-1</sup> соответственно (наблюдаемая в спектре [Cu(NCS)<sub>2</sub>L<sub>4</sub>] · L слабая полоса при 966 см<sup>-1</sup> относится к некоординированной молекуле лиганда в его кристаллической структуре). Подобное смещение обсуждаемой полосы встречалось ранее в спектрах в галогенидных комплексах меди(II) с этим же лигандом [22]. Вероятно, оно является признаком координации цикла через атом N<sup>4</sup>. Остальные сопоставляемые полосы триазольного цикла для свободного лиганда и комплексов достаточно близки.

### Заключение

Методом прямого синтеза КС в среде органических растворителей синтезированы металлокомплексы меди(II) [Cu(NCS)<sub>2</sub>L<sub>3</sub>], [Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>L<sub>4</sub>] и [Cu(NCS)<sub>2</sub>L<sub>4</sub>] · L. Методом рентгеноструктурного анализа монокристаллов впервые изучена их молекулярная и кристаллическая структура. Установлено, что синтезированные комплексы являются мооядерными, а триазольный цикл координируется металлом монодентатно по атому азота N<sup>4</sup> гетероцикла. Результаты исследования свободного лиганда и КС методом ИК-спектроскопии расширяют базу экспериментальной информации, представляющей интерес для установления корреляций между структурными особенностями комплексов и их проявлением в колебательных спектрах.

### Библиографические ссылки

- Гапоник ПН, Войтехович СВ, Ивашкевич ОА. Металлопроизводные тетразолов. *Успехи химии*. 2006;75(6):569–603.
- Дегтярик ММ, Ляхов АС, Ивашкевич ОА, Григорьев ЮВ. Комплексные соединения хлоридов и бромидов Co(II), Ni(II) и Cu(II) с тетразол-1-ил-трис-(гидроксиметил)метаном: синтез и строение. *Координационная химия*. 2012;38(2):83–91.

3. Дегтярик ММ, Мосалкова АП, Ивашкевич ОА, Гапоник ПН. Прямой синтез, строение и свойства комплексных соединений меди(II), кобальта(II) и никеля(II) с замещенными тетразолами. *Вестник БГУ. Серия 2. Химия. Биология. География*. 2009;2:6–11.
4. Gaponik PN, Voitekhovich SV, Lyakhov AS, Matulis Vadim E, Ivashkevich OA, Quesada M, et al. Crystal structure and physical properties of the new 2D polymeric compound bis(1,5-diaminotetrazole)dichlorocopper(II). *Inorganica Chimica Acta*. 2005;358:2549–2557. DOI: 10.1016/i.ica.2005.03.005.
5. Mosalkova AP, Voitekhovich SV, Lyakhov AS, Ivashkevich LS, Degtyarik MM, Gaponik PN, et al. Direct synthesis and characterization of novel homo- and heterometallic mixed-ligand tetrazolate complexes, Cu(en)(tz)<sub>2</sub> and Cu(en)<sub>2</sub>Zn(tz)<sub>4</sub> [en = ethylenediamine, tz = tetrazolate]. *Inorganic Chemistry Communications*. 2009;12(10):998–1000. DOI: 10.1016/j.inoche.2009.08.003.
6. Ивашкевич ЛС, Ляхов АС, Ивашкевич ДО, Дегтярик ММ, Гапоник ПН. Синтез и кристаллическая структура комплекса катена-поли[[бис(1-метилтетразол-N4)медь(II)]-ди-μ-хлор]CuCl<sub>2</sub>(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>N<sub>4</sub>)<sub>2</sub>. *Журнал неорганической химии*. 2005;50(1):82–86.
7. Лавренова ЛГ, Бикжанова ГА, Богатилов АН, Икорский ВН, Шелудякова ЛА, Вировец АВ и др. Комплексные соединения кобальта(II), никеля(II) и меди(II) с 1-фенил- и 1-этилтетразолами. *Журнал неорганической химии*. 1996;41(4):587–592.
8. Aromí G, Barrios LA, Roubeau O, Gamez P. Triazoles and tetrazoles: prime ligands to generate remarkable coordination materials. *Coordination Chemistry Reviews*. 2011;255(5–6):485–546. DOI: 10.1016/j.ccr.2010.10.038.
9. Haasnoot JG. Mononuclear, oligonuclear and polynuclear metal coordination compounds with 1,2,4-triazole derivatives as ligands. *Coordination Chemistry Reviews*. 2000;(200–202):131–185. DOI: 10.1016/S0010-8545(00)00266-6.
10. Гарновский АД, Осипов ОА, Кузнецова ЛИ, Богдашев НН. Успехи координационной химии азолов. *Успехи химии*. 1973;42(2):177–215.
11. Гарновский АД, Гарновский ДА, Васильченко ИС, Бурлов ИС, Садименко АП, Садеков ИД. Конкурентная координация: амбидентные лиганды в современной химии металлокомплексных соединений. *Успехи химии*. 1997;66(5):434–462.
12. Овчаренко ВИ, Сагдеев РЗ. Молекулярные ферромагнетики. *Успехи химии*. 1999;68(5):381–400.
13. Лавренова ЛГ, Ларионов СВ. Спиновый переход в комплексных соединениях железа(II) с 1,2,4-триазиолами и тетразолами. *Координационная химия*. 1998;24(6):403–420.
14. Shvedenkov Y, Bushuev M, Romanenko G, Lavrenova L, Ikorskii V, Gaponik P, et al. Magnetic anisotropy of new layered copper(II) bromide complexes of 1-substituted tetrazoles. *European Journal of Inorganic Chemistry*. 2005;2005(9):1678–1682. DOI: 10.1002/ejic.200400505.
15. Kahn O. *Molecular magnetism*. New York: Wiley-VCH; 1993. 380 p.
16. Berezovskii GA, Lavrenova LG. Thermodynamic properties of spin crossover 3D-metal coordination compounds. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2011;103:1063–1072. DOI: 10.1007/s10973-010-1043-y.
17. Скопенко ВВ, Гарновский АД, Кокозей ВН, Кужаров АС, Гохон-Зоррилла Г, Бурлов АС и др. Прямой синтез координационных соединений. Скопенко ВВ, редактор. Киев: Вентури; 1997. 176 с.
18. Гарновский АД, Харисов БИ, Гохон-Зоррилла Г, Гарновский ДА. Прямой синтез координационных соединений из нульвалентных металлов и органических лигандов. *Успехи химии*. 1995;64(3):215–236.
19. Kokozay VN, Shevchenko DV. Direct synthesis as a new approach to heteronuclear complexes. *Materials Science-Poland*. 2005;23(1):287–312.
20. Voitekhovich SV, Degtyarik MM, Lyakhov AS, Ivashkevich LS, Ivashkevich OA. Copper(II) halide complexes with 1-tert-butyl-1H-1,2,4-triazole and 1-tert-butyl-1H-tetrazole. *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*. 2018;644(2):100–108. DOI: 10.1002/zaac.201700363.
21. Дегтярик ММ, Богатилов АН, Войтехович СВ, Ляхов АС, Ивашкевич ЛС, Григорьев ЮВ и др. Синтез и строение комплексных соединений хлорида меди(II) с 1-изо-пропил-1H-1,2,4-триазолом. *Журнал Белорусского государственного университета. Химия*. 2020;1:64–73. DOI: 10.33581/2520-257X-2020-1-64-73.
22. Сапарова ДС, Богатилов АН, Матулис Вадим Э, Дегтярик ММ, Ивашкевич ОА. ИК-спектры монометаллических комплексов галогенидов меди(II) с 1-трет-бутил-1,2,4-триазолом: экспериментальное и квантово-химическое исследование. *Журнал Белорусского государственного университета. Химия*. 2019;2:12–20. DOI: 10.33581/2520-257X-2019-2-12-20.
23. Гордон А, Форд Р. *Спутник химика*. Розенберг ЕЛ, Коппель СИ, переводчики. Москва: Мир; 1976. 541 с.
24. Крешков АП. *Основы аналитической химии. Том 2. Теоретические основы. Количественный анализ*. 3-е издание. Москва: Химия; 1971. 456 с.
25. Burla MC, Caliendo R, Carrozzini B, Cascarano GL, Cuocci C, Giacovazzo C, et al. Crystal structure determination and refinement via SIR2014. *Journal of Applied Crystallography*. 2015;48:306–309. DOI: 10.1107/S1600576715001132.
26. Sheldrick GM. Crystal structure refinement with SHELXL. *Acta Crystallographica Section C: Structural Chemistry*. 2015;71:3–8. DOI: 10.1107/S2053229614024218.
27. Spek AL. Structure validation in chemical crystallography. *Acta Crystallographica Section D*. 2009;65:148–155. DOI: 10.1107/S090744490804362X.
28. Voitekhovich S, Degtyarik M, Lyakhov A, Ivashkevich L, Ivashkevich O. Copper(II) halide complexes with 1-tert-butyl-1,2,4-triazole: synthesis and crystal structure. In: 27<sup>th</sup> International Chugaev conference on coordination chemistry and 4<sup>th</sup> Young conference school «Physicochemical methods in the chemistry of coordination compounds»; 2017 October 2–6; Nizhny Novgorod, Russia. Nizhny Novgorod: [s. n.]; 2017. p. 26.
29. Гринштейн ВЯ, Страздинь АА, Гринвалде АК. Спектры инфракрасного поглощения некоторых С-галогенпроизводных 1,2,4-триазола. *Химия гетероциклических соединений*. 1970;2:248–258.
30. Накамото К. *ИК-спектры и спектры КР неорганических и координационных соединений*. Христенко ЛВ, переводчик. Москва: Мир; 1991. 536 с.
31. Billes F, Endrédi H, Keresztury G. Vibrational spectroscopy of triazoles and tetrazole. *Journal of Molecular Structure: THEO-CHEM*. 2000;530(1–2):183–200. DOI: 10.1016/S0166-1280(00)00340-7.
32. Klingele HM, Brooker S. The coordination chemistry of 4-substituted 3,5-di(2-pyridyl)-4H-1,2,4-triazoles and related ligands. *Coordination Chemistry Reviews*. 2003;24(1):119–132. DOI: 10.1016/S0010-8545(03)00049-3.
33. Вдовенко ВМ, редактор. *Спектроскопические методы в химии комплексных соединений*. Москва: Химия; 1964. 268 с.
34. Degtyarik MM, Gaponik PN, Naumenko VN, Lesnikov AI, Nikanovich MV. Infrared spectroscopic study of copper(II) complexes with N-substituted tetrazoles. *Spectrochimica Acta. Part A: Molecular Spectroscopy*. 1987;43(3):349–353.

35. Беллами ЛДж. *Инфракрасные спектры сложных молекул*. Пентин ЮА, редактор; Акимов ВМ, Пентин ЮА, Тетерин ЭГ, переводчики. Москва: Издательство иностранной литературы; 1963. 592 с.
36. Кукушкин ВЮ, Кукушкин ЮН. *Теория и практика синтеза координационных соединений*. Жаворонков НМ, редактор. Ленинград: Наука; 1990. 259 с.
37. Кукушкин ЮН. *Химия координационных соединений*. Москва: Высшая школа; 1985. 455 с.
38. Kabešová M, Gažo J. Structure and classification of thiocyanates and the mutual influence of their ligands. *Chemické zvesti*. 1980;34(6):800–841.
39. Kabešová M, Boca R, Melnik M, Valigura D, Dunaj-Jurčo M. Bonding properties of thioceanate groups in copper(II) and copper(I) complexes. *Coordination Chemistry Review*. 1995;140:115–135.

## References

1. Gaponik PN, Voitekhovich SV, Ivashkevich OA. Metal derivatives of tetrazoles. *Uspekhi khimii*. 2006;75(6):569–603. Russian.
2. Degtyarik MM, Lyakhov AS, Ivashkevich OA, Grigoriev YuV. Complexes of Co(II), Ni(II), and Cu(II) chlorides and bromides with tetrazol-1-yl-*tris*(hydroxymethyl)methane: synthesis and structure. *Koordinatsionnaya khimiya*. 2012;38(2):83–91. Russian.
3. Degtyarik MM, Mosalkova AP, Ivashkevich OA, Gaponik PN. Direct synthesis, structure and properties of complex compounds of copper, cobalt and nickel with substituted tetrazoles. *Vestnik BGU. Seriya 2. Khimiya. Biologiya. Geografiya*. 2009;2:6–11. Russian.
4. Gaponik PN, Voitekhovich SV, Lyakhov AS, Matulis Vadim E, Ivashkevich OA, Quesada M, et al. Crystal structure and physical properties of the new 2D polymeric compound bis(1,5-diaminotetrazole)dichlorocopper(II). *Inorganica Chimica Acta*. 2005;358:2549–2557. DOI: 10.1016/i.ica.2005.03.005.
5. Mosalkova AP, Voitekhovich SV, Lyakhov AS, Ivashkevich LS, Degtyarik MM, Gaponik PN, et al. Direct synthesis and characterization of novel homo- and heterometallic mixed-ligand tetrazolate complexes, Cu(en)(tz)<sub>2</sub> and Cu(en)<sub>2</sub>Zn(tz)<sub>4</sub> [en = ethylenediamine, tz = tetrazolate]. *Inorganic Chemistry Communications*. 2009;12(10):998–1000. DOI: 10.1016/j.inoche.2009.08.003.
6. Ivashkevich LS, Lyakhov AS, Degtyarik MM, Ivashkevich DO, Gaponik PN. Synthesis and crystal structure of the catena-poly[[bis(1-methyltetrazole-N4)copper(II)]-di-μ-chloro] complex CuCl<sub>2</sub>(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>N<sub>4</sub>)<sub>2</sub>. *Zhurnal neorganicheskoi khimii*. 2005;50(1):82–86. Russian.
7. Lavrenova LG, Bikzhanova GA, Bogatkov AN, Ikorsky VN, Sheludyakova LA, Virovets AV, et al. Complex compounds of cobalt(II), nickel(II), and copper(II) with 1-phenyl- and 1-ethyltetrazoles. *Zhurnal neorganicheskoi khimii*. 1996;41(4):587–592. Russian.
8. Aromí G, Barrios LA, Roubeau O, Gamez P. Triazoles and tetrazoles: prime ligands to generate remarkable coordination materials. *Coordination Chemistry Reviews*. 2011;255(5–6):485–546. DOI: 10.1016/j.ccr.2010.10.038.
9. Haasnoot JG. Mononuclear, oligonuclear and polynuclear metal coordination compounds with 1,2,4-triazole derivatives as ligands. *Coordination Chemistry Reviews*. 2000;(200–202):131–185. DOI: 10.1016/S0010-8545(00)00266-6.
10. Garnovskii AD, Osipov OA, Kuznetsova LI, Bogdashev NN. [Advances in the coordination chemistry of azoles]. *Uspekhi khimii*. 1973;42(2):177–215. Russian.
11. Garnovskii AD, Garnovskii DA, Vasilchenko IS, Burlov IS, Sadimenko AP, Sadekov ID. Competing coordination: ambident ligands in modern chemistry of metal complexes. *Uspekhi khimii*. 1997;66(5):434–462. Russian.
12. Ovcharenko VI, Sagdeev RZ. Molecular ferromagnets. *Uspekhi khimii*. 1999;68(5):381–400. Russian.
13. Lavrenova LG, Larionov SV. [Spin transition in iron(II) complex compounds with 1,2,4-triazoles and tetrazoles]. *Koordinatsionnaya khimiya*. 1998;24(6):403–420. Russian.
14. Shvedenkov Y, Bushuev M, Romanenko G, Lavrenova L, Ikorskii V, Gaponik P, et al. Magnetic anisotropy of new layered copper(II) bromide complexes of 1-substituted tetrazoles. *European Journal of Inorganic Chemistry*. 2005;2005(9):1678–1682. DOI: 10.1002/ejic.200400505.
15. Kahn O. *Molecular magnetism*. New York: Wiley-VCH; 1993. 380 p.
16. Berezovskii GA, Lavrenova LG. Thermodynamic properties of spin crossover 3D-metal coordination compounds. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2011;103:1063–1072. DOI: 10.1007/s10973-010-1043-y.
17. Skopenko VV, Garnovskii AD, Kokozei VN, Kuzharov AS, Gokhon-Zorrilla G, Burlov AS, et al. *Pryamoi sintez koordinatsionnykh soedinenii* [Direct synthesis of coordination compounds]. Skopenko VV, editor. Kiev: Venturi; 1997. 176 p. Russian.
18. Garnovskii AD, Kharisov BI, Gokhon-Zorrilla G, Garnovskii DA. Direct synthesis of coordination compounds from zerovalent metals and organic ligands. *Uspekhi khimii*. 1995;64(3):215–236. Russian.
19. Kokozei VN, Shevchenko DV. Direct synthesis as a new approach to heteronuclear complexes. *Materials Science-Poland*. 2005;23(1):287–312.
20. Voitekhovich SV, Degtyarik MM, Lyakhov AS, Ivashkevich LS, Ivashkevich OA. Copper(II) halide complexes with 1-*tert*-butyl-1*H*-1,2,4-triazole and 1-*tert*-butyl-1*H*-tetrazole. *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*. 2018;644(2):100–108. DOI: 10.1002/zaac.201700363.
21. Degtyarik MM, Bogatkov AN, Voitekhovich SV, Lyakhov AS, Ivashkevich LS, Grigoriev YuV, et al. Synthesis and structure of copper(II) complexes with 1-*iso*-propyl-1*H*-1,2,4-triazole. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry*. 2020;1:64–73. Russian. DOI: 10.33581/2520-257X-2020-1-64-73.
22. Saporova DS, Bogatkov AN, Matulis Vadim E, Degtyarik MM, Ivashkevich OA. IR-spectrum of monometallic copper(II) halogenide complexes with 1-*tert*-butyl-1,2,4-triazole: experimental and quantum chemical studies. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry*. 2019;2:12–20. Russian. DOI: 10.33581/2520-257X-2019-2-12-20.
23. Gordon A, Ford R. *Sputnik khimika* [Chemist's companion]. Rozenberg EL, Koppel' SI, translators. Moscow: Mir; 1976. 541 p. Russian.
24. Kreshkov AP. *Osnovy analiticheskoi khimii. Tom 2. Teoreticheskie osnovy. Kolichestvennyi analiz* [Fundamentals of analytical chemistry. Volume 2. Theoretical foundations. Quantitative analysis]. Moscow: Khimiya; 1971. 456 p. Russian.
25. Burla MC, Caliendo R, Carrozzini B, Cascarano GL, Cuocci C, Giovacazzo C, et al. Crystal structure determination and refinement via *SIR2014*. *Journal of Applied Crystallography*. 2015;48:306–309. DOI: 10.1107/S1600576715001132.
26. Sheldrick GM. Crystal structure refinement with *SHELXL*. *Acta Crystallographica Section C: Structural Chemistry*. 2015;71:3–8. DOI: 10.1107/S2053229614024218.

27. Spek AL. Structure validation in chemical crystallography. *Acta Crystallographica Section D*. 2009;65:148–155. DOI: 10.1107/S090744490804362X.
28. Voitekhovich S, Degtyarik M, Lyakhov A, Ivashkevich L, Ivashkevich O. Copper(II) halide complexes with 1-*tert*-butyl-1,2,4-triazole: synthesis and crystal structure. In: 27<sup>th</sup> International Chugaev conference on coordination chemistry and 4<sup>th</sup> Young conference school «Physicochemical methods in the chemistry of coordination compounds»; 2017 October 2–6; Nizhny Novgorod, Russia. Nizhny Novgorod: [s. n.]; 2017. p. 26.
29. Greenstein VYa, Strazdin AA, Greenvalde AK. Infrared absorption spectra of some C-halogen derivatives of 1,2,4-triazole. *Khimiya geterotsiklicheskikh soyedineniy*. 1970;2:248–258. Russian.
30. Nakamoto K. *Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds*. New York: John Wiley and Sons; 1986. 479 p.  
Russian edition: Nakamoto K. *ИК-спектры и спектры КР неорганических и координационных соединений*. Khristenko LV, translator. Moscow: Mir; 1991. 536 p.
31. Billes F, Endrédi H, Keresztury G. Vibrational spectroscopy of triazoles and tetrazole. *Journal of Molecular Structure: THEO-CHEM*. 2000;530(1–2):183–200. DOI: 10.1016/S0166-1280(00)00340-7.
32. Klingele HM, Brooker S. The coordination chemistry of 4-substituted 3,5-di(2-pyridyl)-4H-1,2,4-triazoles and related ligands. *Coordination Chemistry Reviews*. 2003;24(1):119–132. DOI: 10.1016/S0010-8545(03)00049-3.
33. Vdovenko VM, editor. *Spektroskopicheskie metody v khimii kompleksnykh soedinenii* [Spectroscopic methods in the chemistry of complex compounds]. Moscow: Khimiya; 1964. 268 p. Russian.
34. Degtyarik MM, Gaponik PN, Naumenko VN, Lesnikov AI, Nikanovich MV. Infrared spectroscopic study of copper(II) complexes with *N*-substituted tetrazoles. *Spectrochimica Acta. Part A: Molecular Spectroscopy*. 1987;43(3):349–353.
35. Bellamy LJ. *The infra-red spectra of complex molecules*. London: Methuen & Co. Ltd.; 1958. 425 p.  
Russian edition: Bellamy LDzh. *Инфракрасные спектры сложных молекул*. Pentin YuA, editor; Akimov VM, Pentin YuA, Teterin EG, translators. Moscow: Izdatel'stvo inostrannoi literatury; 1963. 592 p.
36. Kukushkin VYu, Kukushkin YuN. *Teoriya i praktika sinteza koordinatsionnykh soedinenii* [Theory and practice of the synthesis of coordination compounds]. Zhavoronkov NM, editor. Leningrad: Nauka; 1990. 259 p. Russian.
37. Kukushkin YuN. *Khimiya koordinatsionnykh soedinenii* [Chemistry of coordination compounds]. Moscow: Vysshaya shkola; 1985. 455 p. Russian.
38. Kabešová M, Gažo J. Structure and classification of thiocyanates and the mutual influence of their ligands. *Chemické zvesti*. 1980;34(6):800–841.
39. Kabešová M, Boca R, Melnik M, Valigura D, Dunaj-Jurčo M. Bonding properties of thioceanate groups in copper(II) and copper(I) complexes. *Coordination Chemistry Review*. 1995;140:115–135.

Получена 22.01.2022 / принята 22.02.2022.  
Received 22.01.2022 / accepted 22.02.2022.

## СОДЕРЖАНИЕ

### ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

|                                                                                                                                                                                                                                          |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Малаховский П. О., Рашкевич А. В., Минаков Е. А., Артемьев М. В.</i> Агрегативная устойчивость коллоидных 3D- и 2D-наночастиц серебра, стабилизированных 11-меркаптоундекановой кислотой, в присутствии однозарядных катионов .....   | 3  |
| <i>Юркишович Я. Н., Блохин А. В.</i> Термодинамические свойства темозоломида в кристаллическом и газообразном агрегатных состояниях .....                                                                                                | 18 |
| <i>Леицёв С. М., Походня Ю. Г., Агабалаев А. А., Заяц М. Ф.</i> Экстракция анаболических стероидов водно-органическими смесями из гексановых растворов .....                                                                             | 31 |
| <i>Панада Я. В., Клопова В. А., Кулагова Т. А., Фалетров Я. В., Хорецкий М. С., Фролова Н. С., Корень С. В., Фомина Е. Г., Шкуматов В. М.</i> Влияние 3-ацетил-5-гидрокси-2-метилиндола на пролиферацию и метаболизм клеток глиомы ..... | 43 |
| <i>Белов Д. А., Фалетров Я. В., Яковец П. С., Шкуматов В. М.</i> Флуоресцеина дигексаноат как профлуоресцентный маркер для мониторинга гидролитической деструкции полилактидных материалов .....                                         | 53 |
| <i>Дудко А. Р., Хорецкий М. С., Фролова Н. С., Фалетров Я. В., Шкуматов В. М.</i> Флуоресцентные свойства и белок-лигандные взаимодействия молекулярного ротора на основе бордипирометена .....                                          | 61 |
| <i>Кудако А. А., Воробьева Т. Н.</i> Свойства покрытий никель – олово, осаждаемых из водных и неводных электролитов .....                                                                                                                | 72 |
| <i>Дегтярик М. М., Ляхов А. С., Григорьева И. М., Ивашкевич Л. С., Григорьев Ю. В., Ивашкевич О. А.</i> Синтез и строение комплексных соединений тиоцианата и нитрата меди(II) с 1-трет-бутил-1H-1,2,4-триазолом .....                   | 83 |

## CONTENTS

### ORIGINAL PAPERS

|                                                                                                                                                                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Malakhovsky P. O., Rashkevich A. V., Minakov E. A., Artemyev M. V.</i> Aggregative stability of colloidal 3D and 2D silver nanoparticles, stabilised by 11-mercaptoundecanoic acid, in the presence of singly charged cations.....               | 3  |
| <i>Yurkshtovich Y. N., Blokhin A. V.</i> Thermodynamic properties of temozolomide in crystalline and gaseous aggregate states.....                                                                                                                  | 18 |
| <i>Leschev S. M., Pakhadnia Y. G., Ahabalayeu A. A., Zayats M. F.</i> Extraction of anabolic steroids with aqueous-organic mixtures from hexanic solutions.....                                                                                     | 31 |
| <i>Panada J. U., Klopava V. A., Kulahava T. A., Faletrov Y. V., Horetski M. S., Frolova N. S., Koran S. V., Fomina E. G., Shkumatov V. M.</i> Influence of 3-acetyl-5-hydroxy-2-methylindole on glioma cell proliferation and metabolism.....       | 43 |
| <i>Belov D. A., Faletrov Y. V., Yakovets P. S., Shkumatov V. M.</i> Fluorescein dihexanoate as a profluorescent marker for monitoring of hydrolytic destruction of polylactide-based materials.....                                                 | 53 |
| <i>Dudko A. R., Horetski M. S., Frolova N. S., Faletrov Y. V., Shkumatov V. M.</i> Fluorescent properties and protein-ligand interactions of boron dipyrromethene molecular rotor .....                                                             | 61 |
| <i>Kudaka A. A., Vorobyova T. N.</i> Properties of nickel – tin coatings deposited from aqueous and non-aqueous electrolytes .....                                                                                                                  | 72 |
| <i>Degtyarik M. M., Lyakhov A. S., Grigorieva I. M., Ivashkevich L. S., Grigoriev Yu. V., Ivashkevich O. A.</i> Synthesis and structure of copper(II) thiocyanate and nitrate complexes with 1- <i>tert</i> -butyl-1 <i>H</i> -1,2,4-triazole ..... | 83 |

*Журнал включен Высшей аттестационной комиссией Республики Беларусь в Перечень научных изданий для опубликования результатов диссертационных исследований по химическим наукам.*

*Журнал включен в библиографическую базу данных научных публикаций «Российский индекс научного цитирования» (РИНЦ).*

**Журнал Белорусского  
государственного университета. Химия.  
№ 1. 2022**

Учредитель:  
Белорусский государственный университет

Юридический адрес: пр. Независимости, 4,  
220030, г. Минск.

Почтовый адрес: пр. Независимости, 4,  
220030, г. Минск.

Тел. (017) 259-70-74, (017) 259-70-75.

E-mail: [jchem@bsu.by](mailto:jchem@bsu.by)

URL: <https://journals.bsu.by/index.php/chemistry>

«Журнал Белорусского государственного  
университета. Химия» издается с января 1969 г.  
До 2017 г. выходил под названием «Вестник БГУ.  
Серия 2, Химия. Биология. География»  
(ISSN 2308-9164).

Редакторы *О. А. Семенец, М. А. Подголина*  
Технический редактор *Д. Ф. Козут*  
Корректор *Л. А. Меркуль*

Подписано в печать 28.02.2022.  
Тираж 100 экз. Заказ 2426.

Издательско-полиграфическое частное  
унитарное предприятие «Донарит».  
Свидетельство о государственной регистрации  
издателя, изготовителя, распространителя  
печатных изданий № 1/289 от 17.04.2014.  
Ул. Октябрьская, 25, 220030,  
г. Минск, Республика Беларусь.

© БГУ, 2022

**Journal  
of the Belarusian State University. Chemistry.  
No. 1. 2022**

Founder:  
Belarusian State University

Registered address: 4 Niezaliežnasci Ave.,  
Minsk 220030.

Correspondence address: 4 Niezaliežnasci Ave.,  
Minsk 220030.

Tel. (017) 259-70-74, (017) 259-70-75.

E-mail: [jchem@bsu.by](mailto:jchem@bsu.by)

URL: <https://journals.bsu.by/index.php/chemistry>

«Journal of the Belarusian State University. Chemistry»  
published since January, 1969.  
Until 2017 named «Vestnik BGU.  
Seriya 2, Khimiya. Biologiya. Geografiya»  
(ISSN 2308-9164).

Editors *O. A. Semenets, M. A. Podgolina*  
Technical editor *D. F. Kogut*  
Proofreader *L. A. Merkul'*

Signed print 28.02.2022.  
Edition 100 copies. Order number 2426.

Publishing and printing private  
unitary enterprise «Donarit».  
Certificate of state registration of the publisher,  
manufacturer, distributor of printed publications  
No. 1/289 dated 17.04.2014.  
25 Kastyryčnickaja Str.,  
Minsk 220030, Republic of Belarus.

© BSU, 2022