УДК 544, 544.478+612.176.2+612.173.2

№ Держреєстрації 0120U105074

Інв. №

Національна Академія Наук України

Інститут хімії поверхні (ІХП) ім. О.О. Чуйка

03164, м. Київ, вул. Генерала Наумова, 17, Тел.-Факс: 380 (44) 424-3567

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор ІХП

ім. О. О. Чуйка НАН України

академік НАН України

_____ М. Т. Картель

_____ 2021 р.

ЗАКЛЮЧНИЙ НАУКОВИЙ ЗВІТ ПРО РЕЗУЛЬТАТИ РЕАЛІЗАЦІЇ ПРОЕКТУ

2020.01/0107 за договорами № 191/01.2020 (від 06.11.2020) та № 80/01/0107 (від 30.04.2021)

РОЗРОБКА НАНО-АНТИОКСИДАНТІВ НА ОСНОВІ ГРАФЕНУ ДЛЯ ТЕРАПІЇ СЕРЦЕВО-СУДИННИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

Науковий керівник НДР

с. н.с., к.х.н. К. В. Войтко

Рукопис закінчено 15 грудня 2021 р.

2021

Результати роботи розглянуто Вченою радою Інституту хімії поверхні (ІХП) ім. О.О. Чуйка, протокол № ___від _____

СПИСОК АВТОРІВ

Керівник:

с.н.с. канд.хім.наук К. В. Войтко (розд. 2, 3)

Постановка експерименту; якісний і кількісний аналіз отриманих результатів; модифікація та характеризація хімії поверхні; досліди in vitro; написання публікацій; участь в конференціях; популяризація отриманих наукових результатів.

Виконавці

н.с., канд. хім. наук С.В. Журавський (розд. 1, 2)

Поверхнева модифікація вуглецевих матеріалів; допування атомами азоту та атомами металу; хімічна іммобілізація та фізична адсорбція ферментів на поверхні графену.

с.н.с., д. ф.-м. наук Ю. І. Семенцов (розд. 1, 2)

Синтез нанорозмірних вуглецевих матеріалів – оксидів графену високої чистоти та їх відновлених форм; опис та характеристика отриманих зразків.

с.н.с. канд.хім.наук Є.М. Дем'яненко (розд. 4)

Теоретичні квантово-хімічні розрахунки; вивчення механізму реакції вловлення вільних радикалів вуглецевою поверхнею.

аспірант А.М. Гринько (розд. 3)

Вивчення кінетики вловлення вільних радикалів ферментами, графенами та їх модифікованими формами в реакціях in vitro.

РЕФЕРАТ

Звіт про НДР: 107 стор., 4 розд., 68 рис., 11 табл., 101 джерело.

ОКСИДИ ГРАФЕНУ, МОДИФІКУВАННЯ ПОВЕРХНІ, ВІЛЬНІ РАДИКАЛИ, ФЕРМЕНТИ, КВАНТОВО-ХІМІЧНІ РОЗРАХУНКИ

Обєкти дослідження зразки оксиду графену високої чистоти та його модифіковані форми, реакції вловлювання вільних радикалів.

Метою дослідження було розробити серію нових високоефективних антиоксидантів на основі нанорозмірних графенів як потужних серцево-судинний протекторів, перевірити їхню антиоксидантну здатність в реакціях вловлювання вільних радикалів та дослідити основні принципи механізму їх дії за допомогою квантово-хімічних методів моделювання.

Методи дослідження рентгеноструктурний аналіз, СЕМ, КР, РФЕС, ТПД-МС, лазерно-кореляційна спектроскопія, УФ, фотолюмінісцентна спектроскопія, титрування за Бьому, вольюмометрія, квантово-хімічні методи дослідження.

Результати В роботі виконано цикл досліджень щодо вивчення закономірностей синтезу зразків оксиду графену високої чистоти та методів його модифікування. Детально вивчено структурні параметри та хімія поверхні отриманих матеріалів. Було показано, що синтезовані наночастинки мають чітку кристалічну структуру та велику кількість кисневмісних функціональних груп , що сприяє їх розчиненню у фізіологічних розчинах, а отже, збільшує їхню біосумісність. Модифіковані зразки мають у своєму складі гетероатоми азоту, сірки, селену і мангану, про що свідчать дані ІЧ-спектроскопії. Вихідні та модифіковані Mn-порфірином зраки проявляють найвищу активність в реакціях вловлювання ОН-радикалу та супероксиданіон-радикалу. Отримані результати квантово-хімічних досліджень добре узгоджуються із емпіричними даними. Енергетичний ефект взаємодії супероксидного радикала з Mn-порфірином в присутності графеноподібної матриці є від’ємною величиною, що свідчить про високу термодинамічну ймовірність утворення такого комплексу та перебіг реакції вловлювання супероксидрадикала на його поверхні.

ABSTRACT

GRAPHEN OXIDE, SURFACE MODIFICATION, FREE RADICAL, ENZYME, QUANTUM-CHEMICAL CALCULATION

Research Objectives graphene oxide samples of high purity and its modified forms, free radical scavenging reactions.

The Aim of the Study to develop a series of new high-performance antioxidants based on nanoscale graphene as powerful cardiovascular protectors, to test their antioxidant capacity in free radical scavenging reactions and to investigate the basic principles of their mechanism of action using quantum chemical simulation methods.

Methods X-ray diffraction analysis, SEM, RAMAN, XPS, TPD-MS, FTIR, laser correlation spectroscopy, UV, photoluminescent spectroscopy, Boehm titration, volumetry, quantum chemical research methods.

Results A set of experiments of synthesis the high-purity graphene oxide samples and methods of its modification is performed. The structural parameters and surface chemistry of the obtained materials are studied in detail. It was shown that the synthesized nanoparticles have a good crystal structure and a large number of oxygen-containing functional groups, which promotes their dissolution in physiological envinronment and, consequently, increases their biocompatibility. Modified samples contain heteroatoms of nitrogen, sulfur, selenium and manganese, as evidenced by IR spectroscopy. The original and Mn-porphyrin-modified samples showed the highest activity in the OH-radical and superoxide-anion-radical capture reactions. The obtained results of quantum chemical research are in good agreement with empirical data. The energy effect of the interaction of the superoxide radical with Mn-porphyrin in the presence of graphene-like matrix is a negative value, indicating a high thermodynamic probability of formation of such a complex and the superoxide radical scavenging on its surface.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, одиниць, скорочень і термінів …… 7

Вступ……. 9

1 СИНТЕЗ ЗРАЗКІВ ОКСИДУ ГРАФЕНУ ТА ЇХНЄ МОДИФІКУВАННЯ.. 14

1.1 Синтез вихідних зразків оксидів графену ……... 14

1.2 Синтез відновлених зразків оксиду графену ……..... 16

1.3 Синтез азотвмісних зразків оксидів графену ……. 17

1.4 Синтез сірковмісних зразків (модифікування L-цистеїном)……. 17

1.5 Синтез зразків, що містять азот і сірку (модифікування тіосечовиною)…….. 17

1.6 Синтез зразків, що містять селен (модифікування D/L-селеноцистеїном та ебеселеном)…… 18

1.7 Синтез зразків, що містить MnTBAP……... 18

1.8 Синтез зразків, що містить фермент СОД……... 20

2 ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРИ ТА ХІМІЇ ПОВЕРХНІ СИНТЕЗОВАНИХ НАНОАНТИОКСИДАНТІВ ……. 21

2.1 Методи характеристики морфології та структури ОГр…….. 21

2.1.1 Характеристика структури та морфології синтезованих ОГр... 22

2.1.2 Характеристика структури та морфології зразків ОГр фірми «Grafren AB»…… 32

2.1.3 Аналіз структурних даних модифікованих зразків…… 37

2.2 Методи аналізу хімії поверхні вихідних та модифікованих зразків ОГр…… 44

2.2.1 Характеристика хімії поверхні вихідних зразків оксиду графену фірми «Grafren AB» …….. 46

2.2.2 Аналіз хімії поверхні модифікованих зразків ОГр…… 48

3 ВЛОВЛЮВАННЯ ВІЛЬНИХ РАДИКАЛІ АФК ТА АФА ЗРАЗКАМИ ОГР ТА ЇХ МОДИФІКОВАНИМИ ФОРМАМИ…….. 55

3.1 Вивчення здатності синтезованих ОГр та його похідних щодо вловлювання ОН-радикалу……. 55

3.1.1 Визначення оптимальних умов проведення реакції……..... 55

3.1.2 Визначення константи швидкості реакції розкладання ПВ зразками ОГр та його модифікованими формами……. 58

3.1.3 Вплив pH та температури на здатність вловлювати ОН-радикали ……... 61

3.2 Вивчення здатності синтезованих ОГр та його похідних щодо вловлювання DPPH радикалу……. 63

3.3 Вивчення здатності синтезованих ОГр та його похідних щодо вловлювання супероксид радикалу (O_2^{-*})…….. 65

4 ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМУ ВЛОВЛЮВАННЯ АФК ТА АФА ГРАФЕНОПОДІБНОЮ ПЛОЩИНОЮ ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ КВАНТОВО-ХІМІЧНИХ МЕТОДІВ МОДЕЛЮВАННЯ ……... 67

4.1 Взаємодія СР із піреном та його похідними…… 67

4.2 Взаємодія СР із графеноподібною площиною $C_{42}H_{16}$, модифікованою різними функціональними групами……... 73

4.3 Квантово-хімічне дослідження взаємодії ебселену з графеноподібною площиною…….. 77

4.4. Взаємодія MnTBAP з СР за участі графеноподібної площини……. 84

ВИСНОВКИ…… 95

Публікації, підготовлені під час реалізації проекту…….. 97

ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ……... 99

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

Cu/Zn-СОД – мідь та цинквмісна супероксиддисмутаза

DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) – вільний радикал

EbSe-ОГр – оксид графену, модифікований ебселеном; селеновмісна похідна оксиду графену із органічним селеном

EC-СОД0 – міжклітинна супероксиддисмутаза

Mn-СОД – манганвмісна супероксиддисмутаза

N-ОГр – азотовмісна похідна оксиду графену

N/S-ОГр – оксид графену, модифікований тіосечовиною, похідна оксиду графену, що містить як атоми сірки так і азоту

S-ОГр – оксид графену, модифікований L-цистеїном; сірковмісна похідна оксиду графену

Se-ОГр – оксид графену, модифікований D/L-селеноцистеїном; селеновмісна похідна оксиду графену

АСМ – атомно-силова мікроскопія

АФК – активні формами кисню

АФА – активні форми азоту

В-ОГр – відновлена форма оксиду графену

Гр – графен

ГП – глутатіонпероксидаза

ДРС – динамічне розсіювання світла

ДТА – диференційно термічний аналіз

ІРП – ішемічно-реперфузійне пошкодження

ІЧ – інфрачервона спектроскопія

КАТ – каталаза

КДІ (EDC (1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride) – карбодіімід, зшиваючий реагент

КРС – комбінаційне розсіяння світла

ЛДІ МС– лазерно-десорбційні іонізація термо-десорбційна мас-спектрометрія

ЛКС – лазерна кореляційна спектроскопія

ОГр (GrO) –оксиди графену

ОГр@MnTBAP (GrO@MnTBAP) – оксид графену, модифікований MnTBAP, фізична адсорбція

ОГр@КДІ@MnTBAP (GrO@EDC@MnTBAP) – оксид графену, модифікований MnTBAP, хімічна іммобілізація

ОГр@СОД (GrO@SOD) – оксид графену, модифікований СОД, фізична адсорбція

ОГр@КДІ@СОД (GrO@EDC@SOD) – оксид графену, модифікований СОД, хімічна іммобілізація

ПВ – пероксид водню

ПВХ – полівінілхлорид

РФЕС – рентгенівська фотоелектронна спектроскопія

СЕМ – скануюча електронна мікроскопія

СОД (SOD) – супероксиддисмутаза

СОЄ – статична обмінна ємність

СР – супероксид-радикал

ССЗ – серцево-судинні захворювання

ТГА – термогравіметричний аналіз

ТПД МС – температурно-програмована десорбційна мас-спектрометрія

ФБ – фосфатний буфер (pH 7,4-7,8)

ФЛ – фотолюмінісценція

ЯМР – ядерно-магнітний резонанс

ВСТУП

Серцево-судинні захворювання залишаються головною причиною смертності у світі, а в Україні більше 45% від загальної смертності припадає саме на ССЗ [1, 2]. Ішемічно-реперфузійне пошкодження (ІРП) – це патологічний стан, який виникає при ССЗ, спричинений активними формами кисню (АФК), які ґенеруються в ендотеліальних клітинах коронарних судин або клітинах крові і кардіоміоцитах після ішемії чи гіпоксії [3, 4]. Такі АФК здатні напряму уражувати клітини серця та ініціювати серію хімічних реакцій та генетичних змін, посилюючи дисфункцію кардіоміцитів і/або цитотоксичность.

Найбільш небезпечними АФК є супероксид-аніон радикал (СР, O_2^{-*}), гідроксильний радикал HO^* та активні форми азоту (АФА), зокрема, пероксинітрит-аніон $ONOO^-$ [5, 6]. Шкідливий вплив АФК та АФА в живому організмі нейтралізується ферментативною антиоксидантною системою, до якої входять супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ) та глутатіонпероксидаза (ГП). Під час ІРП збільшення кількості АФК та АФА пригнічує механізм ендогенного захисту СОД-КАТ-ГП. Тому розробка нових екзогенних антиоксидантів є актуальний завданням через їхню потенційну дію в профілактиці та терапії хвороб, спричинених окисним стресом [7].

Головним ферментом антиоксидантної тріади залишається СОД. Існує 3 види цього ферменту, зокрема, Mn-СОД, Cu/Zn-СОД та ЕС-СОД0 [8]. Манганвмісна СОД локалізується переважно в мітохондріях, мідь- та цинквмісна – в цитоплазмі, тоді як ЕС-СОД0 зустрічається в міжклітинному просторі деяких тканин. Cu/Zn-СОД складає приблизно 90% всієї СОД активності в еукаріотичних клітинах [9]. Незважаючи на їх переважне розташування в цитозолі, невелика фракція цього ензиму була знайдена і в клітинних органелах, таких як лізосоми, пероксисоми та ядрі. Більше того, приблизно 2% Cu/Zn-СОД знаходиться в міжмембранному просторі мітохондрії, що призводить до додаткового захисту проти СР та запобігає проникненню їх із мітохондрії. Mn-СОД (88 кДа) локалізується виключно в мітохондріальній матриці та активується при опроміненні, гіпоксії та інших стресових для організму станах. Це свідчить про те, що робота Mn-СОД є

надважливою у захисті організму від СР при оксидативному стресі [10]. Більше того, рівень Mn-СОД знижується в багатьох ракових клітинах, а підвищений рівень цього ферменту запобігає їх розвитку [11-13].

Існує ряд сполук, що імітують дію СОД ферменту, зокрема, металопорфірини. Ці речовини легкопроникні для клітин, мають окисно-відновні властивості і виступають каталітичними антиоксидантами. Більшість металопорфіринів містять в своїй структурі Fe або Mn фрагмент, координований у чотирьох осьових лігандах азоту. Активність таких речовин сильно варіюється із зміною заряду, ліпофільністю, формою, об'ємом, гнучкістю обертання тощо [14, 15]. Mn-порфірини найпотужніші імітатори Mn-СОД ферменту були спеціально синтезовані для накопичення в мітохондріях, де вони діють як нативний фермент [16]. Як правило, металопорфірини з більшою активністю СОД мають більшу каталазоподібну активність, проте й вона становить менше ніж 1% від нативної КАТ. Антиоксидантна ефективність Mn-порфіринів in vivo залежить від їх біодоступності, тобто від тканинного, клітинного та субклітинного розподілу, а також природи N-піридильних заступників, які можуть змінювати їх заряд, розмір, форму та ліпофільність [17-19]. Атом Mn в порфіриновому кільці вступає в реакцію дисмутації з O_2^{*-} шляхом почергового відновлення і окиснення, змінюючи валентність з Mn(III) на Mn(II), подібно до СОД ферменту. Цей процес складається з двох етапів. На першому етапі Mn(III) відновлює радикал O_2^{*-} до O_2, змінюючи валетність до Mn(II) і ця стадія є лімітуючою. Другим етапом є окиснення атому Mn(II) із допомогою СР з наступним утворенням H_2O_2 та регенерацією Mn(III) порфіринів. Очевидно, що цей каталітичний цикл модулюється окисно-відновним потенціалом металу [15].

Одним із найпоширеніших Mn-порфіринів на сьогодні є MnTBAP (Mn(III)tetrakis(4-benzoic acid)porphyrin chloride), що широко використовується в фармакології для зменшення впливу оксидативного стресу in vivo [20]. На моделях клітинних культур було показано, що MnTBAP є ефективний на мікромолярних рівнях проти уражень спричинених паракватом, перекисом водню, ендотоксином та ін. Крім того, MnTBAP є потужним інгібітором апоптозу, що індукується

стауроспорином та керамідом. MnTBAP також проявив свою ефективнфсть у лікуванні уражень легенів тварин, спричинених паракватом, каррагінаном, та блеоміцином. У центральній нервовій системі, церебро вентрикулярна ін'єкція MnTBAP пригнічює каїнат-індуковану мітохондріальну продукція СР, окиснення ДНК та знижує кількість втрачених нейронів у гіпокампі [21]. Крім того було показано в дослідах in vivo, що MnTBAP знижує $ONOO^-$-індуковані окиснення та нітрування білків у спинному мозку щура [21-23]. Сьогодні ця сполука використовується для зменшення оксидативного стресу в ряді небезпечних хвороб [24-28].

Відомо, що MnTBAP, окрім СОД активності, має здатність поглинати $ONOO^-$ [29]. Більше того, MnTBAP не тільки перетворює O_2^{*-} в H_2O_2, але й каталізує розкладання пероксиду водню до кисню та води – тобто проявляє активність КАТ. Це блокує реакцію Габер-Вейса, зменшуючи утворення ОН-радикалів, тим самим знижуючи рівень ураження від АФК та АФА. Ці результати свідчать про те, що антиоксидант MnTBAP може бути використаний в терапії серцево-судинних захворювань як протекторних препарат із терапевтичною та профілактичною дією, оскільки має високу проникність для клітин, низьку токсичність і широкий спектр дії щодо вільних радикалів.

Нещодавно було встановлено, що наноматеріали також можуть імітувати властивості антиоксидантних ферментів, нейтралізуючи АФК та АФА, пригнічувати апоптоз та покращувати виживання клітин після ІРП [30]. Показано, що наночастинки оксидів металів, благородних металів, галогеніди металів, гібридні матеріали володіють ферментоподібною активністю [30-34]. Вуглецьвмісні наноматеріали також можуть поглинати АФК та АФА, завдяки своїм електроно- та протонодонорним властивостям, а також своїй здатності утворювати на ділянках з sp^2-гібридизованим карбоном радикальні аддукти [35, 36]. Вуглецеві матеріали проявляють високу ефективність щодо OH^*-радикалів, та помірну активність щодо H_2O_2, ліпідних пероксильних радикалів та стабільних радикалів DPPH та ABTS [37-41].

Графен має ряд унікальних особливостей, серед яких висока площа доступної поверхні відіграє чи не найважливішу роль. Його антиоксидантна активність залежить від електронної густини, хімії поверхні та вмісту sp^2-гібридизованого вуглецю. Також Гр є чудовим матеріалом для цільового модифікування поверхні. Органічні молекули за допомогою ковалентних та нековалентноих взаємодій можуть бути іммобілізовані через їхню легку взаємодію із зовнішніми π-орбіталями [42, 43]. Активні центри вловлювання АФК можнуть бути утворені за рахунок імпрегнації гетероатомів (N, O, S, B), створення додатковий дефектів кристалічної градки або метало-хелатних центрів на поверхні Гр, які значно підвищують його ефективність. Відомо, що добре диспергований графен є колоїдною системою із легким доступом реагентів і низьким опором масопереносу і, як наслідок, легко проникає в клітину [44].

Дослідження нанорозмірних матеріалів на основі графену для біомедичного застосування знаходяться на ранніх стадіях, а отже, існує необхідність у систематичних, комплексних та фундаментальних роботах у цій галузі як в українській так і світовій науковій практиці. Нове покоління антиоксидантів потребує абсолютно нових матеріалів, які є більш активними та селективними, складаються переважно з вуглецю (вуглець вважається найбільш сумісною структурою з організмами та тканинами живих істот), зменшуючи токсичність та покращуючи біосумісність. Графеновий лист є прекрасним кандидатом для розробки нових антиоксидантів, які стануть чудовою альтернативою існуючим антиоксидантам, включаючи ферменти, що беруть учать у захисній антиоксидантній функції організму, та будуть значно прискорювати реакції вловлення вільних радикалів при ішемії/реперфузії. Тому метою дослідження було обрано розробити серію нових високоефективних антиоксидантів на основі нанорозмірних графенів як потужних серцево-судинний протекторів, перевірити їхню антиоксидантну здатність в реакціях вловлювання активних форм кисню та азоту *in vitro* та *in situ* з використанням моделі ішемії/реперфузії у доклінічних дослідженнях та дослідити основні принципи механізму їх дії за допомогою квантово-хімічних методів моделювання.

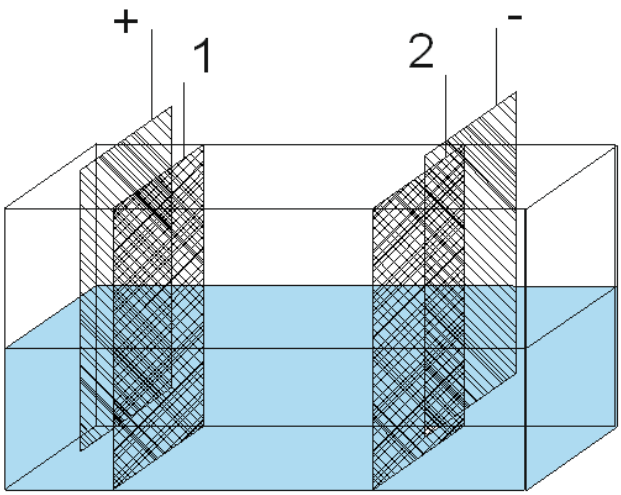
В попередніх проміжних звітах за 1-й етап 2020 року та 2021 року були детально висвітлені основні результати щодо синтезу та модифікування зразків оксидів графену гетероатомами, їх детальна характеристика, каталітичні властивості в реакції розкладання пероксиду водню та квантово-хімічні розрахунки. Заключний звіт містить попередньо отримані дані а також нові результати, що стосуються модифікування зразків ОГр атомами мангану у вигляді Mn-порфірину та СОД ензимом, їх характеристику та дослідження каталітичної активності щодо вловлювання АФК та АФА. В останньому розділі також представлені результати квантово-хімічних досліджень взаємодії графенової матриці, модифікованої MnTBAP із супероксидним радикалом.

1 СИНТЕЗ ЗРАЗКІВ ОКСИДУ ГРАФЕНУ ТА ЇХНЄ МОДИФІКУВАННЯ

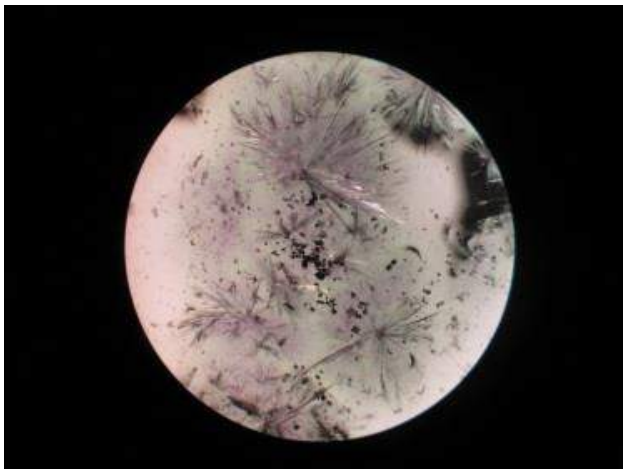
1.1 Синтез вихідних зразків оксидів графену

Гр являє собою одиничну графітову площину, в якій sp^2-гібридізовані атоми вуглецю утворюють гексагональну ґратку, яка є «будівельним блоком» графіту, нанотрубок, інтеркальованих сполук графіту та інших вуглецевих матеріалів. Багатошарові Гр, що складаються з двох і більше шарів (до десяти), також як і моношар Гр, мають унікальні фізико-хімічними властивості [45-48]. Тому вони широко досліджуються як індивідуальні частки, у вигляді суцільних плівок і як наповнювачі полімерних матеріалів [49-54]. Багатошарові Гр можна отримувати методом розщеплення різноманітних вуглецевих матеріалів. Проблема одержання Гр полягає не в самому факті його виробництва, а в тому щоб метод дозволяв отримувати частинки заданих розмірів та властивостей тобто дозволяв керувати їхніми характеристиками [49]. Перспективними до масштабного виробництва та відносно нескладного модифікування властивостей Гр вважаються методи з використанням дисперсій на основі сполук, які містять графенові шари. Такі дисперсії одержують з природного графіту, штучного високоорієнтованого піролітичного або терморозширеного графіту, сполук інтеркалювання графіту, оксиду та фториду графіту, вуглецевих нанотрубок тощо. Серед цих методів можна виділити електрохімічне або анодне окислення графітоподібних структур, як метод, що дозволяє регулювати умови процесу та властивості кінцевого продукту, що одержується [51, 55, 56].

Наночастки Гр одержували методом вторинного «інтеркалювання» електродів з графітової фольги (за ТУ У 26.8-30969031-002-2002) у фосфатному буфері (pH 7,4) при пропусканні струму від 6,0 до 60,0 мА/см^2. Сепарацію наночасток забезпечувала мембрана з поліпропіленової тканини (рис. 1.1.).



(а)

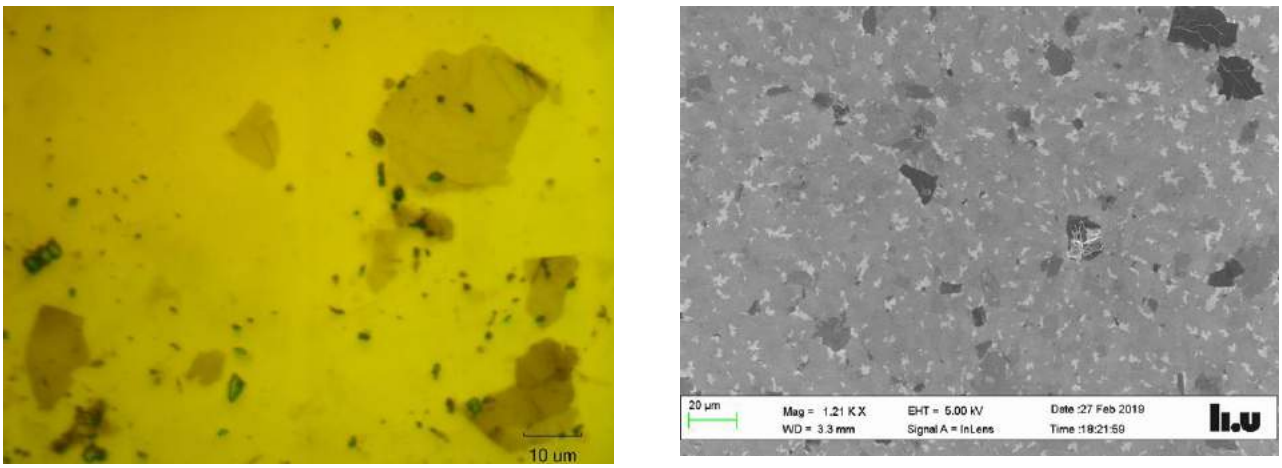


(б)

Рисунок 1.1 – Блок-схема анодного окислення (а); зображення структур частинок Гр після висихання суспензій на склі оптичного мікроскопу (б).

Зразки отримували у вигляді 20-22% водної пасти ОГр коричневого кольору, pH дисперсії 2,5-4 (в залежності від концентрації). Кількість шарів менше 10.

Для порівняння активності зразків ОГр, синтезованих в ІХП НАНУ, та отриманих за стандартами ЄС (ISO/TS 80004-13:2017 (E) Standard «Graphene and related two-dimentional 2D materials»), було проаналізовано вихідні ОГр фірми «Grafren AB». Зразки були отримані у вигляді темно коричневої водорозчинної пасти, концентрацією 20-25%. Заявлені вихідні параметри – кількість шарів 10-15, розмір частинок – 0,1-200 мкм, C/O атомне співвідношення 2,5-2,6. АСМ зображення частинок середнього розміру (<10 мкм) та малого розміру (0,5-2 мкм) представлено на рис. 1.2.



(а) (б)

Рисунок 1.2 – АСМ зображення частинок (а) середнього розміру (<10 мкм) та (б) малого розміру (0,5-2 мкм).

1.2 Синтез відновлених зразків оксиду графену

Зразки відновлених форм оксидів графену отримували за допомогою гідразину (рис. 1.2) [57].

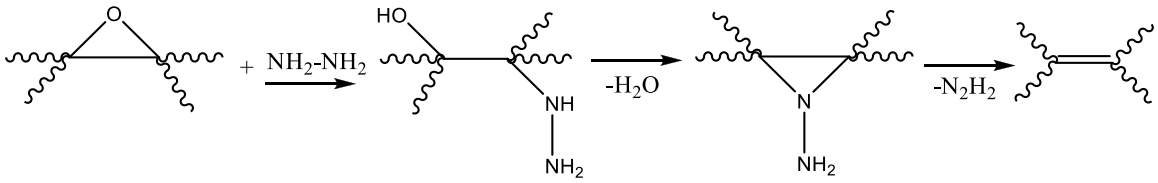


Рисунок 1.3 – Схема процесу відновлення оксидів графену гідразином.

Для цього 100 мг оксиду графену заливали дистильованою водою (V=100 мл) та диспергували ультразвуком (частотою 40 кГц) до отримання стабільної суспензії, що не має помітних агломератів. Після цього додавали 10 мл 99% $N_2H_4 \cdot HCl$ і кип’ятили протягом 24 год на водяній бані (100°С) з повітряним холодильником до отримання в колбі чорного осаду. Далі осад фільтрували та витримували в 1 М NaOH протягом 12 годин, а потім протягом ще 12 годин в 1М HCl. Отримані графени промивали дистильованою водою до нейтрального значення pH та висушували при 105°С протягом 4 годин. Відновлені зразки ОГр позначали як В-ОГр.

1.3 Синтез азотвмісних зразків оксидів графену

Для отримання азотвмісних похідних ОГр (N-ОГр) наважку окисненого зразку занурювали в 10% розчин сечовини та випаровували до постійної маси. Після цього проводили додаткову термообробку зразку протягом 1 години в інертній атмосфері (700-800°С), після чого промивали дистильованою водою до нейтрального pH та висушували протягом 4 годин при 105°С.

1.4 Синтез сірковмісних зразків (модифікування L-цистеїном)

Останні роки увагу дослідників привертає газовий трансмітер сірководень (H_2S), який в тандемі з NO відіграє важливу роль в розслабленні гладеньких м'язів переферичниих судин і регуляції редокс статусу організму. В експериментах на тваринах було показано, що введення донора H_2S гідросульфіду натрію (NaHS) пригнічує розвиток окисного стресу при діабеті та нирковій патології, коли спостерігається його дефіцит [58, 59]. Крім того NaHS попереджає реперфузійні пошкодження міокарда при ішемії-реперфузії [60]. Тому в роботі було отримано похідні ОГр із вмістом сірки, зокрема ОГр, модифіковані амінокислотою L-цистеїн (S-ОГр). З цією метою 30 мг ОГр розчиняли в 60 мл дистильованої води та 20 мл NaOH (pH 10-12). 0,25 г цистеїну розчиняли в 10 мл H_2O і додавали до попередньо приготованоїсуспензії ОГр при температурі 80°С. Нуклеофільне приєднання амінокислоти до поверхні ОГр проводили протягом 12 годин при температурі 80°С та 12 годин при кімнатній температурі. Зразки S-ОГр відмивали на проточній установці «Amicon» до отримання нейтрального pH фільтрату. В результаті синтезу було отримано 22 мг сірковмісних зразків.

1.5 Синтез зразків, що містять азот і сірку (модифікування тіосечовиною)

Для отримання зразків, що містять як атоми азоту (N/S-ОГр) так і сірки використовували метод, аналогічний описаному в п.п. 1.3 із використанням тіосечовини замість сечовини.

1.6 Синтез зразків, що містять селен (модифікування D/L-селеноцистеїном та ебеселеном)

Загальновідомо, що атоми селенію проявляють підвищену активність щодо вловлювання АФК та АФА [5, 61]. Тому нами були отримані зразки, модифікованих ОГр із вмістом амінокислоти D/L-селеноцистеїн. Для цього 100 мг ОГр розчиняли у 20 мл води та додавали 80 мг КДІ і розчиняли в УЗД бані протягом 30 хв. До 80 мг D/L-селеноцистеїну концентрацією 1 г/л додавали розчин гідроксиду амонію (pH 10,4) та отриманий розчин змішували із ОГр-КДІ. Отриману суміш нагрівали и протягом 20 год при темпеартурі 80°С. На УФ комірці «Amicon» промивали синтезовані зразки розчинами гідроксиду амонію, ацетоном, етиловим спиртом та ацетонітрилом, після чого відмивали дистильованою водою до отримання чистого фільтрату (процес контролювали із використанням ІЧ спектрометра). Зразки Se-ОГр висушували при температурі 105°С до постійної маси. Для проведення дослідів готували суспензію із концентрацією 0,02 г/л.

Ебселен – синтетичний лікарський препарат з протизапальною, антиоксидантною та цитопротекторною дією. Це речовина, що містить атом селену у вигляді гетероатому п’ятичленного кільця, довела свою дію як активний вловлювач вільних радикалів. Тому нами було отримано зразки ОГр із фізично адсорбованим Ебселеном на його поверхні (EbSe-ОГр). З цією метою 10 мг Ебселену розчиняли в 50 мл абс. етанолу та додавали до розчину ОГр концентрацією 1 г/л об’ємом 50 мл. Отриману суміш струшували протягом 24 год при кімнатній температурі. На УФ комірці «Amicon» промивали синтезовані зразки дистильовано водою до отримання чистого фільтату (процес контролювали із використанням ІЧ спектрометра). Зразки EbSe-ОГр висушували при температурі 105°С до постійної маси. Для проведення дослідів готували суспензію із концентрацією 0,02 г/л.

1.7 Синтез зразків, що містить MnTBAP

Зразки, що містять Mn-порфірин були отримані двома способами – фізичною адсорбцією та хімічною іммобілізацією із використанням КДІ (див рис. 1.4).

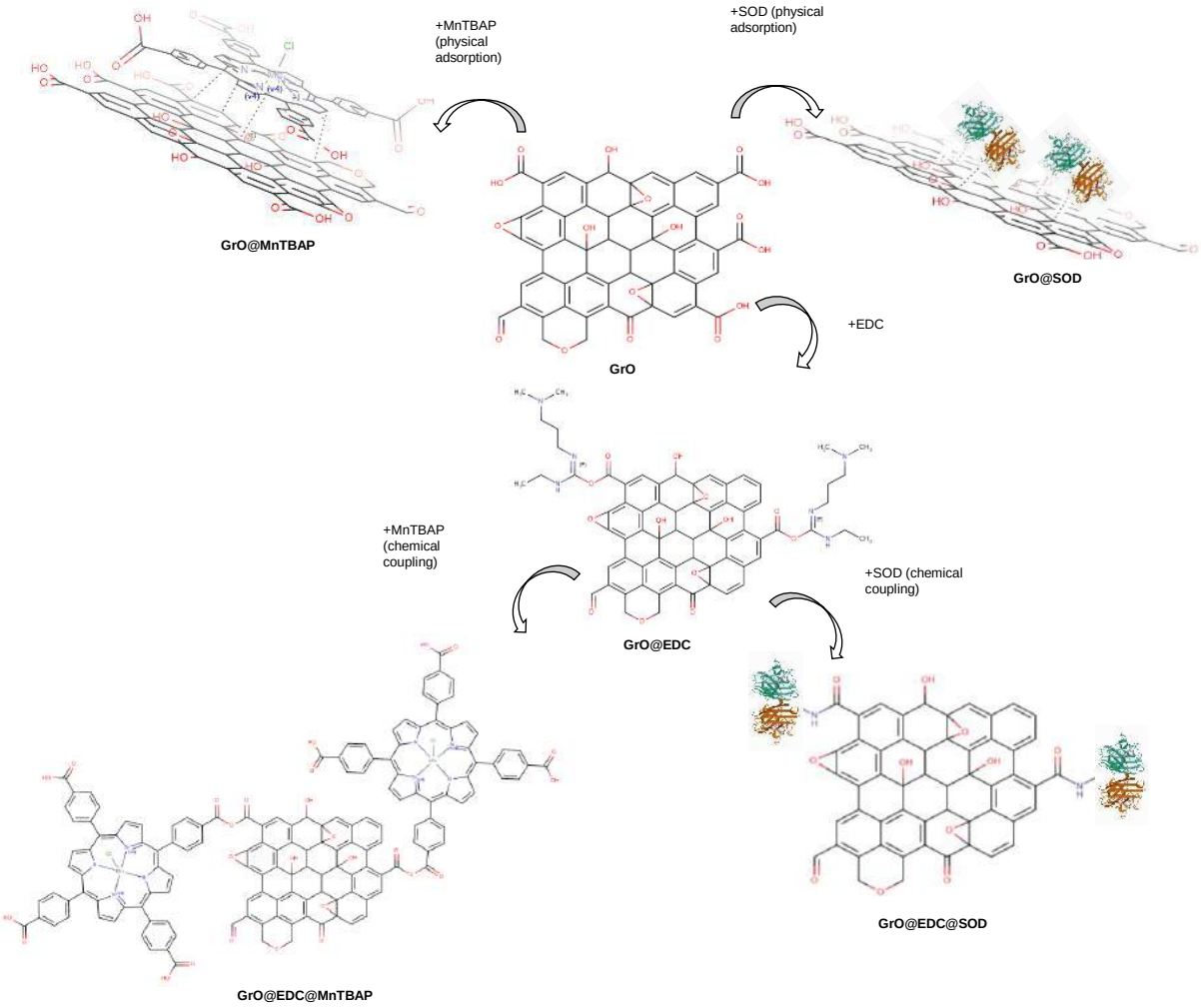


Рисунок 1.4 – Схема процесу модифікування ОГр MnTBAP та СОД ферментом.

Для отримання фізично адсорбованого MnTBAP на поверхні ОГр, змішували розчини ОГр концентрацією 1 мг/мл в ФБ (pH 7,4) та 0,1 мг/мл MnTBAP в тому ж буфері і залишали в холодильнику на 24 год. Промитий від залишків Mn-порфірину ОГр на УФ комірці «Amicon» висушували при кімнатній температурі. Отриманий зразок був позначений як ОГр@MnTBAP (GrO@MnTBAP).

Для хімічної іммобілізації MnTBAP на поверхні ОГр змішували розчини 0,1 мг/мл MnTBAP та попередньо отриманий розчин ОГр-КДІ (50 мг ОГр змішували із 10 мл ФБ та 40 мг КДІ. Розчин розчиняли в УЗД бані протягом 30 хв). Отриману суміш залишали в холодильнику на 24 години, а після промивали ФБ на УФ комірці до отримання чистого фільтрату. Зразок позначений ОГр@КДІ@MnTBAP (GrO@EDC@MnTBAP) висушували при кімнатній температурі до постійної маси.

1.8 Синтез зразків, що містить фермент СОД

Зразки із фізично адсорбованим ферментом СОД (ОГр@СОД (GrO@SOD)) та хімічно іммобілізованим – (ОГр@КДІ@СОД (GrO@EDC@SOD)) були отримані аналогічно методиці описаній в п.п. 1.7 із використанням розчину СОД об’ємом 5 мл і концентрацією 580 од.а./мл замість розчину MnTBAP (див. також рис. 1.4).

2 ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРИ ТА ХІМІЇ ПОВЕРХНІ СИНТЕЗОВАНИХ НАНОАНТИОКСИДАНТІВ

2.1 Методи характеристики морфології та структури ОГр

Водні дисперсії одержаних матеріалів були проаналізовані за розміром і масою частинок методом лазерної кореляційної спектроскопії за допомогою спектрометра «ZetaSizer 3» Malvern Instrument (Великобританія) з корелятором 7032 і гелій-неоновим лазером ЛГ-111 потужністю 25 мВт (довжина хвилі $\lambda = 633$ нм). Суспензії графенів, які досліджували, в кількості 1 мл в циліндричній скляній кюветі діаметром 10 мм розміщували в термостатовану комірку лазерного кореляційного спектрометра. Реєстрацію і статистичну обробку лазерного випромінювання проводили протягом 300-400 сек. Залежності реєструвалися в так званому «мономодальні» режимі по кілька разів після періодичного струшування кювети. В рамках даної методики вважається, що в такому режимі дисперсія є стабільною, за умови, що максимум розподілу не зміщується за рахунок «струшування» і «умовно стабільна» - в разі, коли максимум флуктуює біля деякого середнього положення. Якщо максимум розподілу зміщується в одну сторону, дисперсія вважається нестабільною. Коефіцієнт полідисперсності, що одержується, відображає середнє статистичне відхилення розмірів частинок від ідеальної сфери відповідного розміру, оскільки в цьому методі частки моделюються сферою.

Програмне забезпечення для ЛКС у відповідному режимі *CONTIN* («полі модальному» наближенні) також дозволяє визначати розподіл часток за об’ємами (у випадку сталої густини - за масами) та за кількістю часток певних розмірів, в наближенні сферичної форми часток.

Нанорозмірність Гр підтверджувалася дослідженнями спектрів комбінаційного розсіяння (спектрометр Brucker RFS 100/s, джерелом випромінювання служив аргоновий лазер, $\lambda = 514.5$ nm), знімками СЕМ (JSM-35, JEOL), рентгенофазовим аналізом та методом порошкової дифрактометрії (ДРОН-4 07 CuKα випромінювання з нікелевим фільтром у відбитому пучку, геометрія зйомки за Бреггу-Брентано). Термогравіметричні вимірювання, а саме втрату маси

(ТГ) і диференційно термічний аналіз (ДТА) проводили з використанням приладу «Derivatograf Q-1500 D» (Угорщина) в статичній атмосфері повітря. Зразок масою 100 мг нагрівали в керамічному тиглі від кімнатної температури до 1273 К зі швидкістю 10 К/хв.

Фотолюмінісцентні (ФЛ) спектри випромінювання і збудження були виміряні за допомогою уніфікованої інтерференційної решітки (1200 штрихів/мм), реєструвалися монохроматорами МДР-23 (лінійна дисперсія 0,5 мм/нм) або ДФС-12 (лінійна дисперсія 1 мм/нм), оснащених ФЕУ-100 або ФЕУ-79, відповідно. Як збуджуючі були використані монохроматори МДР-2 з інтерференційною ґраткою (1200 штрихів/мм, лінійна дисперсія 0,25 мм/нм) і подвійний призмою ДМР-4 (дисперсія становить від 0,5 до 0,05 мм/нм). Азотний лазер (з довжиною хвилі збудження, λех. = 337,1 нм), два лазера з діодним накачуванням (λех. = 473 і 532 нм, відповідно) і ксенонова лампа (ДКСШ-150) були використані в якості джерел збудження ФЛ. Спектри ФЛ були вивчені в залежності від довжини хвилі випромінювання збудження в широкому діапазоні довжин хвиль збудження і випромінювання (200-800 нм). Температура зразка була близько 300 К (кімнатна температура).

Мас-спектри зразків були отримані методом лазерної десорбції/іонізації на приладі Autoflex II LRF20, Bruker, Німеччина

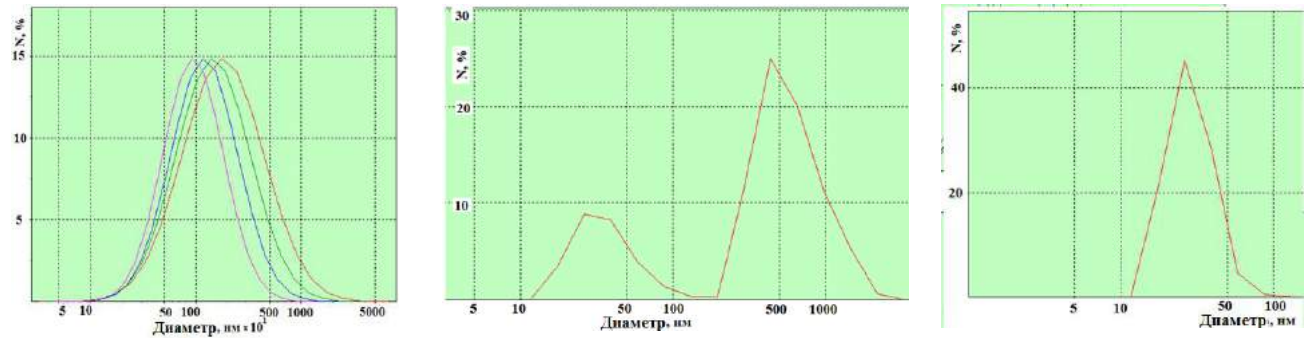
2.1.1 Характеристика структури та морфології синтезованих ОГр

Залежність розміру і форми (ступінь відхилення від сфери, відображає коефіцієнти полідисперсності) від параметрів процесу одержання наночастинок графенового матеріалу наведені в табл. 2.1.

Таблиця 2.1 – Розміри різних фракції часток ОГр одержані електрохімічним окисненням графіту

Середній розмір, нм	Розмір I фракції, нм			Розмір II фракції, нм			Полі-дисперсність
	Мін.	Макс.	Ймовірний	Мін.	Макс.	Ймовірний	
2162	8	130	40	130	31000	7954	1
623	12	300	54	300	25000	4133	1
1529	11	200	35	200	68000	16500	1
3251	11	280	35	280	70000	16500	1
1264	12	300	55	300	43000	10048	1
1349	12	200	40	200	3200	642	0,6
7049	33	800	42	800	8000	1664	1

ЛКС аналіз розміру часток показує, що у розчині присутні дві групи, які відрізняються за розміром. В суспензіях виявлені великі частинки (13 мкм), які з часом седиментували. Друга група з розмірами до 450 нм була більш стабільна (рис. 2.1).



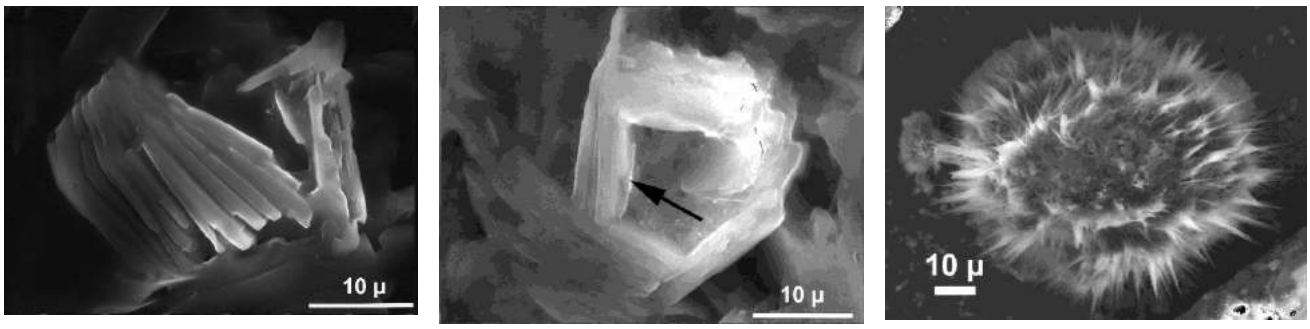
(а) (б) (в)

Рисунок 2.1 – Розподіл часток за розмірами в суспензії при «мономодальному» режимі (а), та «полімодальному» (б, в): б - режим розподіл часток за об’ємами (масою за умови постійної густини); в – розподіл часток за кількістю.

Дисперсія нестабільна в часі, результати слід вважати якісними. Середній розмір частинок ~ 1350 нм. Дві фракції: I фракція - від 10 до 200 нм, кількість -

99,9%, маса ~ 26%, найбільш ймовірний розмір ~ 40 нм; II фракція - від 200 до 3200 нм, кількість 0,1%, маса ~ 74%, найбільш ймовірний розмір ~ 640 нм; середня полідисперсність 0,6, тобто, частки мають форму не дуже далеку від сфери.

Методом СЕМ досліджували розбавлену у 20 разів суспензію, яку наносили на поверхню підкладок (плівок золота або вуглецю на склі), та висушували. Було виявлено два типи частинок (рис. 2.2 та 2.3) Перший тип представляє собою пластинчаті агломерати із упорядкованою будовою. Зустрічались такі частинки у вигляді стопок (рис. 2.2 (а)) або п'ятикутної порожньої призми (рис. 2.2 (б)) із пластинок. Другий тип частинок формується у ламінарну структуру схожу на «квітку» і складається з дуже тонких пластинок (рис. 2.2 (в)).

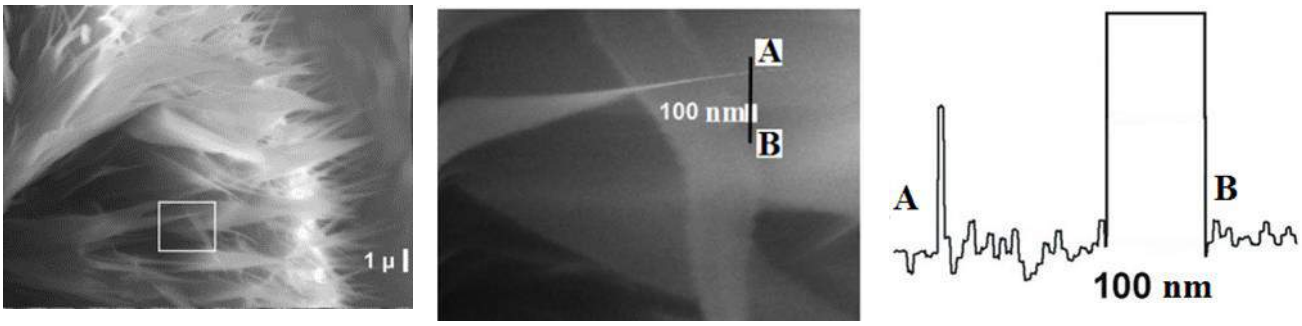


(а) (б) (в)

Рисунок 2.2 – СЕМ зображення графітової структури на вуглецевій поверхні: пластинчаті агломерати із упорядкованою будовою, у вигляді стопок, призми (а, б); агломерат дуже тонких пластинок «квітка» (в).

Різниця між цими частинками проявлялася не тільки в формі, але і в умовах їх формування, та товщині пластинок, із яких складалися ці утворення. Перший тип здебільшого спостерігався при повільному висиханні. Форма таких частинок була стабільною і не змінювалась при опроміненні електронним зондом. Мінімальна товщина окремих пластинок для цього типу складала 25-30 нм і була зафіксована для частинки на рис. 2.2 (б) в місці, відміченому стрілкою. Структури другого типу формувались переважно при швидкому висиханні суспензії, що стимулювалося підігрівом підкладки. Такі частинки частіше спостерігались на підкладках із золота. Товщина пластинок в них була визначена для частинки, зображеної на рис. 2.3 а і

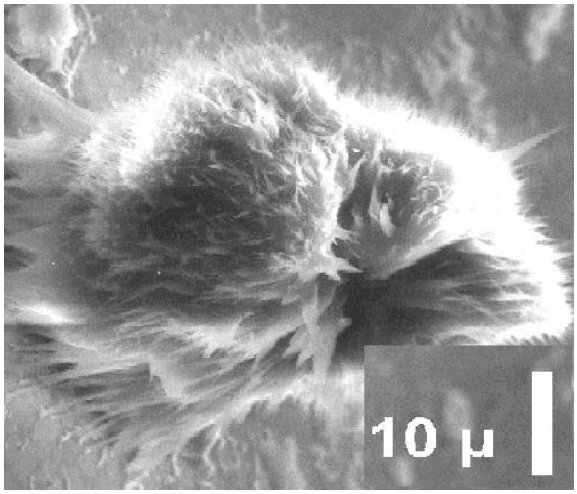
становить 5-7 нм. Це ілюструє рис. 2.3 (в), де крива показує зміну яскравості зображення вздовж лінії АБ. Ширина виступу в лівій частині відповідає розмірам пластинки, а в правій – маркеру в 100 нм. Оскільки значення 5-7 нм для цього типу СЕМ є максимальною роздільною здатністю, то можливо припустити, що товщина пластинок щонайменше вдвічі нижча і становить 3-4 нм тобто приблизно десять шарів.



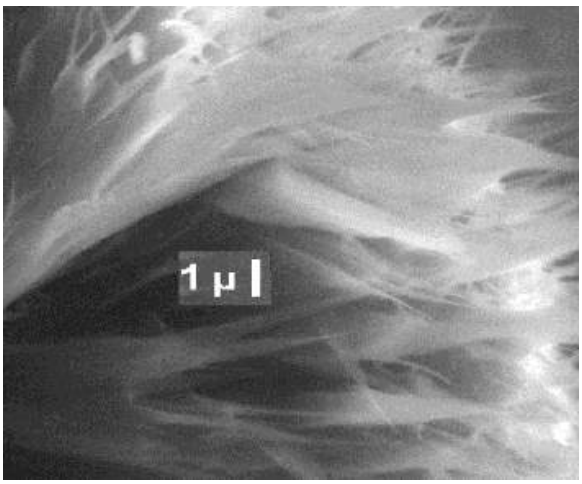
(а) (б) (в)

Рисунок 2.3 – СЕМ зображення графенових структур на поверхні золота (підкладка нахилена під кутом 60º до електронного зонду): графеноподібна частинка (а), збільшені зображення ділянок графеноподібної частки (виділена квадратом, б) та крива зміни яскравості зображення вздовж лінії А-В (в).

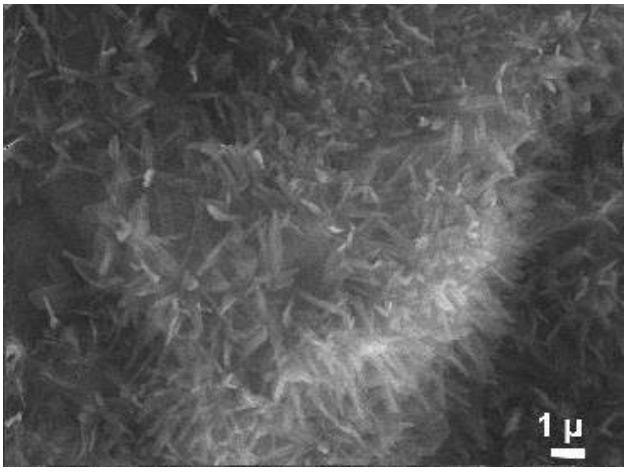
Дисперсії великої концентрації утворюють тверді плівки складної структури (рис. 2.4 (в-е)). Причому, в залежності від умов висихання, поверхня може бути більш рельєфною, з проявом вигляду індивідуальних Гр і більш «гладка» плівка. На рис. 2.4 (в, г) при «вільному» висиханні можна розрізнити агломерати Гр, а при висиханні під вакуумом, в обмеженому об’ємі, рельєф слабо виражений.



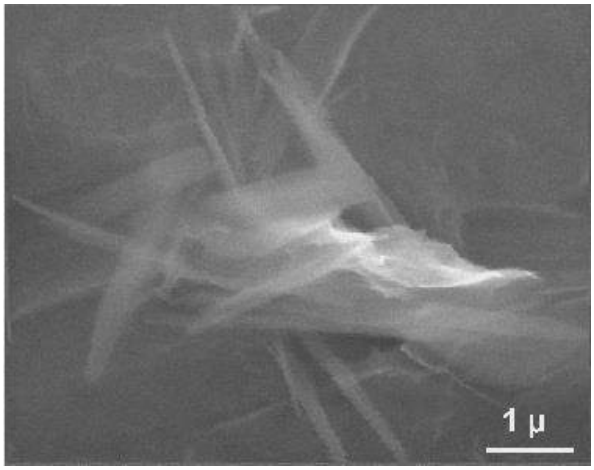
(а)



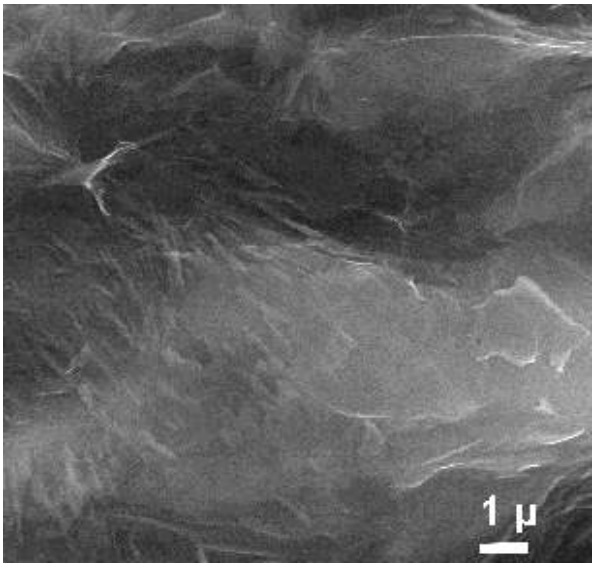
(б)



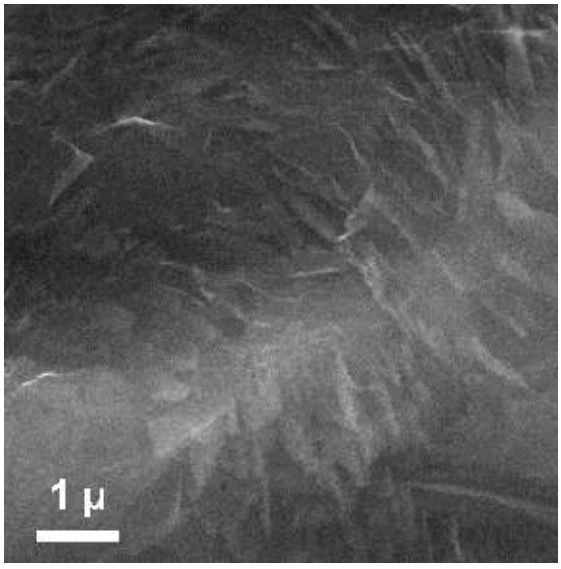
(в)



(г)



(д)



(е)

Рисунок 2.4 – СЕМ зображення зразків ОГр на золотій основі (а, б), суцільні плівки, отримані «вільним» висихання (в, г) та під вакуумом ~1 атм в обмеженому об’ємі (д, е).

На рис. 2.5 зображено спектри мікро-КРС ОГр на підкладці з полівінілхлориду (ПВХ).

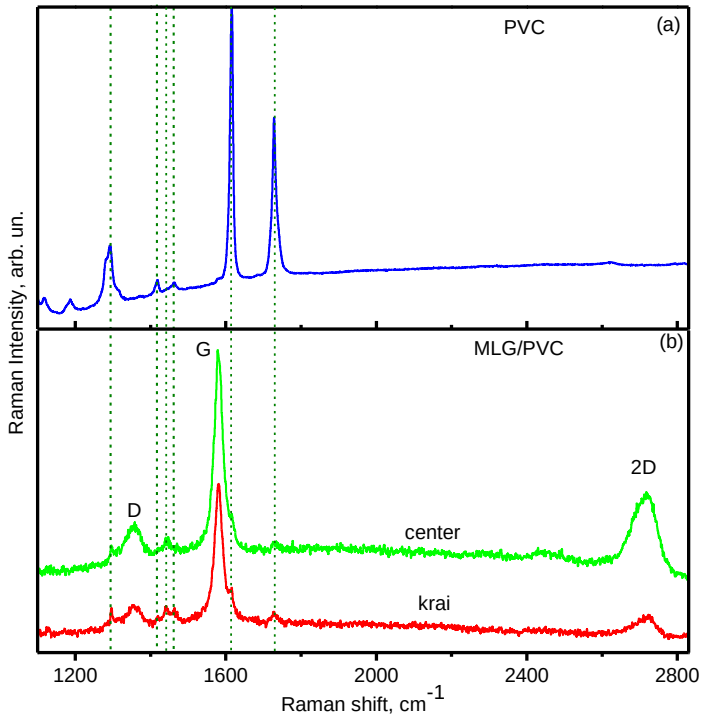


Рисунок 2.5 –Спектри мікро-КРС полімеру (ПВХ, а) та багатошарового ОГр (б) при $\lambda_л$ = 514.5 нм, Т = 300К.

Спектри КР зразків є типовими для дефектного багатошарового графену. У спектрах крім фононної G-смуги (“Graphitic”, E1g симетрії в Г-точці зони Брілюєна) першого порядку, що реєструється на частоті ~ 1581 см$^{-1}$ і відповідає валентним коливанням sp^2-зв’язаних атомів вуглецю, реєструється також дефектна D-смуга (“Defect”) з частотою ~ 1353 см$^{-1}$, поява якої зумовлена розсіянням на дефектах структури [62] і яка відсутня у вихідному графіті [63]. Відносна інтенсивність і півширина (FWHM) D і G смуг відображає ступінь розупорядкування матеріалу (більше уширення смуг відповідає вищому ступеню розупорядкування) [64]. Також у спектрі проявляється 2D фононна смуга другого порядку на частоті ~ 2713 см$^{-1}$ [62]. Мала інтенсивність та неоднорідний контур цієї смуги вказують на велику кількість шарів графену в досліджуваному зразку. Крім того у спектрі мікро-КРС реєструються додаткові смуги при ~ 1291 см$^{-1}$, 1415 см$^{-1}$, 1439 см$^{-1}$, 1461 см$^{-1}$, 1611 см$^{-1}$, 1728 см$^{-1}$, поява яких зумовлена внеском від

полімерної підкладки, що можна бачити, якщо співставити спектр мікро-КРС підкладки зі спектром багатошарового графену на полімерній підкладці.

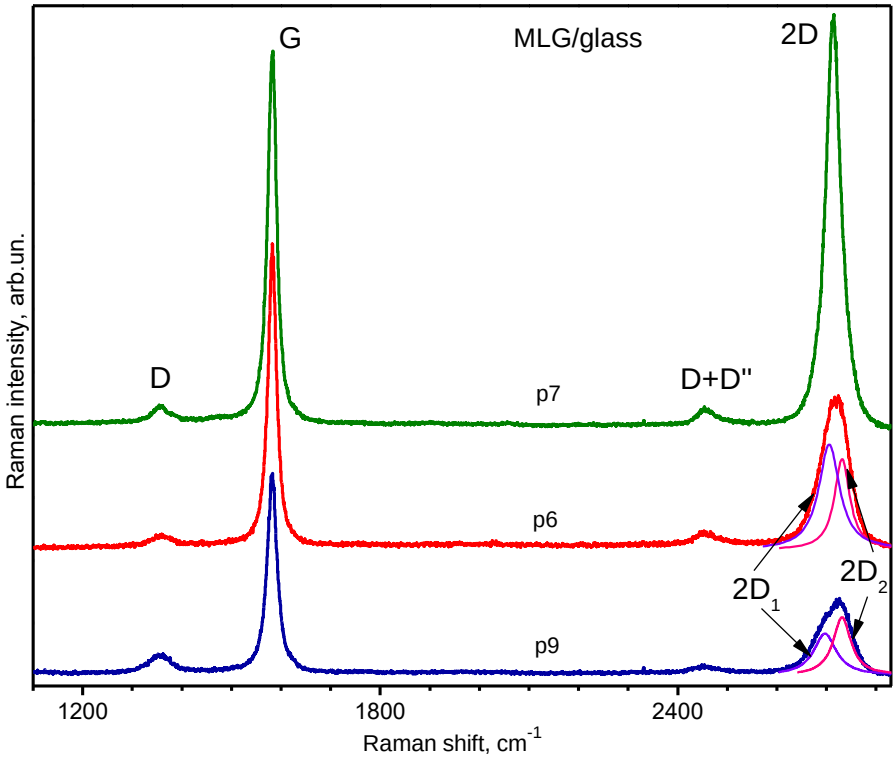


Рисунок 2.6. – КРС спектри наночасток ОГр на склі.

На рис. 2.6 зображено спектри КРС багатошарового графену на склі (MLG/glass), поміряні у різних точках зразка (p6, p7, p9). В спектрах реєструються інтенсивна G смуга при ~ 1582 $см^{-1}$ і полоса другого порядку 2D ~ 2713 $см^{-1}$, з більшою ніж зазвичай інтенсивністю для вібрацій другого порядку. Останній факт може свідчити про подібність вуглецевих наноструктур, до систем, які виявляють сильну електрон-фононну взаємодію і сильну дисперсійну залежність D-моди. Більш провідні матеріали мають сильнішу електрон-фононну взаємодію, ніж напівпровідникові. Крім того, реєструються більш слабка смуга при 2451 $см^{-1}$ названа D'' [65], складається з сум мод D і D^1 (D^1- sp^3 при 1060-1080 $см^{-1}$), поява якої зумовлена не пружнім процесом розсіяння на комбінації D, D'' фононів країв зони Бріллюена. За симетричної однорідної 2D- смуги з інтенсивністю, що дорівнює G-смузі, спектр p6, картина відповідає багатошаровій наночастинці графену зі слабою взаємодією. Проте, якщо у випадку одношарового графену

інтенсивність 2D смуги десь у 4 рази перевищує інтенсивність G-смуги, то у нашому випадку відношення $I_{2D}/I_G = 1,12$.

Менше інтенсивність 2D смуги в даному випадку може бути обумовлена присутністю деякого разупорядкування структури графену, про що свідчить поява в спектрі дефектної D-смуги. Відомо, що поява і зростання по інтенсивності D смуги супроводжується відповідним падінням за інтенсивністю 2D смуги. Однак, також було показано, що для багатошарового графену, в якому відсутня AB - впорядкування шарів (AB - stacking order), навпаки, вони орієнтовані хаотично один по відношенню одного, також реєструється досить інтенсивна, симетрична 2D смуга. Однак ширина цієї смуги подвоюється в порівнянні з одношаровим графеном і становить ~ 50 $см^{-1}$ [66]. А в нашому випадку 2D FWHM = 31,4 $см^{-1}$, мало відрізняється від літературних даних для одношарового графену [66].

На дифрактограмі плівки ОГр (рис. 2.7), висушеної з водного розчину, присутній інтенсивний характерний для графіту пік (002) на куті 27°, що має широкий наплив в сторону малих кутів і мало інтенсивний, очевидно, другий порядок (004), на куті 55,5°. Ці лінії свідчать про присутність полікристалічного графіту. А значне розширення в бік малих кутів відповідає наявності рентгеноаморфной фази, тобто частинок досить малого розміру.

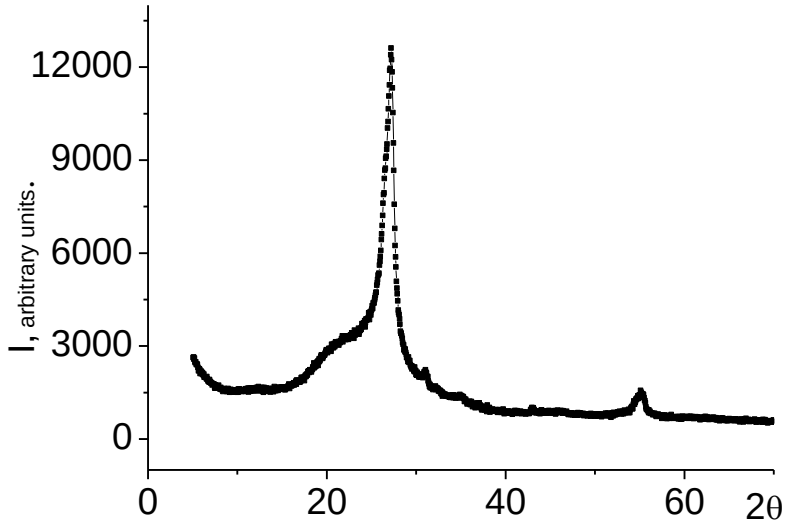


Рисунок 2.7 – Дифрактограма плівки з наночастинок графену.

На рис. 2.8 представлені залежності ТГ (1) і ДТА (2) плівок ОГр; температури 450, 620, 660, 690, 1020°К відповідають температурним аномаліям, за яких відбувається зменшення маси зразка шляхом термодеструкції певних компонентів.

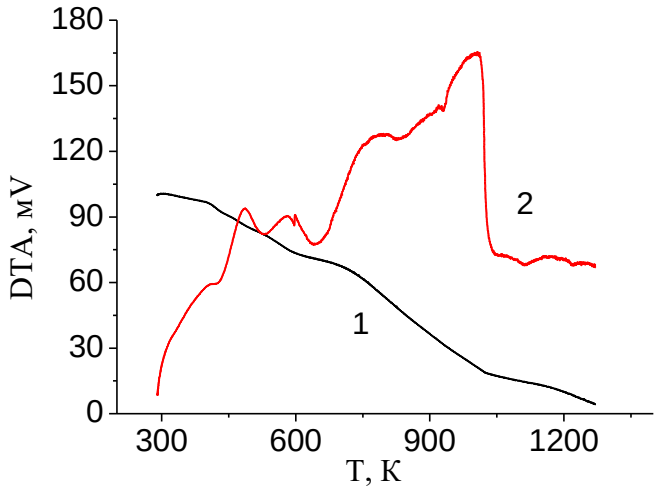


Рисунок 2.8 – ТГ (1) та ДТА (2) криві плівок ОГр.

Температурний злам при 450 К пов'язаний з десорбцією хімічно зв'язаної води, 620 К - з деструкцією аморфного вуглецю, 660 К - з плавленням буферу, а 1020 К - окисленням полікристалічного графіту (великих часток). В температурному діапазоні 450-620 К відбувається втрата маси близько 18%, що свідчить про розкладання кисневмісних функціональних груп і супроводжується виділенням води і вуглекислого газу. У діапазоні 670-1020 К втрачається близько 50% початкової маси, що, очевидно, є результатом окислення наночастинок графену. Після 1020 К залишається тільки полікристалічний графіт (втрата маси до 17% мас.).

Дослідження оптичних характеристик проводилося на зразках стабільних дисперсій ОГр (колоїдів). З колоїду за допомогою фільтрації через фільтри Шотта, з розмірами пор 1 і 100 мкм було виділено два типи матеріалу. Тобто, розміри частинок в цих розчинах зменшуються в ряду: вихідний розчин, після фільтра 100 мкм і розчин після фільтра з порами 1 мкм. Відповідно три типи колоїдних зразків були позначені С1, С2 і С3. Седиментації цих зразків не спостерігалося протягом 6 місяців.

Поглинання колоїду було виміряне в діапазоні від ультрафіолету (УФ) до видимого світла. Крива оптичних спектрів поглинання не виявила будь-яких особливостей і показує монотонне зростання поглинання в діапазоні 600-300 нм (рис. 2.9). Така поведінка характерна для систем графену. Відсутні будь-які специфічні особливості на спектрах від деяких характерних домішок тощо. Колоїдні зразки характеризуються інтенсивної ФЛ, яка реєструється без будь-яких труднощів. Широка смуга випромінювання знаходиться в області 400-800 нм спостерігається в спектрах ФЛ зразків С1, С2, С3 при порушенні в широкому діапазоні довжин хвиль збудження, $\lambda_{зб.}$: 300-532 нм (рис. 2.10).

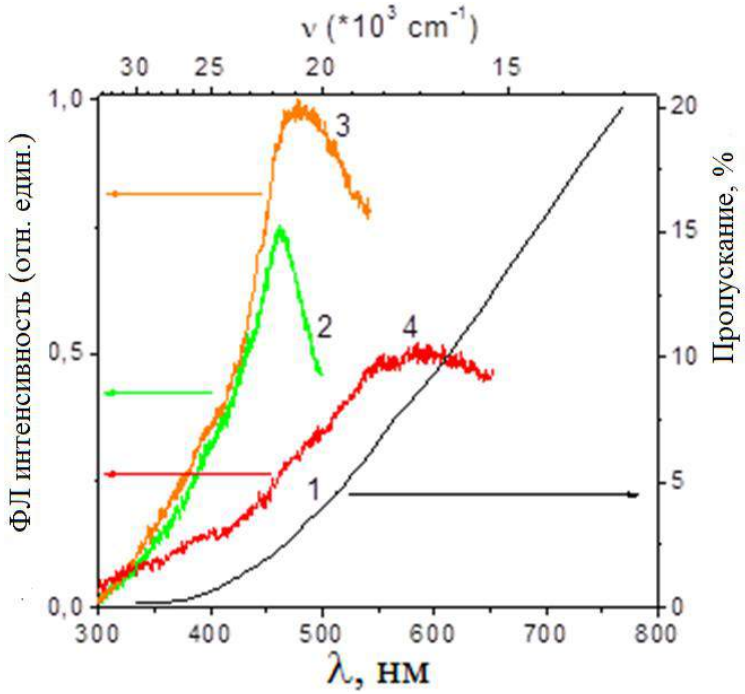


Рисунок 2.9 – Пропускання (крива 1) і спектри поглинання ФЛ (2 - 4) для зразків С1. $\lambda_{reg.}$ = 530 (2), 580 (3) и 700 нм (4), Т = 300 К.

Форма та положення піку, λ_{max}, смуги ФЛ залежить від λ_{ex}. Аналіз спектрів ФЛ отриманих при різних λ_{ex} показує, що λ_{max} зміщується в бік більшої довжини хвилі для всіх зазначених зразків якщо λ_{ex} збільшується (рис. 2.10). Два основних компоненти можна виділити в спектрах випромінювання. Існує коротка складова довжини хвилі, зелений - жовтий від 400 до 700 нм, і червоний компонент в діапазоні від 600 до 800 нм. Зелено-жовте випромінювання домінує в спектрах.

Червоний компонент чітко проявляється в спектрі ФЛ при λ_{ex} = 405 нм (рис. 2.10, крива 2).

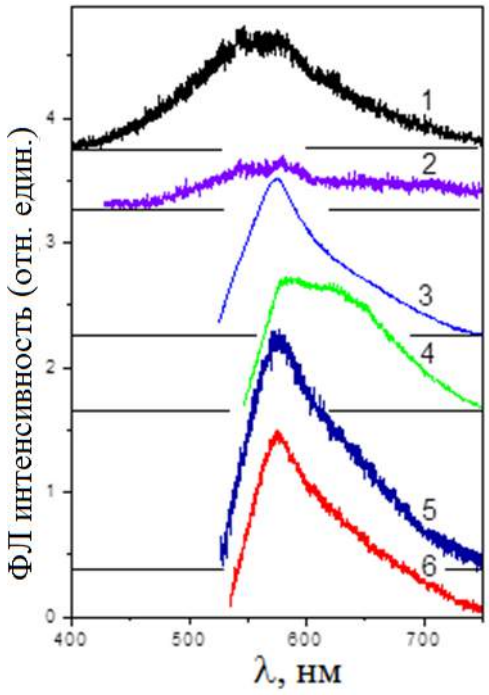


Рисунок 2.10 – Спектри ФЛ зразків С1 (1 - 4), С2 (5), і С3 (6); λ_{ex} = 337,1 (1), 405 (2), 473 (3, 5, 6) і 532 нм (4); Т = 300 К.

Фотолюмінесценція рідин збуджується у всьому спектрі поглинання. Збільшення довжини хвилі, де люмінесценції контролюється, призводить до зміщення спектрів збудження і максимум в область більш довгих хвиль. У той же час ми бачимо, що спектри збудження ФЛ зелено-жовтий і червоний компоненти явно відрізняються. Цей факт свідчить про те, що ми можемо констатувати наявність двох основних компонентів ОГр в колоїді.

2.1.2 Характеристика структури та морфології зразків ОГр фірми «Grafren AB»

Отримані зразки європейського гатунку дещо відрізнялися від синтезованих в ІХП ОГр. Основні відмінності наведені нижче. Стабільна суспензія вихідних ОГр із концентрацією 0,02 г/л має вузьке мономодальне розподілення частинок за розміром (рис. 2.11) з середнім гідродинамічним діаметром 1,5 мкм.

			Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm):	1531	Peak 1:	790,6	100,0	153,2
PdI:	0,608	Peak 2:	0,000	0,0	0,000
Intercept:	0,937	Peak 3:	0,000	0,0	0,000
Result quality	Refer to quality report				

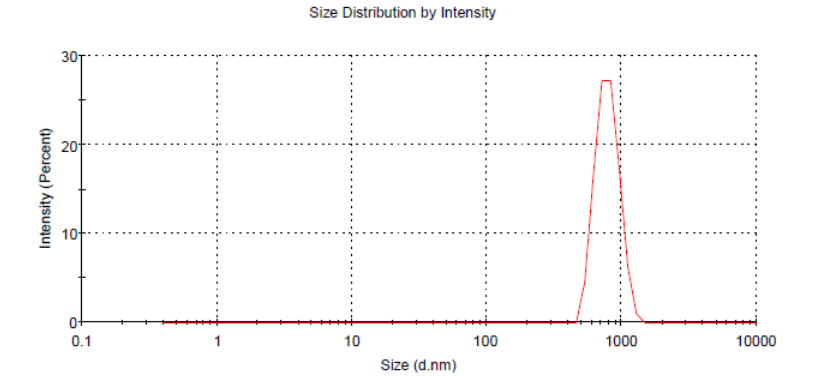


Рисунок 2.11 – Розподіл частинок ОГр за розміром.

Головною особливістю спектрів КРС графітової структури є так звана G-смуга (~1600 $см^{-1}$) із симетрією E1g у точці Г зони Брілюєна [67], що корелює із впорядкуванням кристалічної ґратки графіту. Другою особливістю графітоподібних матеріалів є смуга D, яка характеризує розупорядкування ґратки графенового шару [68] і стосується «дихальних» коливань кілець шару Гр в точці К зони Брілюєна. Мода другого порядку цієї вібрації (2D-смуга) зареєстрована на 2600-2700 $см^{-1}$, і вона має інтенсивність, яка зазвичай перевищує інтенсивність коливань другого порядку, і виявляє сильну електрон-фононну взаємодію. Раманівський спектр моношару Гр містить G і 2D смуги і не містить D-смугу, інтенсивність 2D-смуги більше, ніж G-смуги. Раманівський спектр наночастинок Гр містить смуги G, D та 2D аналогічно ВНТ.

Положення максимуму 2D-смуги може бути використано як характеристика для визначення кількості шарів у графенових листах [64, 69]. За даними [70] інтенсивність раманівського піку 2D (2650 $см^{-1}$) зменшується зі збільшенням (від одного до трьох) кількості шарів Гр. Структура електронної енергетичної смуги, розрахована за допомогою розширеної моделі сильного зв'язку, показує, що існує чотири та дев'ять можливих оптичних процесів у теорії подвійного резонансу для смуги 2D з подвійним та потрійним шарами Гр відповідно. Розрахунки інтенсивності КР показують, що положення кожного піку залежить від свого

хвильового вектору, і тоді смуга 2D подвійного та потрійного шару графену має три та п'ять компонентів відповідно.

Спектри КРС для ОГр представлено на рисунку 2.12 і мають типовий для такого матеріалу вигляд. Значення характеристик типових смуг наведено в таблиці 2.2. G-смуга (1592 $см^{-1}$) за частотою зміщена по відношенню до кристалічного графіту та теоретичного розрахунку для ідеальної гексагональної гратки (1580 $см^{-1}$), розширена – 110 $см^{-1}$, для графіту ~ 20 $см^{-1}$. Аналогічна зміна спостерігається для D-смуги: 1358 $см^{-1}$, для графіту – відсутня, для сажі – 1318 $см^{-1}$, для ОВНТ – 1275 $см^{-1}$, для багатошарових ВНТ – 1348 $см^{-1}$. На частоті 1141 $см^{-1}$ спостерігається смуга, яка відповідає sp^3-гібридзації, що пояснює експериментальний «синій» зсув G-смуги спектрів КР щодо графіту [71]. На частоті 1758 $см^{-1}$ спостерігається D'-смуга, яка не фіксується на Гр, але притаманна дефектному багатошаровому графену до якого можна віднести і оксид графену. 2D-смуга невеликої інтенсивності, але дуже розширена. Це не відповідає графену та багатошаровому графену, для яких характерна більша інтенсивність 2D-смуги по відношенню до G-смуги, але притаманна ОГр [72]. Смуга на частоті 3158 $см^{-1}$ складається з суми смуг D та D' і також свідчить про дефектну структуру матеріалу.

У роботі [73] запропоновано розрахунок товщини частинки графену L_a за наступною формулою:

$$L_a(nm) = (2.4 \times 10^{-10})\lambda_l^4 \left(\frac{I_D}{I_G}\right)^{-1} \quad (2.1)$$

де λ_l – довжина хвилі збуджуючого випромінювання (у нашому випадку це 488 нм), I_D – інтенсивність D–смуги, I_G – інтенсивність G-смуги. Враховуючи, що шари ОГр мають товщину близько 1,1 ± 0,2 нм згідно [74, 75] одержуємо, що кількість шарів нашого матеріалу становить 16±1 шар. У зв'язку з цим можливо область 2D-смуги має такий широкий і невиразний характер.

Таблиця 2.2 – Значення основних параметрів характерних смуг, що проявляються у мікро-КРС спектрах ОГр

Band	cm^{-1}	$*cm^{-1}$	Arbitrary	*Arbitrary	*FWHH	*Area
sp^3	1141.75	1134.43	4.168	3.393	122.56	442.68
D	1358.48	1358.48	27.862	24.431	186.45	4848.96
G	1592.37	1592.37	32.639	29.663	110.10	3476.47
D’	1757.60	1764.35	3.159	3.440	86.88	318.16
2D	2703.92	2694.00	6.343	6.537	200.00	1391.60
$2D_2$	2935.67	2936.33	7.479	7.227	198.39	1526.25
D+D’	3158.83	3168.83	4.544	4.341	200.00	924.17

*- розраховані значення з використанням розподілу Гауса

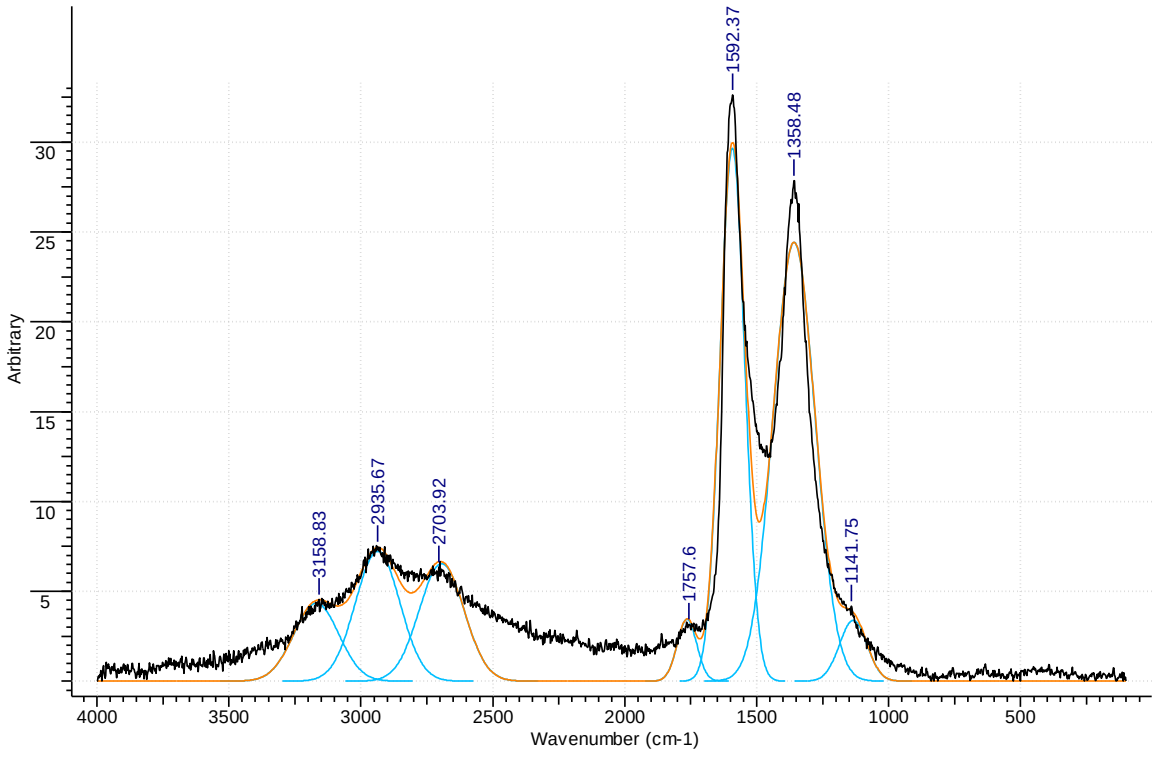


Рисунок 2.12 – Спектри комбінаційного розсіяння світла ОГр.

На рисунку 2.13 наведений мас-спектр ОГр, отриманий методом LDI-TOF-MS. Було показано, що ОГр має чітку кристалічну структуру, проте через велику

кількість sp^3-гібридизованого вуглецю зразок легко фототермічно розкладається під дією потужного лазерного випромінювання на маленькі фрагменти із масовою часткою m/z 12. Отриманий спектр ОГр має фрагментовані вуглецеві кластери із m/z 24 $[C_2]^-$, 36 $[C_3]^-$, 48 $[C_4]^-$, 60 $[C_5]^-$, 72 $[C_6]^-$, 84 $[C_7]^-$, 96 $[C_8]^-$, 108 $[C_9]^-$, 120 $[C_{10}]^-$, 132 $[C_{11}]^-$, 144 $[C_{12}]^-$, 156 $[C_{13}]^-$, а також $[O]^-$ та окиснені вуглецеві кластери m/z 96 $[C_4O_3]^-$ та 120 $[C_6O_3]^-$. Схожі результати були отримані в [76, 77].

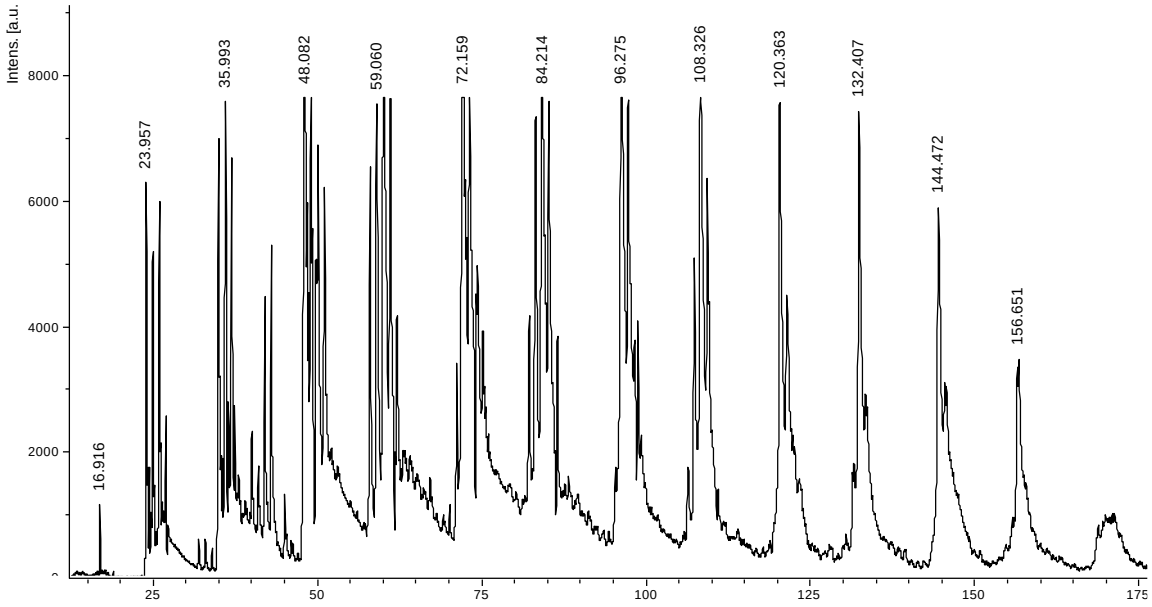


Рисунок 2.13 – Мас-спектр ОГр, отриманий методом LDI-TOF-MS.

Для отримання ТГА даних зразки (0,1–2 мг) нагрівали до 750 °C в молібденово-кварцовій ампулі. Отримані результати представлено на рис. 2.14.

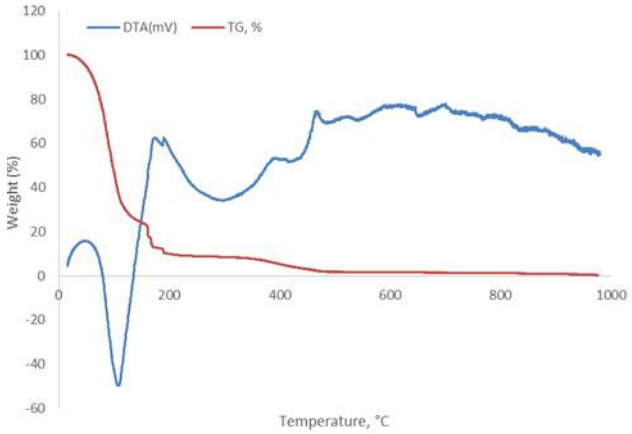


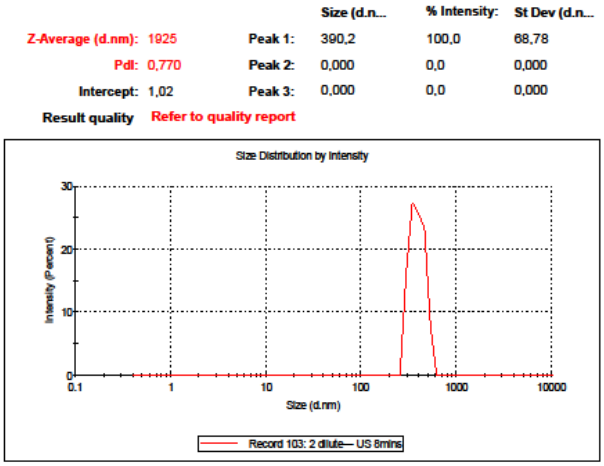
Рисунок 2.14 – ТГ/ДТА спектри ОГр.

В області температур від 50 до 150°С відбувається десорбція води зв'язаної на поверхні оксиду графену (ендотермічний процес, втрата 80% ваги). Тобто сухий залишок оксиду графену в пасті складає приблизно 20%. З 160 до 200°С відбувається розкладання кисневих груп, що входять до складу оксиду графену (екзотерміческій процес), тоді як з 300 до 470°С відбувається згорання залишків вуглецевої частини графена в кисні повітря (екзотермічний процес).

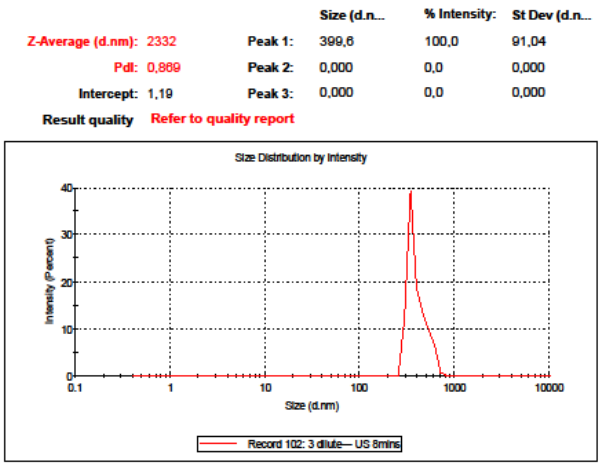
2.1.3 Аналіз структурних даних модифікованих зразків

Розподіл частинок модифікованих форм ОГр за радіусом зображено на рис. 2.15. Всі зразки мають вузьке мономодальне розподілення з середнім гідродинамічним діаметром 1,9 мкм для B-ОГр, 2,3 мкм для N-ОГр та 0,64 мкм для S-ОГр. Очевидно що при модифікування відбувається гідрофобізація поверхні у випадку відновлених та азотовмісних зразків, що супроводжується «спіканням» частинок і збільшенням їх гідродинамічного діаметру. Водночас, модифікування амінокислотою призводить до зменшення частинок, що може вплинути на їхню активність.

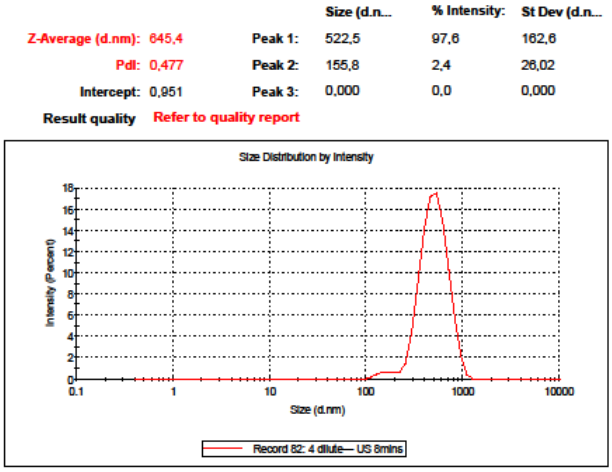
На рисунках 2.16 – 2.18 наведено спектри КРС відновленого, азотованого та модифікованого амінокислотою ОГр та деконволюції цих спектрів у формі смуг Гауса – Лоренца після ручного віднімання базової лінії. В табл. 2.3 -2.5 приведено значення основних параметрів характерних смуг, що проявляються у мікро-КРС спектрах відновленого, азотованого та модифікованого амінокислотою ОГр і їх значення (*) за результатами деконволюції у формі смуг Гауса – Лоренца.



(а)



(б)



(в)

Рисунок 2.15 – Розподіл частинок за радіусом (а) B-OГр, (б) – N-OГр, (в) – S-OГр.

Таблиця 2.3 – Значення основних параметрів характерних смуг, що проявляються у мікро-КРС спектрах B-OГр і їх значення (*) за результатами деконволюції у формі смуг Гауса – Лоренца.

№	Смуга	Частота		Інтенсивність		Напівширина		*Площа	Інтенсивність
		cm^{-1}	$*cm^{-1}$	у. о.	*у. о.	cm^{-1}	$*cm^{-1}$		
1	sp3	1203.98	1202.99	1.589	0.436	-	33.65	23.03	Слабка
2	D	1354.19	1354.19	13.745	13.368	85.57	88.16	1834.84	Дуже сильна
3	G	1585.94	1585.94	11.341	10.502	11.341	77.67	1234.59	Сильна
4	D′	1667.56	1673.00	1.067	0.000	-	2.15	0.00	Дуже слабка
5	2D	2699.62	2702.32	2.074	2.296	-	102.10	368.19	Слабка
6	2D2	2954.98	2947.99	2.116	2.338	-	94.16	345.74	Слабка
7	D+D′	3221.06	3211.38	0.890	0.789	-	131.44	156.39	Дуже слабка

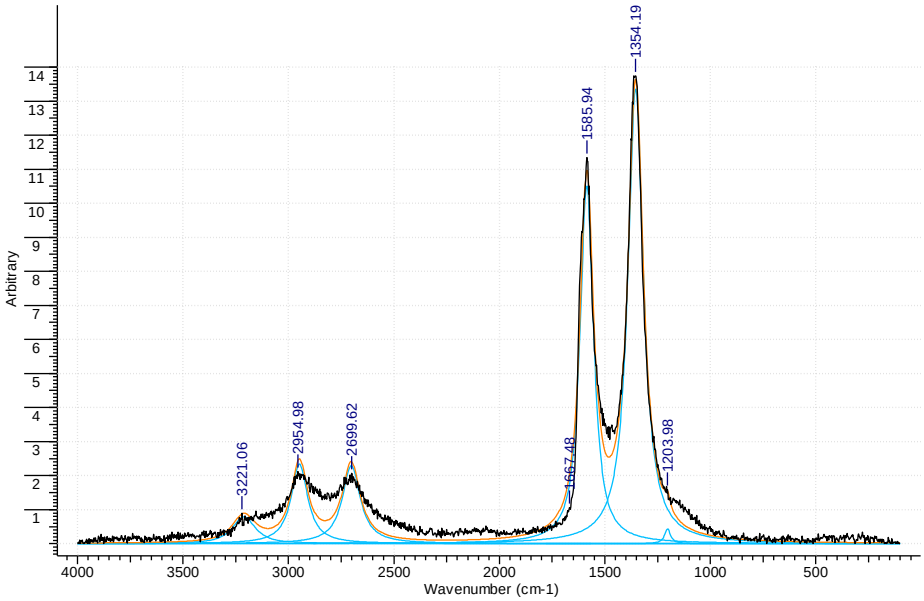


Рисунок 2.16 – Спектри комбінаційного розсіяння світла відновленого ОГр та деконволюції цих спектрів у формі смуг Гауса – Лоренца після ручного віднімання базової лінії.

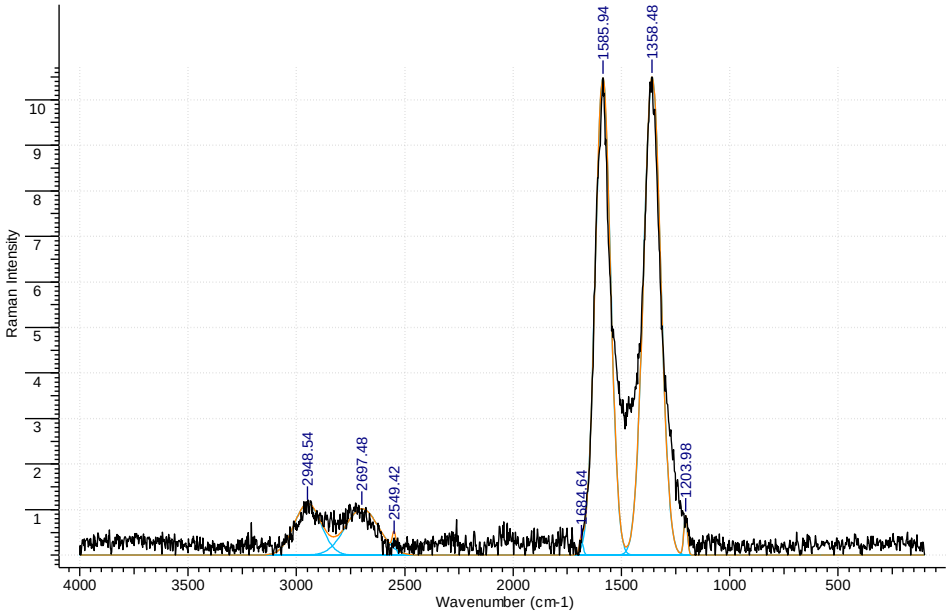


Рисунок 2.17 – Спектри комбінаційного розсіяння світла азотованого ОГр та деконволюції цих спектрів у формі смуг Гауса – Лоренца після ручного віднімання базової лінії.

Таблиця 2.4 – Значення основних параметрів характерних смуг, що проявляються у мікро-КРС спектрах N-ОГр і їх значення (*) за результатами деконволюції у формі смуг Гауса – Лоренца

№	Смуга	Частота		Інтенсивність		Напівширина		*Площа	Інтенсивність
		cm^{-1}	$*cm^{-1}$	у. о.	*у. о.	cm-1	$*cm^{-1}$		
1	sp3	1203.98	1212.01	1.252	1.097	-	14.13	109.40	Слабка
2	D	1358.48	1364.44	10.896	9.457	97.64	102.54	1327.02	Дуже сильна
3	G	1585.94	1581.89	10.886	9.377	83.56	84.64	1121.87	Дуже сильна
4	D′	1684.64	1676.66	0.700	0.003	-	3.28	0.01	Дуже слабка
5	2D	2549.42	2538.80	0.341	0.187	-	81.35	37.09	Дуже слабка
6	2D2	2697.48	2707.43	1.268	1.165	-	69.29	231.24	Слабка
7	D+D′	2948.54	2940.68	1.367	1.201	-	69.30	238.40	Слабка

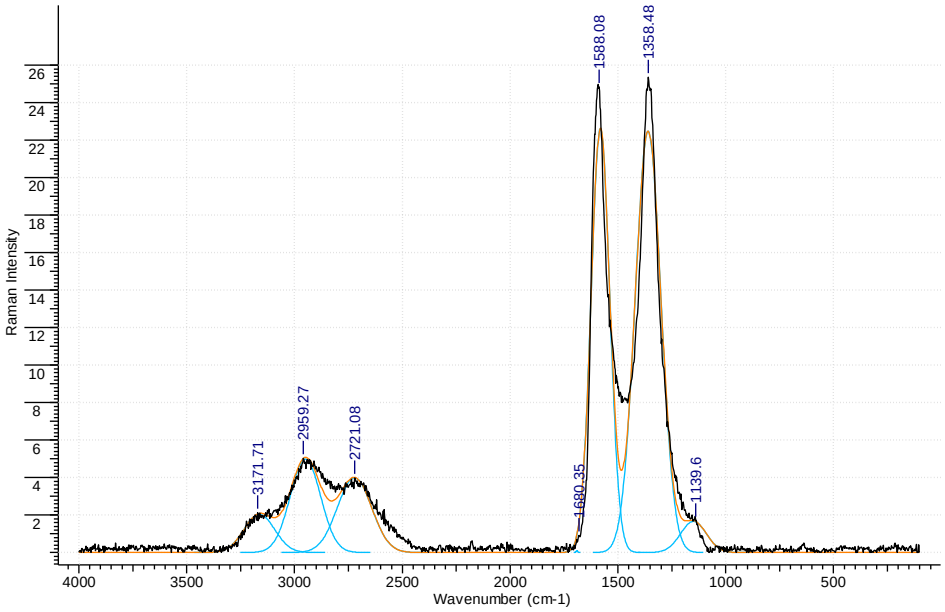


Рисунок 2.18 – Спектри комбінаційного розсіяння світла S-ОГр та деконволюції цих спектрів у формі смуг Гауса – Лоренца після ручного віднімання базової лінії.

Таблиця 2.5 – Значення основних параметрів характерних смуг, що проявляються у мікро-КРС спектрах S-ОГр і їх значення (*) за результатами деконволюції у формі смуг Гауса – Лоренца.

№	Смуга	Частота		Інтенсивність		Напівширина		*Площа	Інтенсивність
		$см^{-1}$	$*см^{-1}$	у. о.	*у. о.	$см^{-1}$	$*см^{-1}$		
1	sp3	1139.60	1149.60	1.710	1.665	-	140.66	249.25	Дуже слабка
2	D	1358.48	1360.23	25.373	22.483	105.67	140.14	3353.79	Дуже сильна
3	G	1588.08	1581.26	24.844	22.622	88.76	101.72	2449.37	Дуже сильна
4	D′	1680.35	1690.34	0.906	0.098	-	8.79	0.92	Дуже слабка
5	2D	2721.08	2721.87	3.989	3.990	-	186.49	792.12	Слабка
6	2D2	2959.27	2949.31	5.038	4.992	-	165.57	879.92	Слабка
7	D+D′	3171.71	3163.19	2.139	2.038	-	167.19	362.72	Дуже слабка

Із порівняння даних для ОГр в різних станах, наведених в табл. 2.6, можна з деякою імовірністю зробити наступні висновки. Відновлення ОГр призводить до більшого упорядкування структури багатошарового графену по відношенню до ОГр, про що свідчить зменшення інтенсивності sp^3-смуги (з 4,04 до 1,59 у. о.), зміщення частот D і G смуг в область менших значень (від 1358.48 до 1354.19 $см^{-1}$ і від 1592.37 до 1585.94 $см^{-1}$ відповідно). Також зменшуються на півширини цих ліній (з 143.14 до 85.57 $см^{-1}$ і з 110.40 до 77.56 $см^{-1}$). В цьому сенсі досить дивним виглядає збільшення відношення I_D/I_G (з 0,854 до 1,21), що зазвичай відповідає збільшенню розупорядкованості структури. Азотування ОГ і модифікування його амінокислотою призводить до зворотного ефекту – незначного погіршення структурного стану.

Таблиця 2.6 – Значення основних параметрів характерних смуг, що проявляються у мікро-КРС спектрах похідних ОГр

№ зразка	1	2	3
Умови синтезу	GO-recavery	GO-N	GO-aminoacid
Умови зйомки	λ=488 нм, P=1 mW, p1	λ=488 нм, P=1 mW, p2	λ=488 нм, P=1 mW, p1
D, $см^{-1}$	1352.5	1365.4	1359.3
D(-),$см^{-1}$	1163.8	1186.1	1169.5
G, $см^{-1}$	1578.1	1581.0	1581.3
G(+),$см^{-1}$	-	-	-
D_{FWHM}, $см^{-1}$	109.6	137.7	139.8
G_{FWHM}, $см^{-1}$	105.3	111.3	94.3
$2D_1$, $см^{-1}$	2696.3	2712.1	2715.8
$2D_2$, $см^{-1}$	2953.8	2955.7	2949.9
$2D_3$, $см^{-1}$	3211.4	-	3156.9
$2D_{1FWHM}$, $см^{-1}$	227.9	279.5	278.8
$2D_{2FWHM}$, $см^{-1}$	198.2	153.6	186.4
$2D_{3\ FWHM}$, $см^{-1}$	126.3	-	157.4
I_D, від. од.	11.9	9.6	23.0
I_G, від. од.	9.2	9.5	20.3
I_D/I_G	1.3	1.0	1.1
I_{2D1}/I_G	0.14	0.1	0.17
I_{2D1}, від. од.	1.3	0.9	3.4
I_{2D2}, від. од.	1.4	0.8	4.1
I_{2D3}, від. од.	0.3	-	1.7

Процес відновлення зразків ОГр призводить до зміцнення кристалічної структури зразків, про що свідчить і мас-спектри зразків В-ОГр (рис. 2.19). Під дією лазерного випромінювання зразки розпадаються на більші фрагменти, оскільки відновлення зменшує кількість sp^3-гібридизованого вуглецю в їхній структурі і робить їх таким чином менш «чутливими» до впливів зовнішніх факторів. Азотовмісні зразки також мають більш міцну в порівнянні із вихідними ОГр структуру (рис. 2.20). На жаль мас-спектри сірковмісних похідних отримати не вдалося.

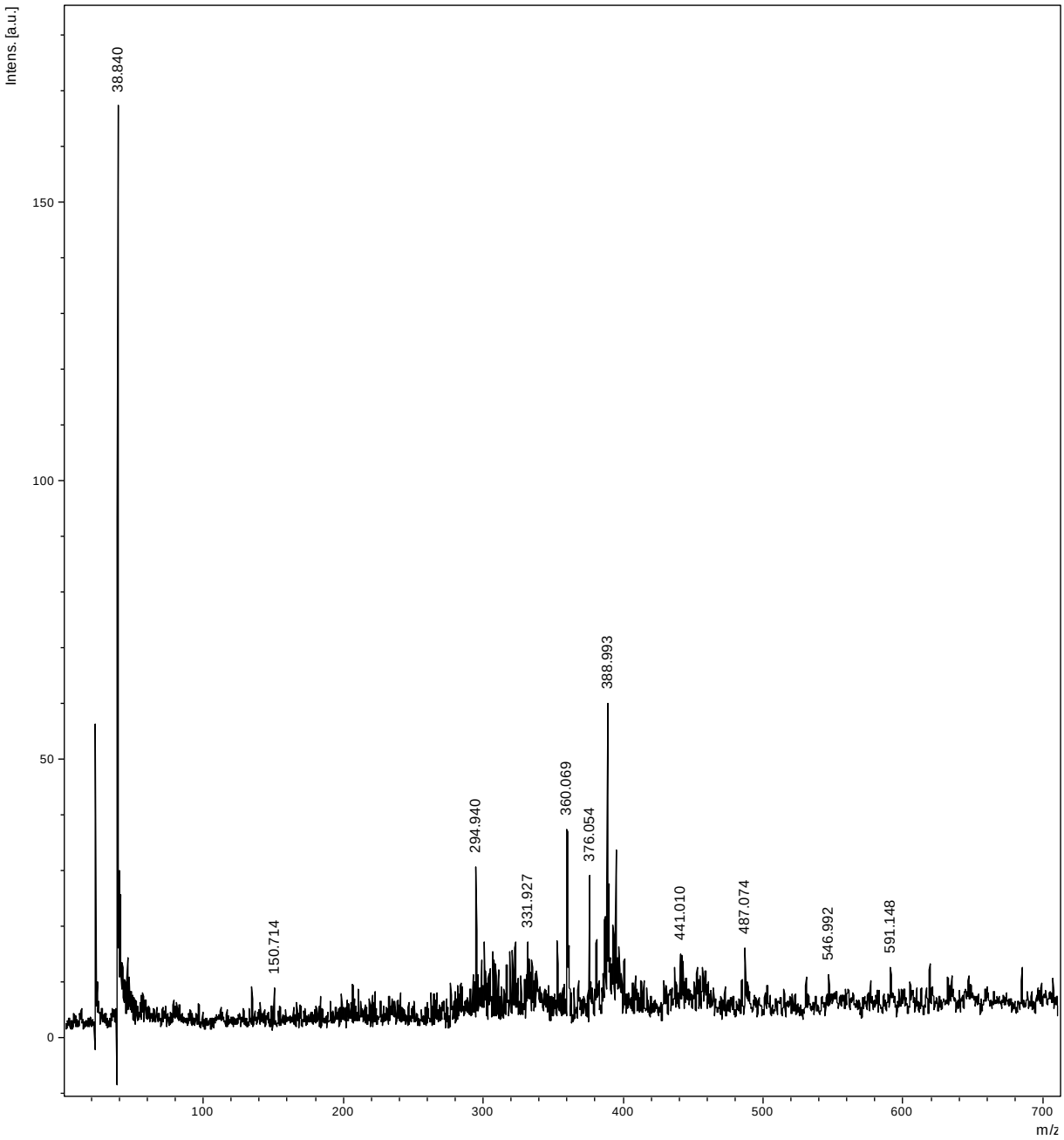


Рисунок 2.19 – Мас-спектр –B-ОГр, отриманий методом LDI-TOF-MS.

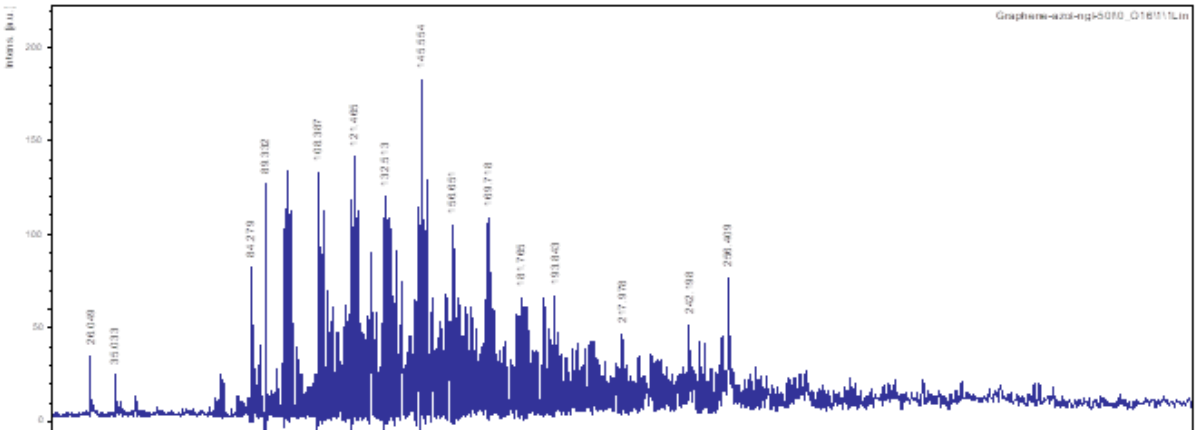


Рисунок 2.20 – Мас-спектр N- ОГр, отриманий методом LDI-TOF-MS.

2.2 Методи аналізу хімії поверхні вихідних та модифікованих зразків ОГр

Якісну та кількісну характеризацію функціональних груп на поверхні вуглецевих матеріалів проводили їх титруванням за Бьомом [78]. До чотирьох зразків Гр із відомою масою додавали 50 мл розчину 0,05 М HCl, $NaHCO_3$, Na_2CO_3 та NaOH та струшували протягом 24 год. Після струшування для аналізу відбирали розчин над вуглецевими зразками. Для відбору проб розчину із суспензії Гр використовували гідрофобні фільтри (“MF-Millipore”, MCE Membrane 0,20 μm). Кількість кисневмісних груп визначали титруванням відібраних проб 0,05 М HCl з урахуванням, що розчин NaOH нейтралізує карбоксильні, лактонні та фенольні групи; Na_2CO_3 – карбоксильні та лактонні, тоді як $NaHCO_3$ – лише карбоксильні.

Кількість оснóвних та сумарну кількість кисневмісних груп визначали методом прямого потенціометричного титрування розчинів HCl та NaOH (див. формулу 2.2), що прореагували із поверхневими групами зразків [79]:

$$C_{пр.} = ([B_0(A_0)]V_{0B(A)} - [A(B)]V_{A(B)}\frac{V_{0B(A)}}{V_a})/m, \quad (2.2)$$

де $[B_0(A_0)]$ – початкова концентрація розчину лугу *B* або кислоти *A*, моль/л; $V_{0B(A)}$ – об’єм лугу *B* або кислоти *A,* що додавали до зразку, л ($V_{0B(A)}$=0,05 л); $[A(B)]$ – концентрація титранту , моль/л; $V_{A(B)}$ – об’єм титранту, витрачений на титрування, л; V_a – об’єм аліквоти, л (V_a=0,01 л); *m* – наважка зразку, г.

Кількість карбоксильних та лактонних груп визначали методом зворотного потенціометричного титрування розчинів $NaHCO_3$ та Na_2CO_3, що прореагували з поверхневими групами зразку (див. формулу 2.3). Тому для титрування розчину $NaHCO_3$ до 10 мл аліквоти додавали 20 мл 0,05 М HCl, а для Na_2CO_3 – 30 мл, після чого залишок відтитровували розчином NaOH:

$$C_{об.} = ([B_0]V_{0B} - ([A_Д]V_{A_Д} - [B]V_B\frac{V_{0B}}{V_a}))/m, \quad (2.3)$$

де $[B_0]$ – початкова концентрація розчину $NaHCO_3$ або Na_2CO_3, моль/л; V_{0B} – об'єм $NaHCO_3$ або Na_2CO_3, що додавали до зразку, л (V_{0B}=0,05 л); $[A_Д]$ – концентрація кислоти, що додавали до аліквоти, моль/л; $V_{A_Д}$ – об'єм кислоти, що додавали до аліквоти, л; $[B]$ – концентрація титранту , моль/л; V_B – об'єм титранту, витрачений на титрування, л; V_a – об'єм аліквоти, л (V_a=0,01 л); m – наважка зразку, г.

Кількість фенольних груп визначали за різницею між сумарною кількістю кисневмісних груп та сумою карбоксильних і фенольних груп.

Для дослідження хімічного стану атомів вуглецю, азоту та кисню на поверхні синтезованих ОГр використовували дані РФЕС. РФЕ-спектри знімали на фотоелектронному спектрометрі марки "VG ESCA", в якому джерелом рентгенівського випромінювання є алюмінієвий анод Al K_α (монохроматор), при кімнатній температурі та робочому тиску в камері $2{,}7\cdot10^{-6}$ Па. Помилка дослідження становила ±0,1 еВ. Стандартом для визначення енергії зв'язку електронів елементів були 1s-електрони вуглецю (284,8 еВ). Дослідження проводили після додаткової обробки ВМ у вакуумі при 150^0С протягом 1,5 години. Спектри реєстрували за допомогою приєднаного до обладнання комп'ютера, а їх аналіз здійснювали за допомогою програми "ESXA".

Для вивчення хімії поверхні твердих тіл широко використовується метод ТПД-МС з програмованим нагріванням, що дає інформацію про склад и термічну стабільність поверхневих функціональних груп. ТПД-МС дослідження проводилися на монопольному мас-спектрометрі МХ-7304А з іонізацією електронним ударом. Зразок вагою 0,1-20 мг розміщали на дно кварцмолібденової ампули, і до початку досліду відкачували при ~ 20°С до тиску ~ $5\cdot10^5$ Па. Програмоване лінійне нагрівання зразку проводили зі швидкістю 0,15 К/с до температури ~ 750°С. Летючі продукти термолізу через високовакуумний вентиль діаметром 5,4 мм напряму потрапляли в іонізовану камеру мас-спектрометра, іонізувались та фрагментувались під дією електронного удару. Після розподілу по масам в мас-аналізаторі, інтенсивність йонного струму продуктів десорбції та термолізу реєструвались вторинно-електронним помножувачем ВЕУ-6. Реєстрація

та аналіз мас-спектрів проводили автоматизованою системою реєстрації та обробки даних на базі комп'ютера. Реєстрацію мас-спектрів проводили в діапазоні 1-210 а.о.м., протягом ТПД-МС досліду отримували ~ 240 спектрів. При проведенні термодесорбційного досліду нагрівання зразку проводилося достатньо повільно, швидкість відкачування летючих продуктів термолізу була високою, тому дифузійними ефектами можна знехтувати, а отже інтенсивність йонного струму пропорційна швидкості десорбції.

ІЧ-спектри було отримано на приладі IRTracer 100 (Shimadzu, Японія) із використанням ATR приставки. Записані спектри є результатом накладання 20 інтерферограм, отриманих при розділенні 4 $см^{-1}$.

2.2.1 Характеристика хімії поверхні вихідних зразків оксиду графену фірми «Grafren AB»

Методом Бьом титрування було отримано потенціометричні криві (рис. 2.21), на основі яких розраховано сумарне СОЄ поверхні, що становить 12,78 ммоль/г (сума всіх кисневмісних поверхневих функціональних груп, зокрема фенольних, лактонних і карбоксильних). Кількість основних груп становить 6,628 ммоль/г. Отримані дані свідчать, що зразки ОГр є гідрофільними і водорозчинними.

На рисунку 2.22 наведено ІЧ спектр вихідних ОГр, з якого видно, що поверхня ОГр має велику кількість функціональних поверхневих груп. Найбільш характерні піки [80] для зразків ОГр спостерігаються при 3200 $см^{-1}$ (ОН коливання у спиртах), 1720 $см^{-1}$ (С=О коливання в карбонових кислотах та альдегідах), 1620 $см^{-1}$ (коливання ароматичного С=С зв'язку), 1370 $см^{-1}$ (ОН коливання в карбонових кислотах), 1220 $см^{-1}$ (С-О-С коливання епокси-груп), 1040 $см^{-1}$ (СО-О-СО коливання). Адсорбційна смуга при 2120 $см^{-1}$ відповідає овертону слабких С-Н зав'язків в ароматичних сполуках.

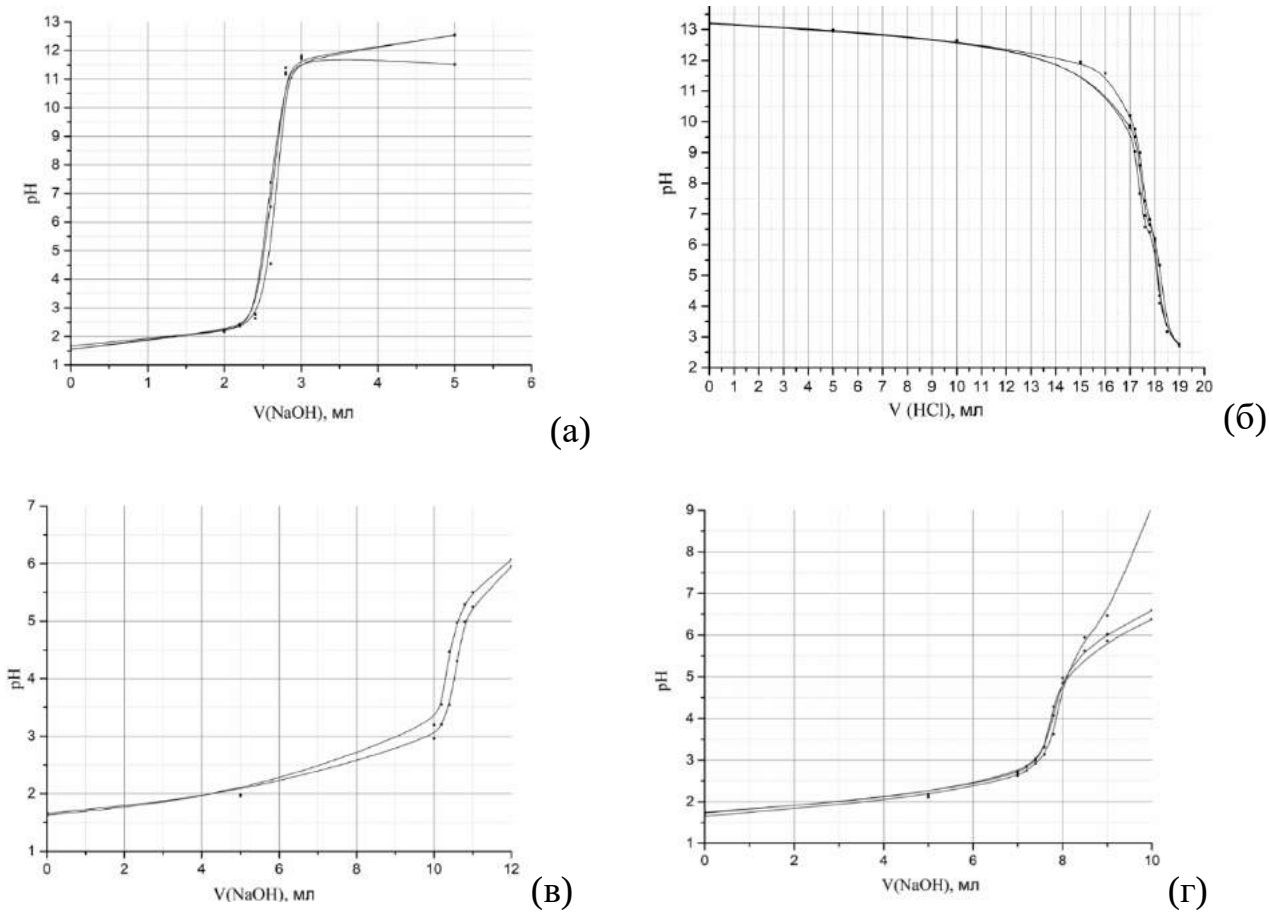


Рисунок 2.21 – Потенціометричні криві титрування вихідних ОГр: (а) – крива титрування розчину HCl; (б) – крива титрування розчину NaOH; (в) – крива титрування розчину $NaHCO_3$; (г) – крива титрування розчину Na_2CO_3.

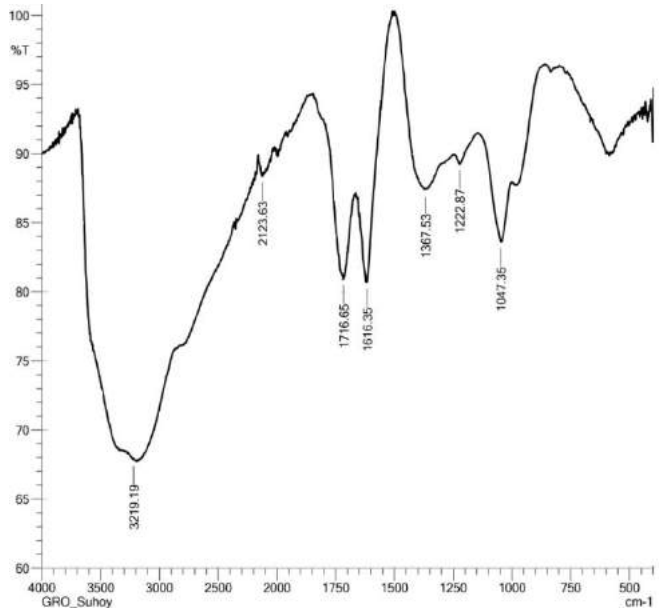


Рисунок 2.22 – ІЧ спектр зразків ОГр.

ТПД-МС спектри вихідних ОГр підтверджують дані, отримані методом ІЧ спектроскопії і вказують на термічне розкладання кисневмісних функціональних груп, що десорбують у вигляді молекул води (m/z 17 та 18), CO_2 (m/z 44), and CO (m/z 28). Десорбційні піки при температурах ~120 °C та ~180 °C, вказує на те, що ОГр розкладається при відносно низьких температурах та має декілька шарів. При цьому не спостерігається піку з масою 32 (молекулярний киснень), так само як і фізично адсорбованої води (m/z 17 та 18 при ~50°C). Потрійний десорбційний пік спостерігається для всіх мас і вказує на різноманітність функціональних груп на поверхні ОГр. Перший пік при ~120°C, другий при 160 °C та останній при 180 °C. Маси 17 та 18 при ~120°C відносяться до хімічно зв'язаної води, тоді як при ~160-180°C° – з ОН-групами з кисневмісних функціональних груп (зокрема карбоксильних та фенольних). Маси 28 та 44 відповідають О-вмісним поверхневим групам.

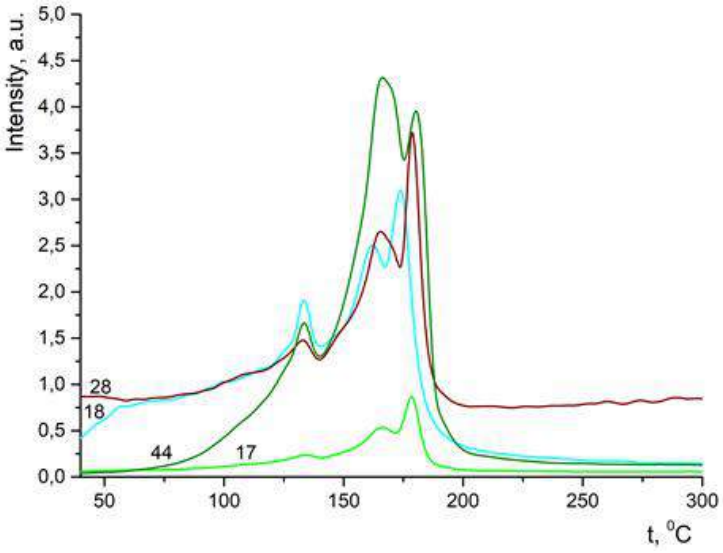
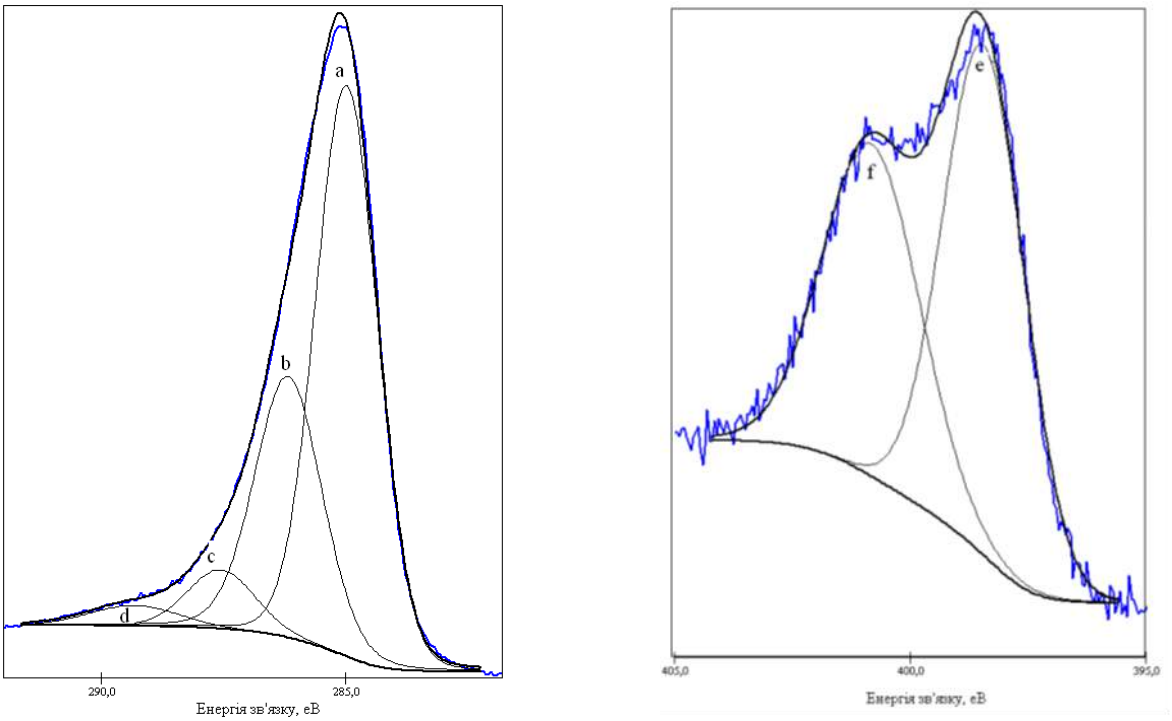


Рисунок 2.23 ТПД-МС спектри ОГр.

2.2.2 Аналіз хімії поверхні модифікованих зразків ОГр

Для підвищення здатності ОГр вловлювати АФК та АФА в їх склад вводили атоми азоту, наявність яких підтверджується даними РФЕ аналізу (рис. 2.24, табл. 2.7).



(а) (б)

Рисунок 2.24 – C1*s* (а) та N1*s* РФЕ-спектри N-ОГр.

Таблиця 2.7 – Енергія зв’язку 1*s* електронів та атомні концентрації вуглецю та азоту (%) зразків N-ОГр

Елемент	Групи смуг	$E_{зв}$. еВ	С,%
C1*s*	a	284,5	60,3
	b	285,7	30,2
	c	287,2	6,2
	d	288,9	3,2
N1*s*	e	398,4	55,47
	f	400,8	44,5

Примітка. a – делокалізовані ароматичні sp^2 структури; b – C-O зв’язки (феноли, спирти, етери) та C=N групи; c – C=O зв’язки; d – -N=C-O зв’язки; e – гетероатом азоту в піридиновому кільці та Ar-N-Ar структурах; f – гетероатом азоту в -O-C=N групах, піридині, піролі.

З табл. 2.7 видно, що в азотовмісних зразках ОГр присутня велика кількість кисневмісних структур, що представлені переважно фенольними, спиртовими та етерними групами. Крім того, в зразках на C1*s* РФЕ спектрі з’являється смуга з

енергією зв’язку 288,9 еВ, яка відповідає вуглецю, що зв’язаний із атомом азоту. Згідно з N1s РФЕ спектрами гетероатоми азоту в таких зразках представлені переважно піридиновими та пірольними структурами.

Дослідження термічної стабільності поверхневих функціональних груп N-ОГр (рис. 2.25 та 2.26) показало, що такі зразки містять велику кількість хімічно зв’язаної води (m/z=17, 18, t=180-200°C), а також фізично адсорбованої (t=50-80°C). Після детального аналізу ТПД МС спектру N-ОГр (рис. 2.26) у десорбційних газах також виявлено присутність CO_2 (200°C та 450-650°C), CO (150°C та 450-550°C), HCN (m/z 27, t=150-200°C), HCl (m/z 36), SO_2, SO (m/z 64, 48) та частинки, що вказують на часткову деструкцію зразку при 200°C (m/z 1, 2, 16).

Піки із значенням m/z 44 та 28 (CO_2 та CO відповідно) вказують присутність на поверхні N-ОГр кисневмісних груп – карбоксильних, лактонних, фенольних та кислотно-ангідридних. Наявність піків із m/z 1 (H), 2 (H_2) та 16 (CH_4) при 200°C підтверджують результати ТГ аналізу про початок руйнування структури ОГр за таких температур.

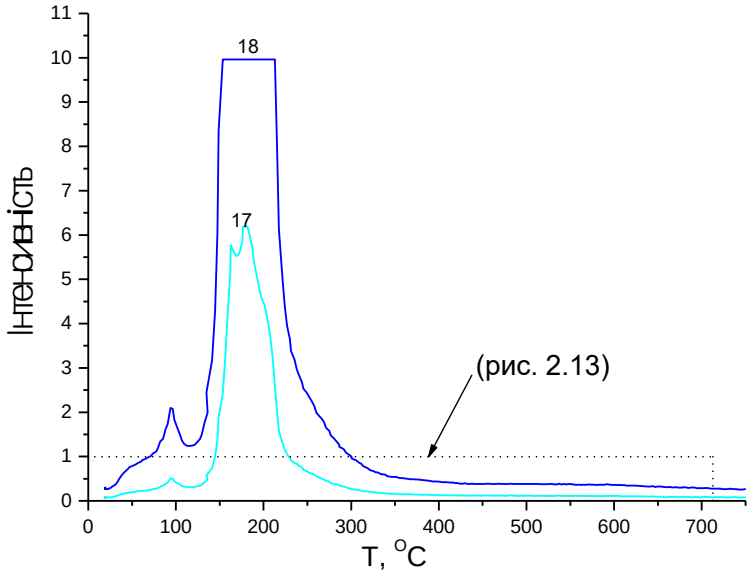


Рисунок 2.25 – Спектри ТПД-МС N-ОГр.

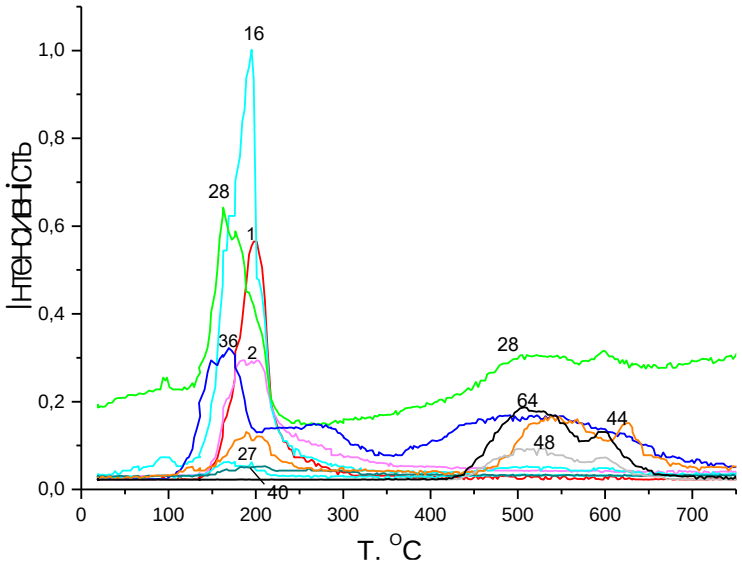


Рисунок 2.26 – Спектри ТПД-МС N-ОГр.

На присутність гетероатому азоту вказують лише два піки із m\z 27 (HCN) та m\z 40, що може відповідати сполуці $C_2NH_2^+$, яка утворюється при деструкції пірольних сполук. Присутність у десорбцій них газах молекул HCl, SO_2 та SO, найімовірніше, пов'язано із умовами синтезу таких зразків.

ІЧ спектри похідних ОГр представлено на рисунку 2.27, аналізуючи які можна зробити висновок, що відновлення гідразином повністю гідрофобізує поверхню, оскільки майже всі піки, що відповідають кисневмісним функціональним групам зникають. Лишається лише пік при ~1220 $см^{-1}$, що відповідає С-О-С коливанням, при чому інтенсивність його суттєво знижується. Адсорбційна смуга при 2100 $см^{-1}$, яка вказує на ароматичну природу зразків залишаються в усіх похідних ОГр. Азот- та сірко-вмісні похідні мають три піка, що відповідають кисневмісним функціональним групам, зокрема 1220, 1400 та 1730 $см^{-1}$. Всі змодифіковані форми ОГр мають новий пік подвійної природи при 2300 $см^{-1}$, що вказує на адсорбовані поверхнею молекули CO_2. В N-ОГр зразку також виникає пік при 2800 $см^{-1}$ - N-H коливанн в амінах. Сірковмісні похідні мають валентні коливання при 600 $см^{-1}$(найімовірніше відповідає S-H зв'язкам, дані не наведено) та новий пік при 790 $см^{-1}$ що вказує на С–Н та -HC=CH- коливання).

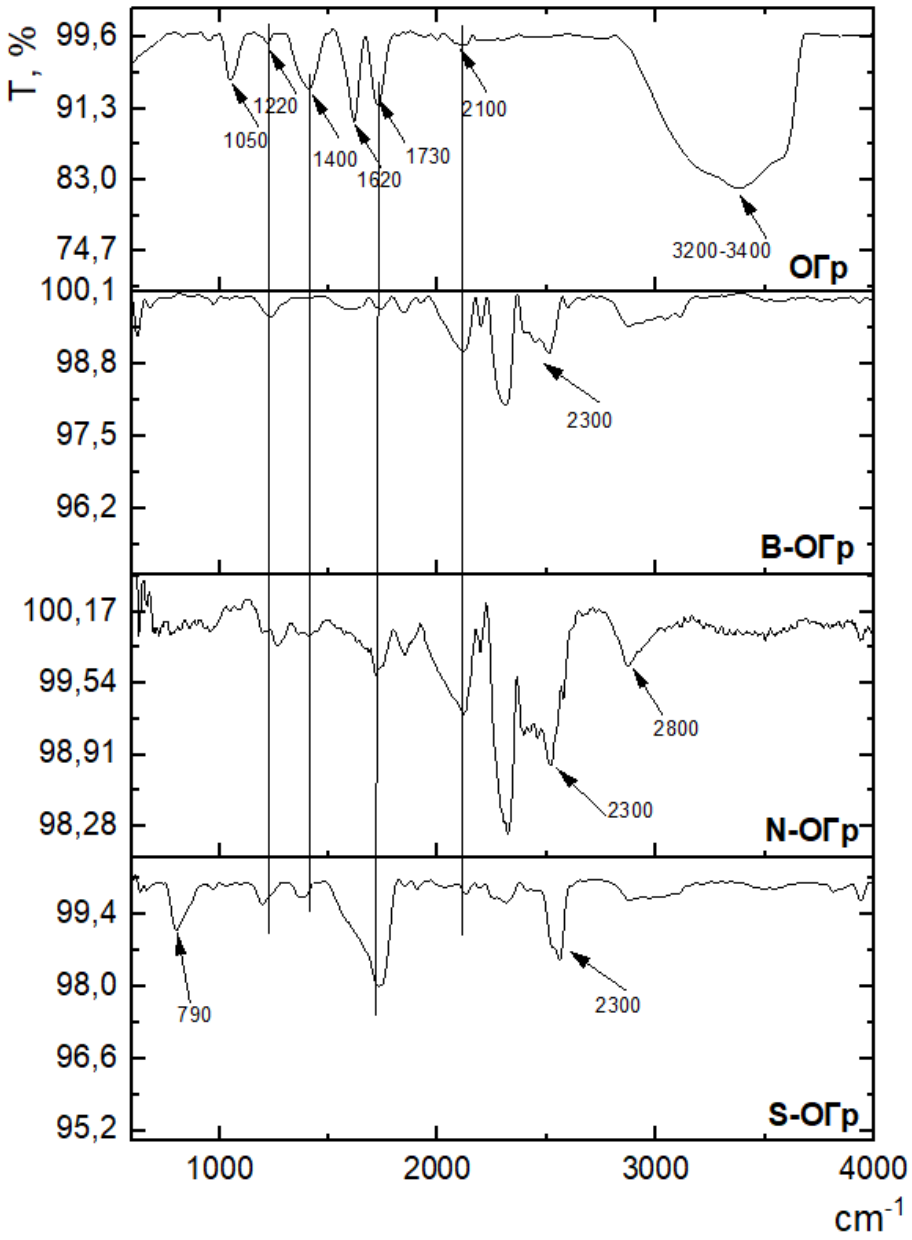


Рисунок 2.27 – ІЧ спектри ОГр та його похідних.

ІЧ-спектри похідних із вмістом селену представлено на рисунку 2.28. Аналіз отриманих даних свідчить про модифікування поверхні ОГр селеноцистеїном, оскільки ІЧ-спектр Se-ОГр зразку має типові для селеноцистеїну смуги. Аналогічні результати були отримані при аналізі ІЧ-спектрів зразків ОГр, які були модифіковані ебселеном шляхом фізичної адсорбції (рис. 2.28 (б)).

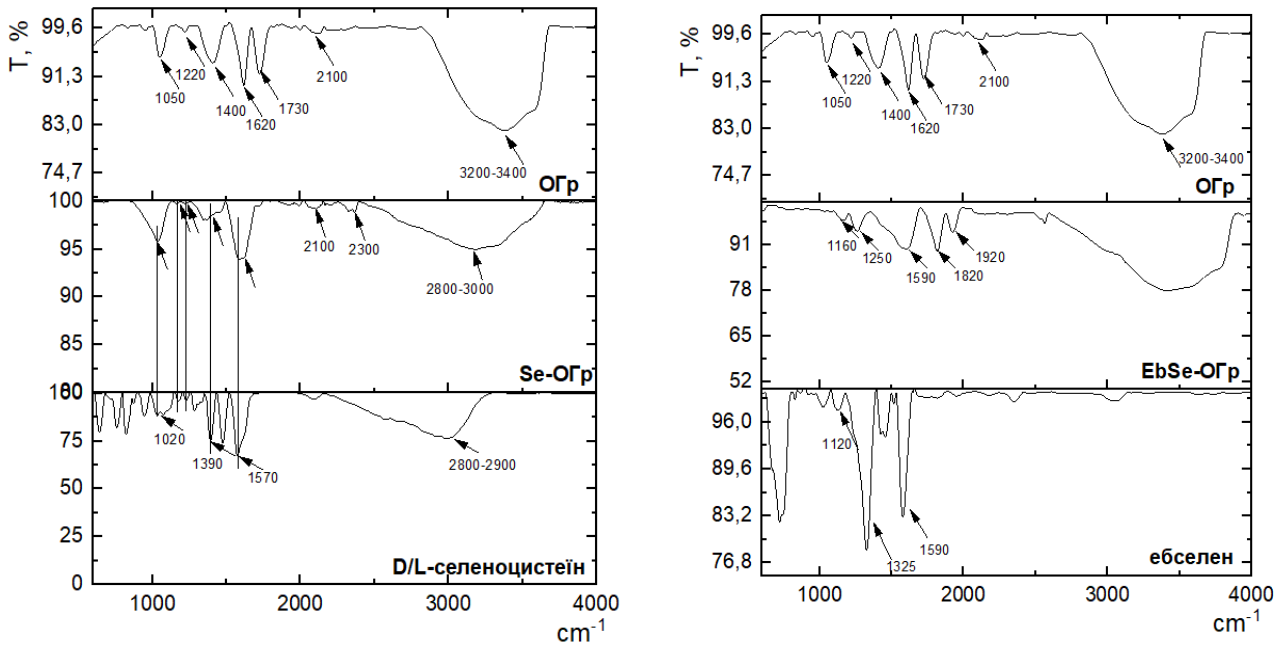


Рисунок 2.28 – ІЧ спектри ОГр та його селено-вмисних похідних.

При фізичній іммобілізації та хімічній адсорбції MnTBAP та ферменту СОД також відбувається модифікування поверхні цими сполуками. Про це свідчать отримані ІЧ-спектри вихідних та модифікованих зразків (рис. 2.19). З рисунку видно що спектри ОГр містять смуги наявні в спектрах вихідних сполук.

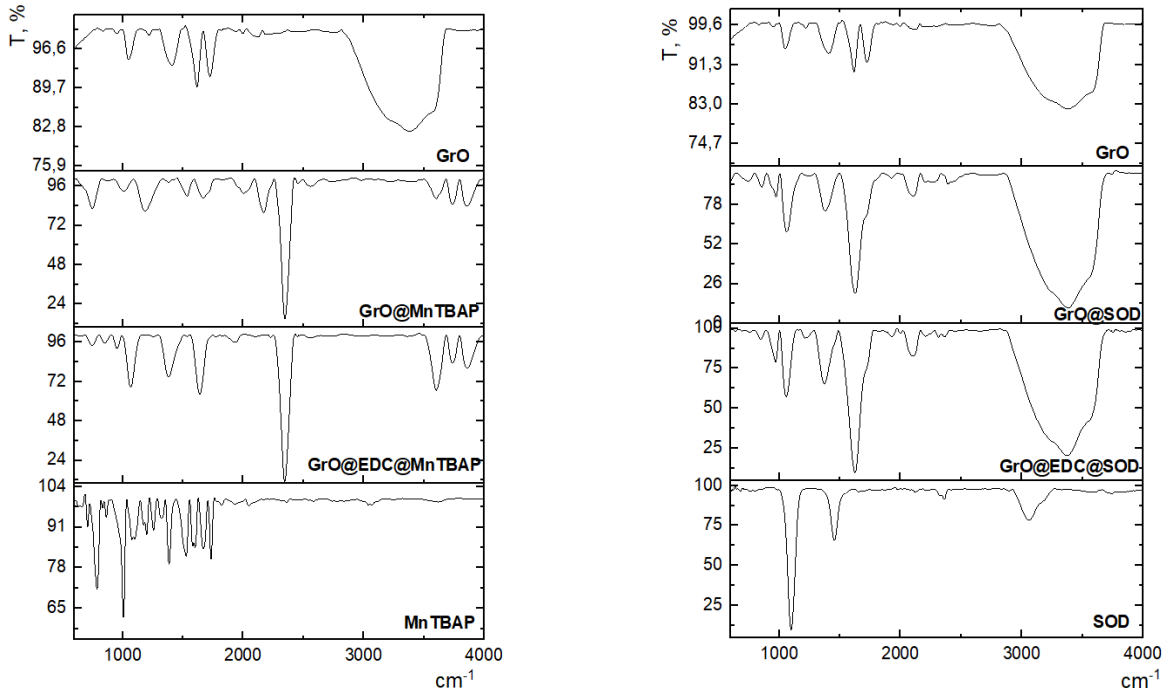
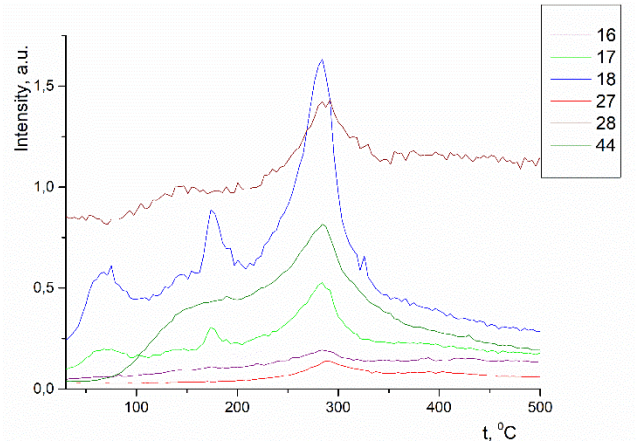
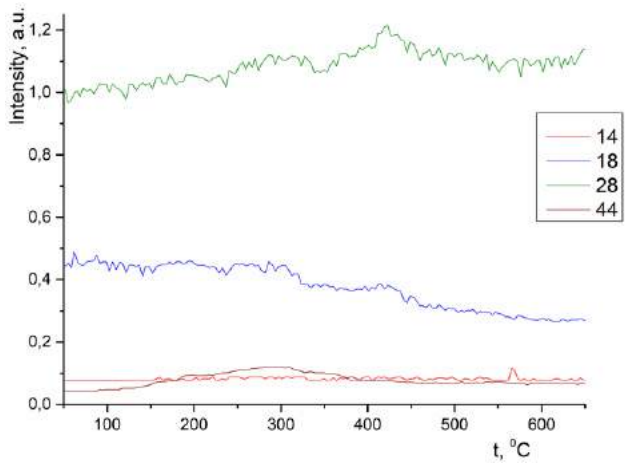


Рисунок 2.29 – ІЧ спектри ОГр та його похідних, модифікованих Mn-порфірином (а) та ензимом СОД (б).

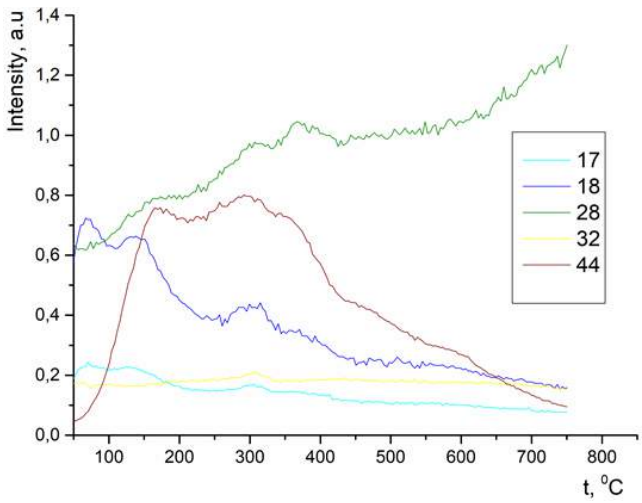
Спектри ТПД-МС похідних ОГр (рис. 2.30) свідчать про суттєву зміну поверхневих функціональних груп і по суті підтверджують дані, отримані ІЧ спектроскопією.



(а)



(б)



(в)

Рисунок 2.30 – ТПД-МС спектри (а) B-ОГр, (б) – N-ОГр, (в) – L-ОГр.

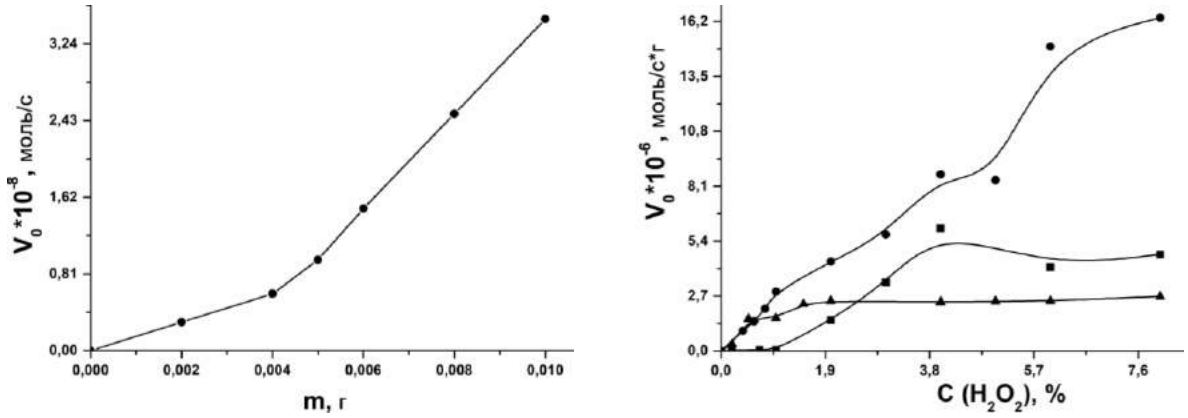
3 ВЛОВЛЮВАННЯ ВІЛЬНИХ РАДИКАЛІ АФК ТА АФА ЗРАЗКАМИ ОГР ТА ЇХ МОДИФІКОВАНИМИ ФОРМАМИ

3.1 Вивчення здатності синтезованих ОГр та його похідних щодо вловлювання ОН-радикалу

Реакція розкладання пероксиду водню є класичною тестовою реакцією для оцінки каталітичної здатності вловлювання ОН-радикалів вуглецевою поверхнею. Ця реакція також імітує каталітичну дію ферменту КАТ і дає можливість оцінити активність синтезованих зразків відносно активності самого ферменту. Кінетику реакції вивчали із використанням волюмометричного методу – вимірювали об'єм кисню (0,05–5 мл, ±0,01 мл), що виділяється в мікробюретці протягом 30 хв каталітичної реакції при температурі 36.6 °C. Реакцію проводили при концентраціях ПВ 0,005–0,2%; концентрація зразків ОГр та його модифікованих форм не змінювалась і в усіх випадках становила 20 мкг/мл. Зразки графенів, об'ємом 1мл розчиняли в фосфатному буфері (Na_2HPO_4 + KH_2PO_4, Sigma) при фізіологічному значенні pH 7,4. Після цього водний розчин H_2O_2 додавали до суспензії так, щоб сумарний об'єм становив 25 мл та перемішували протягом 30 хв. Детальний опис розрахунків наведено в [81]. Зазвичай дослідження починають із визначення оптимальних умов проведення реакції, як то наважка каталізатора та концентрація субстрату.

3.1.1 Визначення оптимальних умов проведення реакції

Аналіз каталазоподібних властивостей ОГр починали із визначення оптимальних умов проведення реакції (наважка та концентрація H_2O_2, рис. 3.1). Активність ОГр лінійно зростає зі збільшенням наважки каталізатору (рис. 3.1 (а)). Тому, з метою проведення дослідів в однакових умовах, оптимальною наважкою для графену та їх модифікованих форм було обрано 0,005 г.

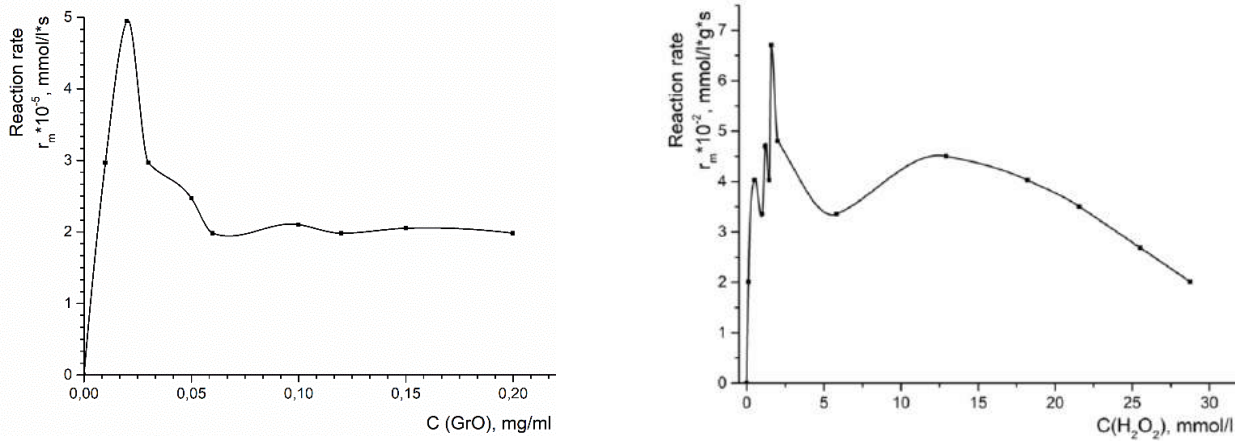


(а) (б)

Рисунок 3.1 – Залежності початкової швидкості реакції розкладання 1% H_2O_2 від наважки ОГр (а) та концентрації H_2O_2 (б) при pH 7,8: (●) – ОГр; (▲) – Гр; (■) – N-ОГр.

Зразки ОГр шведської компанії “Grafren AB” поводилися дещо інакше. Оскільки ці зразки утворюють стабільну в часі суспензію, то для них оптимальною наважкою є концентрація 0,02 мг/мл (максимальне значення на рис. 3.2 (а)). Одним із характерних особливостей цієї кривої є різке зниження активності зразків при збільшенні їх концентрації. Найімовірніше, при підвищенні концентрації нанорозмірний ОГр агломерується, що призводить до деактивації великої площі поверхні зразків та зниженні здатності до вловлення вільних радикалів.

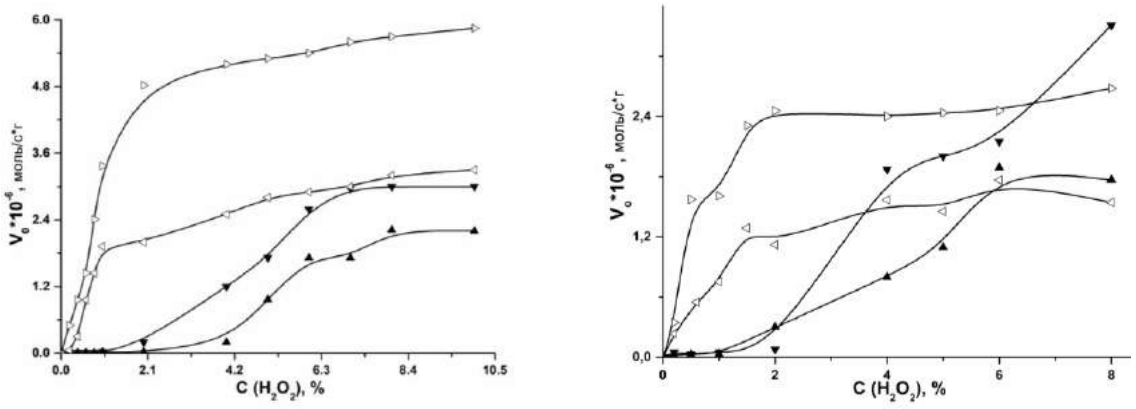
Аналогічна ситуація спостерігається і при визначенні оптимального концентраційного інтервалу (рис. 3.2 (б)). Швидкість реакції збільшується лише при низьких концентраціях ПВ (приблизно до значень 2,5 ммоль/л), після чого активність поступово падає. Такий факт можна пояснити деактивацією активних центрів великою кількістю ОН радикалів. Таким чином оптимальними умовами реакції було обрано – концентрацію ОГр – 0,02 мг/мл, концентрацію ПВ – 0,5-2,5 ммоль/л.



(а) (б)

Рисунок 3.2 – Оптимізація умов проведення реакції: (а) залежність швидкості реакції від концентрації розчину ОГр при $C(H_2O_2)$=12 ммоль/л; (б) залежність швидкості реакції від концентрації розчину ПВ при С(ОГр)=0,02 мг/мл.

Різні модифікації графену є активними в різних концентраційних інтервалах субстрату. На рис. 3.1 (б) зображена залежність максимальної швидкості реакції від концентрації H_2O_2 для вихідних та модифікованих Гр. Інтервали оптимальних концентрацій H_2O_2 для зразків ОГр та його модифікованих форм не збігаються. Так, якщо ОГр є активними в усьому інтервалі від 0,2 до 8%, то Гр є активними лише до 1,5%, а активність N-ОГр спадає після 4%. Отже, для зразків ОГр було обрано концентраційний інтервал H_2O_2 від 0,4 до 1%, для Гр – від 0,5 до 1,5%, а для N-ОГр – від 1 до 4%. Суттєво впливає на вибір концентраційного інтервалу і pH середовища. Цей ефект спостерігається лише для зразків ОГр та Гр (рис. 3.3). Так, у слабколужному середовищі (pH від 6,5 до 8,0) активність каталізаторів зростає в інтервалі концентрації від 0,2 до 1,5%, тоді як в слабкокислому середовищі при таких концентраціях субстрату зразки є неактивними, тому для дослідження використовували інтервал концентрацій H_2O_2 від 2 до 6%.



(а) б)

Рисунок 3.3 – Залежність швидкості реакції від концентрації H_2O_2 при pH ~4,8 (▲);~5,8 (▼);~6,8 (◃);~7,8 (▹) для: (а) – ОГр; (б) – Гр.

3.1.2 Визначення константи швидкості реакції розкладання ПВ зразками ОГр та його модифікованими формами

Для встановлення ряду активності розглянемо кінетику розкладання пероксиду водню ОГр та його модифікованими формами (рис. 3.4). В обраних умовах активність зразків ОГр та його модифікованих форм можна розташувати в такій послідовності: ОГр>N-ОГр>ВГр. З отриманої послідовності можна зробити висновок, що модифікування вихідних зразків оксидів графену не призводить до збільшення їх активності. Найімовірніше, під час будь-якого модифікування руйнується початкова структура матеріалу, що призводить до погіршення його каталітичних властивостей в реакції розкладання пероксиду водню.

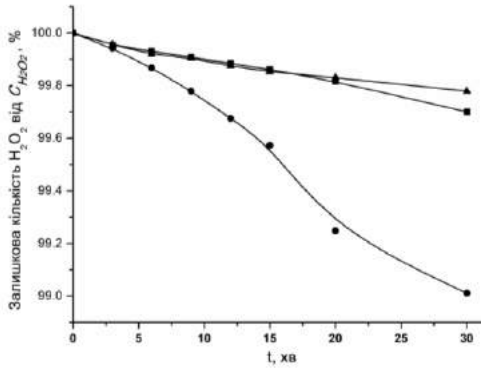


Рисунок 3.4 – Кінетика розкладання H_2O_2 оксидами графену та його модифікованими формами при pH 7,8 та C_{H2O2} 1-4%: (●) – ОГр; (▲) – В-ОГр; (■) – N-ОГр.

Про зміну структури N-ОГр свідчать спектри ТПД МС, отримані при лінійному нагріванні зразків, які прореагували із молекулою H_2O_2 (рис. 3.5). На отриманому спектрі, в порівнянні із вихідним зразком, відсутні піки з m/z 1, 2, 16 при 200°С, що може свідчити про часткове очищення зразків під впливом молекули пероксиду водню від аморфного вуглецю. Значно зменшується вміст води, при чому десорбція фізично адсорбованої води переважає над хімічно зв'язаною. Піки із m/z=44 та 28 (CO_2 та CO) зміщуються до вищих температур, що може свідчити про часткове окиснення поверхні N-ОГр розчином субстрату. Про зміну хімії поверхні азотовмісних ОГр свідчить також збільшення інтенсивності піків з m/z=36, 64 та 48 (HCl, SO_2 та SO), яке може спостерігатися при додатковому окисненні поверхні вуглецевих матеріалів.

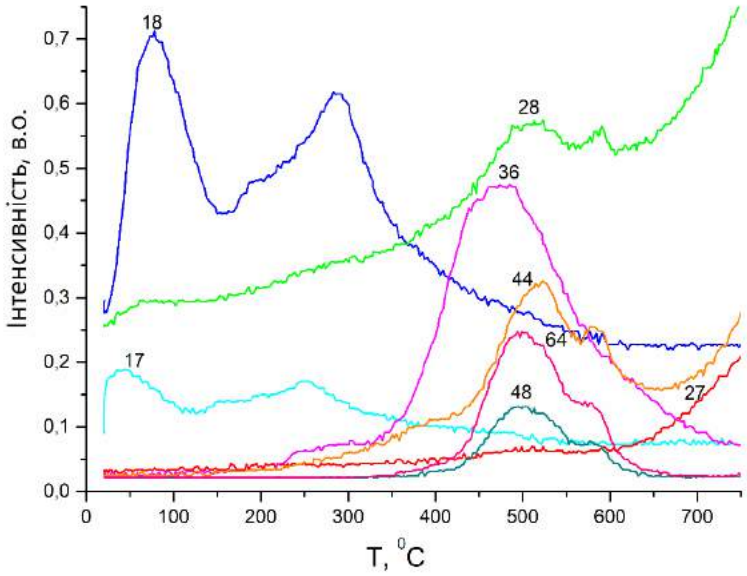


Рисунок 3.5 – Спектри термодесорбції летючих компонентів, що виділяються при лінійному нагріванні N-ОГр після реакції з 1% H_2O_2 (pH ~7,8).

Використовуючи оптимальні умови проведення реакції було визначено константи швидкості розкладання ПВ ОГр та його модифікованими формами (рис. 3.6 (а-г)), як кут нахилу логарифмічної прямої $\log(r)=f(\log(CH_2O_2))$. Відповідно до отриманих даних константи швидкості становлять для ОГр – $3{,}03*10^{-3}$ c^{-1}, для B-ОГр – $0{,}296*10^{-3}$ c^{-1}, для азотованих зразків – $3{,}77*10^{-3}$ c^{-1}, тоді як для L-ОГр

спостерігається найвище значення – 8,89*10^{-3} с$^{-1}$. Таким чином активність досліджуваних зразків можна розташувати в ряду: L-ОГр>ОГр>N-ОГр>B-ОГр.

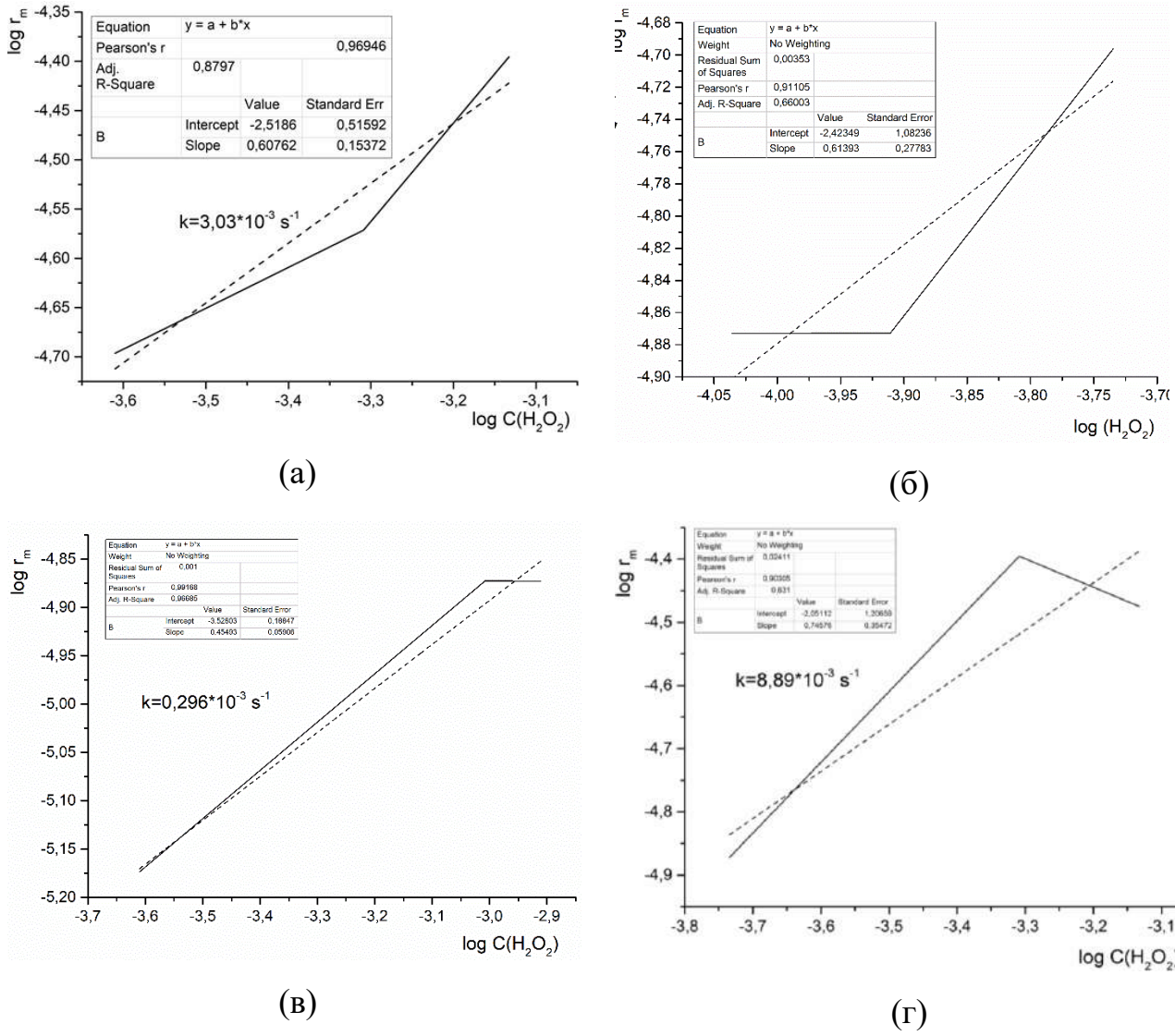


Рисунок 3.6 – Визначення констант швидкості реакції вловлення вільних радикалів *in vitro* для зразків: (а) ОГр, (б) N-ОГр, (в) B-ОГр та (г) L-ОГр.

Нами також було визначено константи швидкості розкладання ПВ, але вже при кімнатній температурі зразками ОГр, модифікованими Mn-порфірином та ензимом СОД (рис. 3.7). З рисунку можна зробити висновок, що вихідні ОГр найменш активні серед його аналогів і константа швидкості для нього становить лише 1,1*10^{-7} с$^{-1}$. Іммобілізований фермент на поверхні ОГр проявляє вищу за вихідний зразок активність. Його активність становить 2,8*10^{-7} с$^{-1}$ та 3,3310^{-7} с$^{-1}$ для Gr@EDC@SOD та Gr@SOD відповідно. Трійка найактивніших зразків – ОГр модифіковані MnTBAP і вихідний розчин MnTBAP. ЇХ активність становить 2,95-

$3{,}61*10^{-7}$ c^{-1}. Отримані результати свідчать що модифікування сполуками мангану є доцільним, оскільки саме такі зразки проявляють найвищу здатність щодо вловлювання ОН-радикалів.

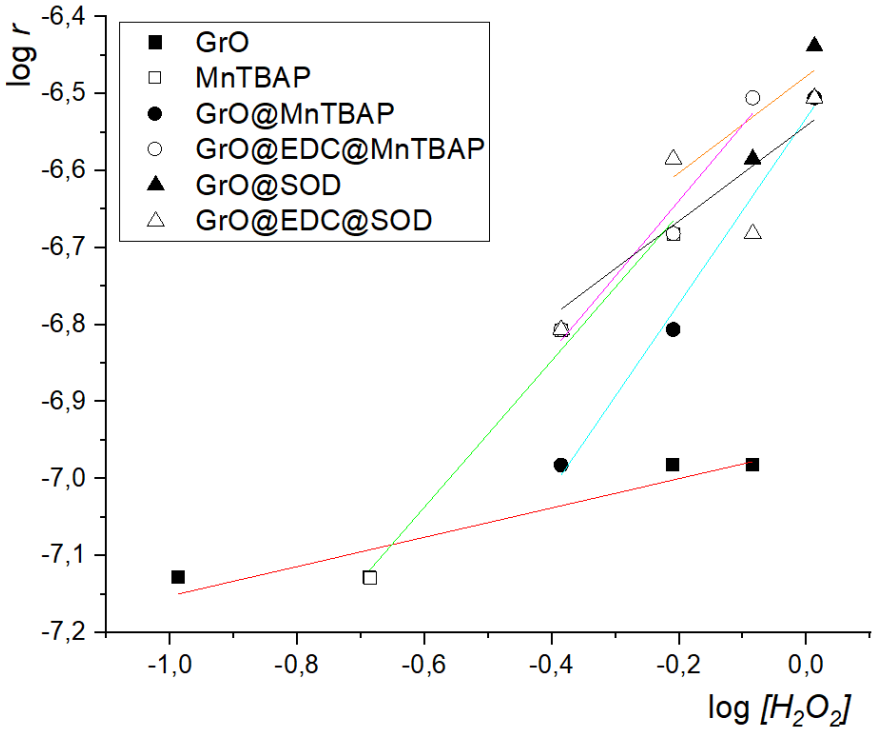


Рисунок 3.7 – Визначення констант швидкості реакції вловлення ОН-радикалів *in vitro* для зразків ОГр, модифікованих Mn-порфірином та ензимом СОД.

3.1.3 Вплив pH та температури на здатність вловлювати ОН-радикали

Дослідження активності ОГр в залежності від pH показало, що зміна pH середовища суттєво впливає на каталітичні властивості багатошарових графенів (рис. 3.8).

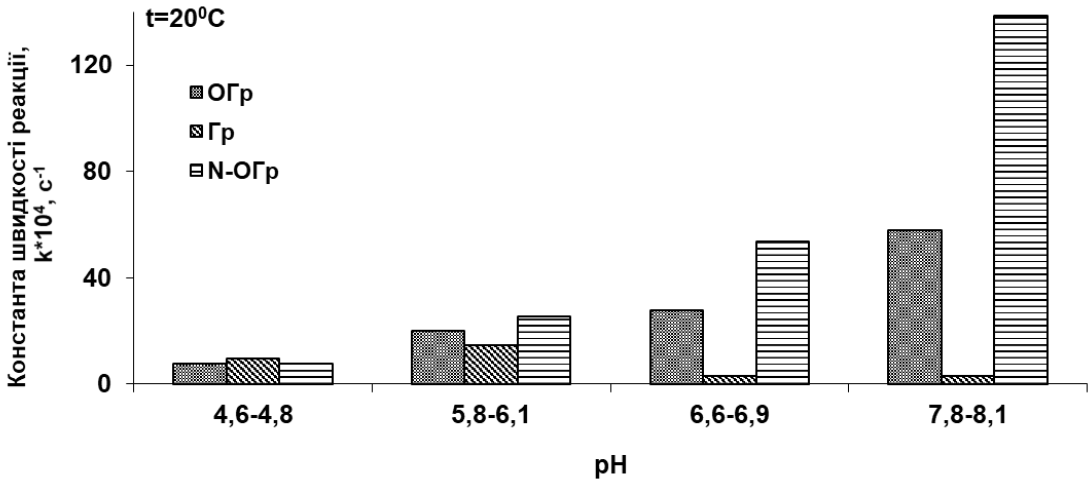


Рисунок 3.8 – Залежність константи швидкості реакції розкладання H_2O_2 від pH.

Константа швидкості реакції розкладання зразками ОГр зростає зі зростанням pH від 7,5 до $58*10^{-4}$ $с^{-1}$, а N-ОГр – від 7,7 до $138*10^{-4}$ $с^{-1}$. Цей факт свідчить, що хімічна природа вуглецевих матеріалів, представлена кисневими чи основними групами відіграє досить суттєву роль в реакції розкладання H_2O_2. Цей висновок також підтверджується pH-залежністю на відновлених формах ОГр, активність яких майже не залежить від pH і перевищує активність інших модифікованих форм лише в слабколужному середовищі.

Як вже зазначалось, швидкість розкладання пероксиду водню збільшується при підвищенні pH системи. Це може бути пов’язано зі станом COOH-груп, які в лужних pH переходять в іонну (сольову форму) і сприяють каталітичному акту. При зниженні pH ці групи стають протонованими і тому є неактивними, адже загальновідомим є факт, що присутність на поверхні COOH-груп знижує каталітичну активність матеріалів в реакції розкладання H_2O_2 [82]. Зразки ОГр мають високі значення СОЄ і тому є достатньо активними в даній реакції, особливо при pH~7,8. Як і очікувалось, додаткове введення гетероатому азоту у структуру ОГр підвищує його каталітичну активність в 2,5 рази.

Порівнюючи каталітичну активність зразків ОГр із каталазою (рис. 3.9), варто зазначити, що ні активність ОГр та N-ОГр, не досягає активності самого ферменту. Ґрунтуючись на розрахунках константи Міхаеліса, каталаза є активнішою за

багатошарові графени в 15 разів (pH~4,8). Проте, при підвищенні pH до ~7,8 активність ОГр та його азотовмісних форм зростає в 3-5 разів, і значення константи Міхаеліса наближаються до значень K_M каталази.

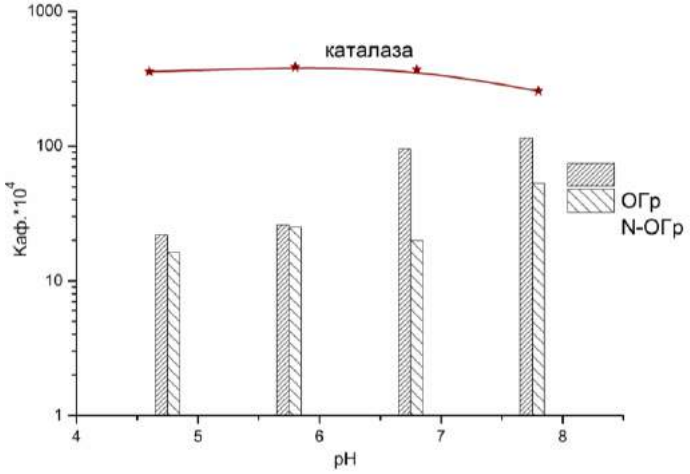


Рисунок 3.9 – Залежність активності зразків оксидів графену та каталази від pH.

При дослідження впливу температури на активність вихідних ОГр спостерігається різке зростання константи швидкості після 30°C, що може бути пов’язано зі збільшенням кількості каталітичних центрів на поверхні внаслідок поступового руйнування структури за високих температур. Використовуючи рівняння Арреніуса було розраховано значення енергії активації, що для ОГр становить 50 кДж/моль.

3.2 Вивчення здатності синтезованих ОГр та його похідних щодо вловлювання DPPH радикалу

Однією із тестових реакцій визначення антиоксидантних властивостей вуглецевих метеріалів є активність в реакції вловлювання DPPH радикалу (структура наведена на рис. 3.10). Цей радикал є відносно стійким у розчинах метанолу та етанолу, а методика визначення його грунтується на калориметричному вимірюванні зміни кольору розчину з фіолетов на жовтий. Активність поглинання DPPH радикалів вимірювали за допомогою методики, описаній в [83]. До зразків ОГр з різними концентраціями та об’ємом 0,5 мл додавали 500 мкл розчину DPPH (концентрацією 100 мкМ в метанолі) та поміщали у темряву протягом 1 години при

25°C. Поглинання вимірювали при 517 нм за допомогою спектрофотометра, а ефективність вловлювання розраховували за формулою 3.1.

$$\%DPPH = \left(1 - \frac{A_s - A_{blank}}{A_{control} - A_{blank}}\right) * 100 \quad (3.1),$$

де A_s – значення адсорбції розчину зразку із DPPH розчином; A_{bkank} – значення адсорбції метанолу; $A_{contlol}$ – значення адсорбції розчину DPPH та метанолу.

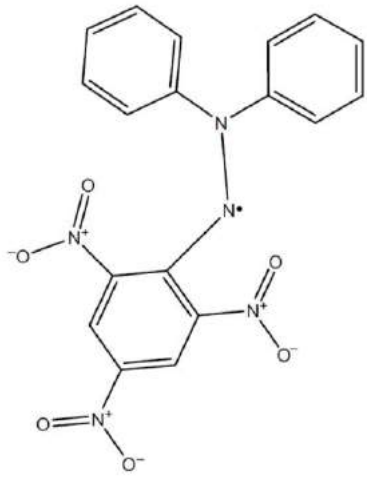
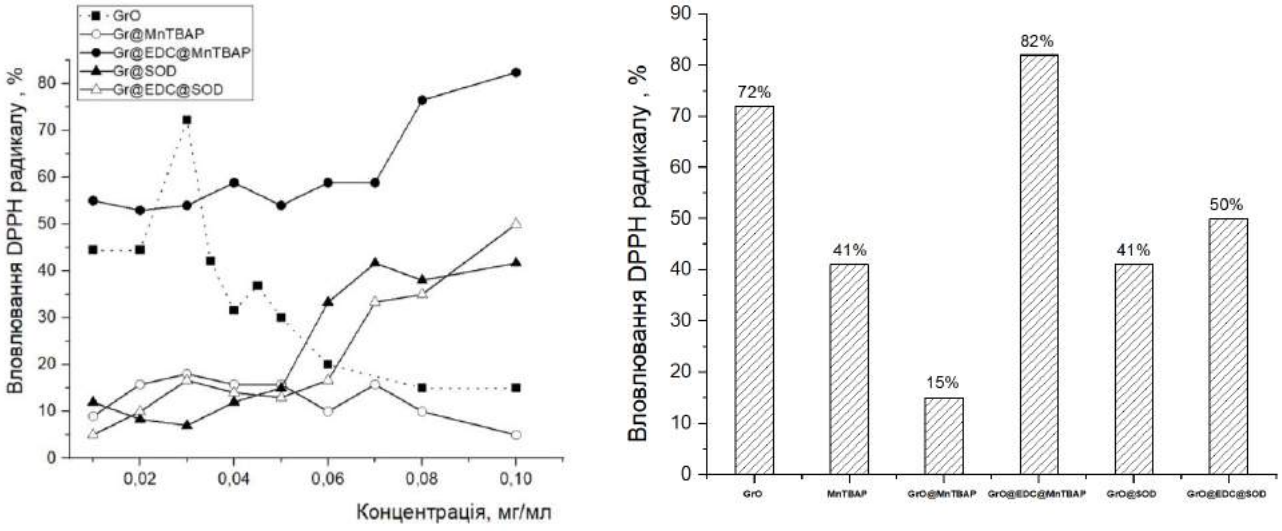


Рисунок 3.10 – Структура DPPH радикалу.

Отримані результати кінетики вловлювання DPPH радикалу, та порівняння активності різних зразків наведено на рисунку 3.11.



(а) (б)

Рисунок 3.11 – Активність ОГр та його модифікованих форм щодо вловлювання DPPH радикалу: (а) залежність активності від концентрації зразку; (б) порівняння максимальної активності різних зразків.

З рисунку 3.11 можна зробити висновок, що активність всіх зразків значно залежить від їх концентрації, а активність вихідних ОГр має екстремум при 0,03 мг/мл. Найактивнішим в даній реакції, як і в попередньому випадку із ОН-радикалом, виявився зразок ОГр із хімічно іммобілізованим Mn-порфірином, що має активність понад 80%. Ефективність вихдного зразку є дещо нижчою і становить 72%. Зразки із іммобілізованими ферментами проляють найнижчу здатність вловлювати DPPH радикал, що, найімовірніше, пов'язано із значною зміною структури ферменту під час його іммобілізації та інактивації як фермента так і площини графена. 3.3 Вивчення здатності синтезованих ОГр та його похідних щодо вловлювання супероксид радикалу (O_2^{-*})

Реакцію вловлювання СР проводили відповідно до методики, описаній в [8]. Метод грунтується на використанні подвійної ферментної системи – ксантиноксидаза-супероксидисмутаза (рис. 3.12).

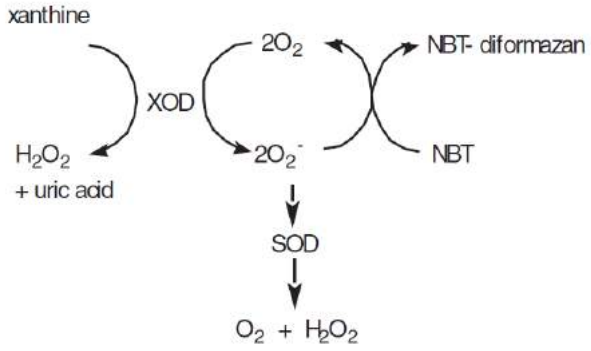


Рисунок 3.12 – Метод визначення СР в розчині ОГр та його похідних

Ксантиноксидаза, використовуючи ксантин, утворює СР, який в свою чергу змінює колір барвника NBT (4-Nitro blue tetrazolium chloride). СОД, який деактивує СР вступає в конкурентну реакцію із NBT, зменшуючи швидкість деколоризації. Таким чином можна визначити активність СОД фермента, а також СОД-подібну активність отриманих зразків. Ця методика є достаньо складною і детально описана в [8]. В даному звіті ми приведемо лише результати, отримані при дослідженні ефективності зразків за цією методикою (рис. 3.13 та 3.14). Активність вихідного ферменту експонетціально зростає із концентрацією і досягає максимуму при 5 од.акт./мл.

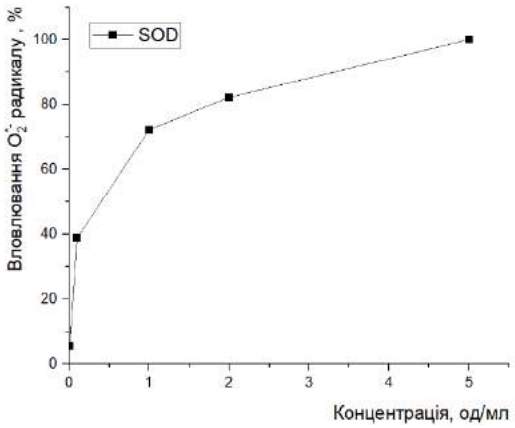
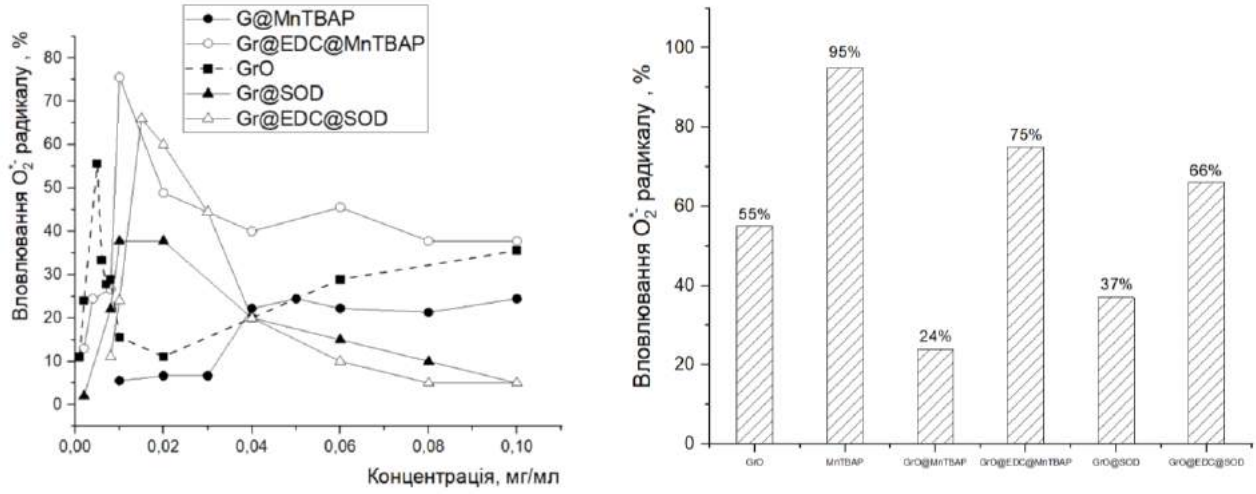


Рисунок 3.13 –Залежність активності СОД фермента від концентрації в реакції вловлювання СР.

Жоден із синтезованих зразків не досягає 100% максимуму при вловлюванні СР, проте їх ефективність залишається достатньо високою, при чому залежність їх ефективності від концентрації має екстремальний характер із максимум від 0,005 (для ОГр) до 0,02 мг/мл (для Gr@EDC@SOD) зразків. Як і в попередньому випадку максимальну активність має зразки ОГр із хімічно іммобілізованим MnTBAP, що в черговий раз доводить доцільність такої модифікації.



(а) (б)

Рисунок 3.14 – Активність ОГр та його модифікованих форм щодо вловлювання СР: (а) залежність активності від концентрації зразку; (б) порівняння максимальної активності різних зразків.

4 ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМУ ВЛОВЛЮВАННЯ АФК ТА АФА ГРАФЕНОПОДІБНОЮ ПЛОЩИНОЮ ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ КВАНТОВО-ХІМІЧНИХ МЕТОДІВ МОДЕЛЮВАННЯ

Квантово-хімічні розрахунки проводили на графенових кластерах різного розміру, починаючи із найменшого – пірену, та закінчуючи кластером розміром в 150 атомів Карбону. Всі розрахунки були проведені за допомогою програми GAMESS (US) [84] методом теорії функціонала густини (DFT) з функціоналом B3LYP [85, 86] і базисним набором 3-21G(d,p) з врахуванням дисперсійної поправки Грімме - D3 [87, 88].

4.1 Взаємодія СР із піреном та його похідними

Для початку необхідно було встановити можливість утворення хемосорбованого комплексу між СР O_2^{*-} (рис. 4.1 (а)) та графеноподібним кластером, а також його геометрію і енергетичні характеристики. Для цього було використано молекулу пірена (рис. 4.1 (б)), яка складається з чотирьох конденсованих бензольних кілець. Крім того, щоб з'ясувати, як впливають оксиген- та нітрогенвмісні функціональні групи на процес хемосорбції СР, було використано похідні пірена з різними функціональними групами (рис. 4.1 (в-ж)).

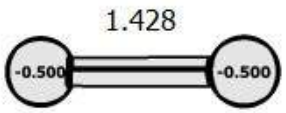
Було припущено, що взаємодія СР з вихідним та модифікованим піреном відбувається за наступною схемою (4.1):

$$\text{Адсорбент} + O_2^{*-} \rightarrow \text{Адсорбент} \cdots O_2^{*-} \quad (4.1)$$

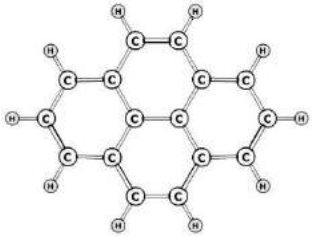
Тоді енергія хемосорбції СР (ΔE_{ads}) розраховувалась за наступною формулою (4.2):

$$\Delta E_{\text{адс}} = \left(E_{\text{тот}}(\text{Адсорбент} \cdots O_2^{*-})\right) - \left((E_{\text{тот}}(\text{Адсорбент}) + E_{\text{тот}}(O_2^{*-})\right) \quad (4.2)$$

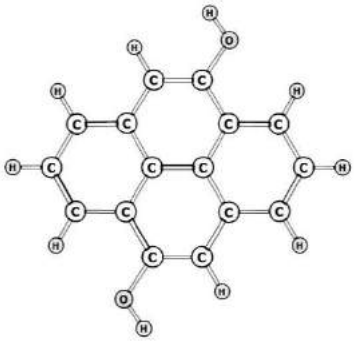
де $E_{\text{тот}}(\text{Адсорбент} \cdots O_2^{*-})$ – повна енергія адсорбційного комплексу, $(E_{\text{тот}}(\text{Адсорбент}))$ – повна енергія адсорбента, $(E_{\text{тот}}(O_2^{*-}))$ – повна енергія СР.



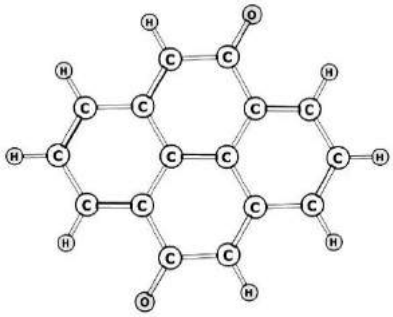
(а)



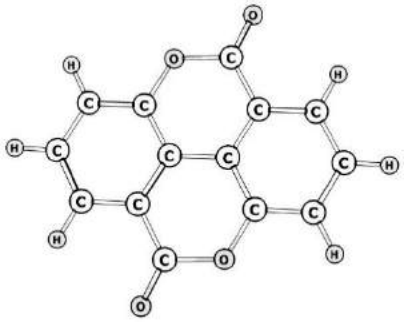
(б)



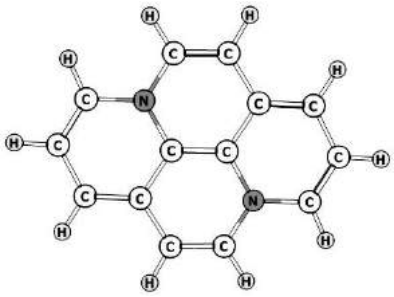
(в)



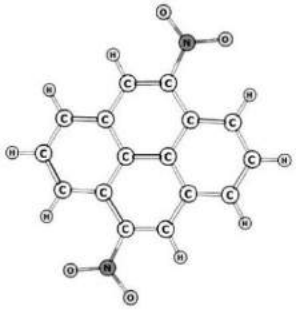
(г)



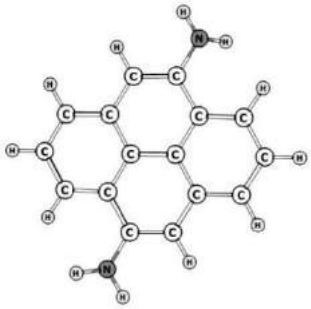
(д)



(е)



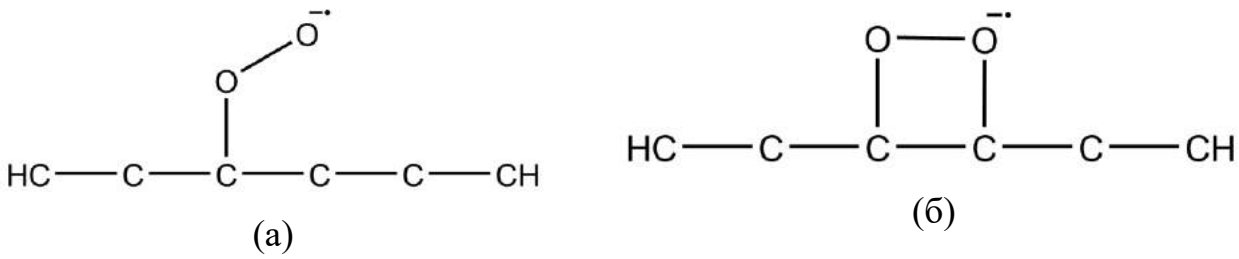
(є)



(ж)

Рисунок 4.1 – Моделі, використані для дослідження: СР (а), пірен (б), та модифіковані пірени з двома гідроксигрупами (в), кеторупами (г), лактонними групами (д), атомами Нітрогену (е), аміногрупами (є), модифікований та нітрогрупами (ж).

Припускається, що з графеноподібною площиною O_2^{*-} може з'єднуватись як одним атомом кисню (рис. 4.2 (а)), так і двома (рис. 4.2 (б)).



(а) (б)

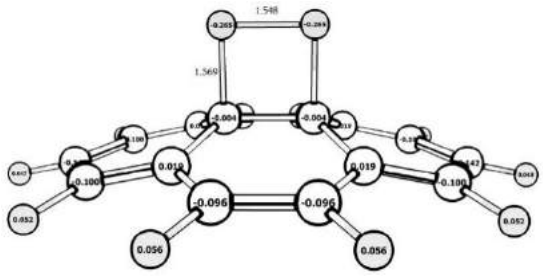
Рисунок 4.2 – Можливі схеми взаємодії СОАР з графеноподібною поверхнею.

Структуру хемосорбованого "Адсорбент $\cdots O_2^{*-}$" комплексу, зображену на рис. 4.2 (а) не вдалось локалізувати. Однак, структура, що схематично представлена на рис. 4.2 (б) успішно локалізувалась, при цьому, існує взаємодія двох атомів Оксигену лише із двома сусідніми в ароматичному кільці атомами Карбону, а структури, в яких взаємодіючі два атоми Карбону через один чи більше атомів не вдалось оптимізувати.

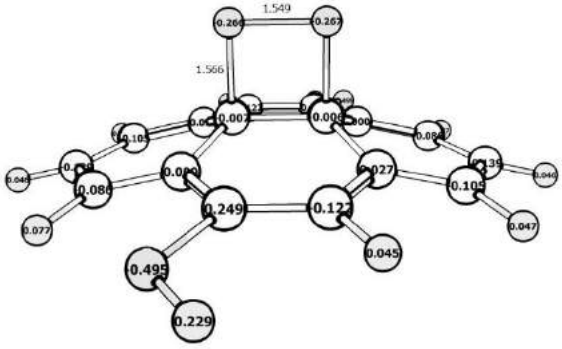
У вихідному СР (рис. 4.1 (а)) міжатомна відстань 1,428 Å, і негативний заряд (за Маллікеном в атомних одиницях заряду, а. о. з) розподілений порівну на кожний атом Оксигену по -0,5 а. о. з. Як видно з рис. 4.3 (а), в хемосорбованому комплексі з молекулою пірену, заряд на атомах Оксигену зменшився до -0,265 а. о. з, що відчить про перерозподіл електронної густини з атомів Оксигену аніон-радикала до атомів Карбону молекули пірену, тому ослаблюється зв'язок (О–О) і відстань міжатомна становить 1,548 Å. Відстань між атомами О–С становить 1,57 Å. Подібна будова хемосорбованого комплексу спостерігається і для пірена, модифікованого двома гідроксильними (–ОН) групами (рис. 4.3 (б)). В комплексі у якого наявні два карбонільні атоми Оксигену на периферії (рис. 4.3 (в)) на атомах Оксигену хемосорбованого СР, електронної густини ще менше (-0,247 та -0,248 а. о. з відповідно), а відстань О–О також є більшою, порівняно з попередніми випадками і становить 1,559 Å. Для комплексу пірена з двома лактонними групами відстань між хемосорбованими атомами Оксигену виявляється ще більшою (1,563 Å), як видно з рис. 4.3 (г), однак електронна густина на цих атомах незначно більша в порівнянні з попереднім випадком і становить по -0,258 а. о. з на кожний атом Оксигену. Для

хемосорбційного комплексу, у якого два атома Карбону замінені на атоми Нітрогену (рис. 4.3 (д)), відстань між атомами Оксигену є коротшою від всіх розглянутих вище випадків, і становить 1,537 Å, а електронна густина на цих атомах порівняно значна (по -0,274 а. о. з на кожний атом О). Для амінованого пірену (рис. 4.3 (е)), відстань між атомами Оксигену дещо збільшена (1,550 Å) в порівнянні з попереднім випадком (піреном із заміщеними атомами Нітрогену) на 0,013 Å, а заряди на цих атомах О, залишилися майже такими самими (-0,276 а. о. з). І нарешті, для динітровмісного пірена зображеного на рис. 4.3 (є), міжатомна відстань О–О більша, в порівнянні з нітровмісним і становить 1,555 Å, а заряди на цих атомах менші за абсолютною величиною (-0,237 а. о. з). Крім цього, слід звернути увагу, що порівнюючи заряди на атомах Нітрогену в цих трьох випадках, видно, що найбільш негативні значення мають атоми N в хемосорбованому комплексі на рис. 4.3 (д) (-0,777 а. о. з), тоді як для аналогічних атомів в аміногрупах ця величина менша за абсолютною величиною і становить -0,556 а. о. з (рис. 4.3 (е)), а на атомах Нітрогену в нітрогрупах ця величина ще менша (-0,009 а. о. з), що й не дивно, оскільки електронна густина в нітрогрупах перетягується на сусідні атоми Оксигену (рис. 4.3 (є)).

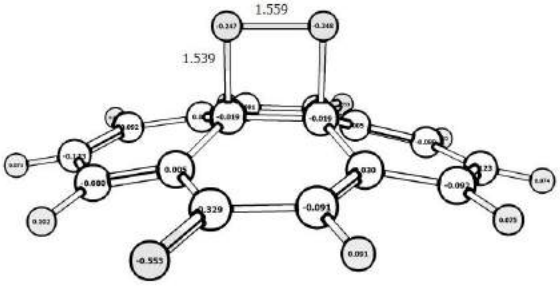
Розраховані значення енергії адсорбції за формулою (1) для хемосорбованих структур, зображених на рис. 4.3, представлено в таблиці 4.1, з якої видно, що найменша енергія хемосорбції становить для амінованого пірену (-16,7 кДж/моль), а найбільше її значення є для комплексу з піреном у якого присутні два карбонільних атома Оксигену на периферії (-265,5 кДж/моль). Досить значна величина ΔE_{ads} , яка становить -186,8 кДж/моль для комплексу, у якого в молекулі пірену два атома Карбону замінені на два атоми Нітрогену (рис. 4.3 (д)).



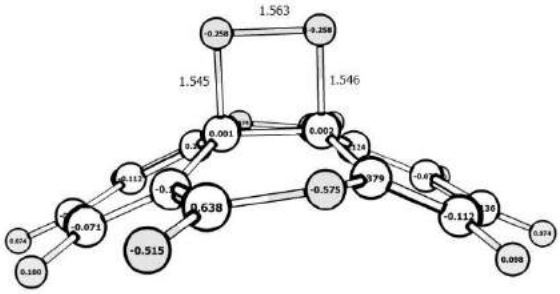
(а)



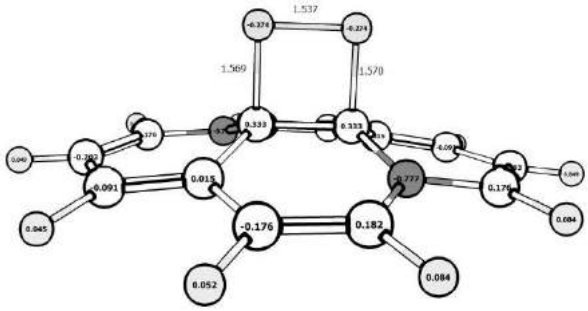
(б)



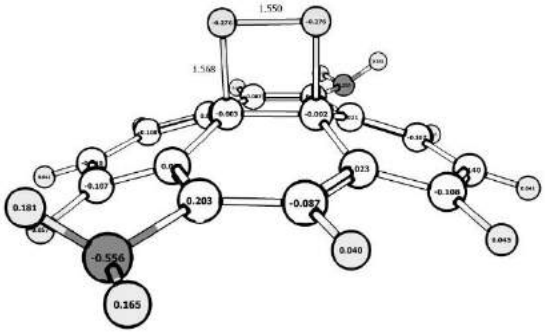
(в)



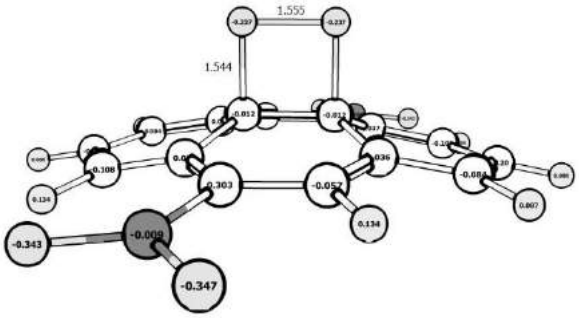
(г)



(д)



(е)



(є)

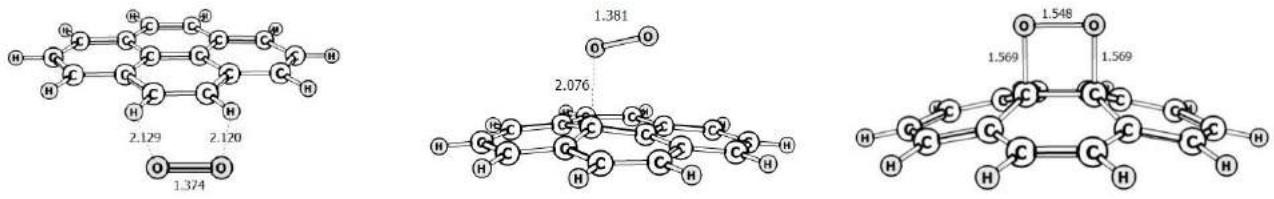
Рисунок 4.3 – Хемосорбовані комплекси СР і пірену (а), та пірену модифікованого двома гідроксигрупами (б), кетогрупами (в), лактонними групами (г), атомами Нітрогену (д), диамінопірену (е), динітропірену (є).

Таблиця 4.1 – Енергетичний ефект взаємодії СР з вихідним та модифікованим піреном

Продукт взаємодії	$E_{тот}(O_2^{*-})$	$E_{тот}$ (Адсорбент)	$E_{тот}$ (Адсорбент $\cdots O_2^{*-}$)	$\Delta E_{адс}$ (кДж/моль)
(Адсорбент $\cdots O_2^{*-}$)	149,44619	-612,44403	-761,90192	-30,7
(Адсорбент$(OH)_2 \cdots O_2^{*-}$)	149,44619	-762,06784	-911,522019	-20,9
(Адсорбент$(=O)_2 \cdots O_2^{*-}$)	149,44619	-760,78101	-910,328412	-265,5
(Адсорбент(лактон)$_2 \cdots O_2^{*-}$)	149,44619	-833,47316	-982,95629	-96,9
(Адсорбент$(N)_2 \cdots O_2^{*-}$)	149,44619	-645,46104	-794,978439	-186,8
(Адсорбент$(NH)_2 \cdots O_2^{*-}$)	149,44619	-722,56579	-872,018344	-16,7
(Адсорбент$(NO)_2 \cdots O_2^{*-}$)	149,44619	-1019,1218	-1168,63564	-177,4

Отже, аналіз результатів попередніх квантовохімічних розрахунків свідчить, що наявність різних функціональних груп в складі графеноподібної площини, значно впливає на енергетичний ефект реакції хемосорбції а також на перерозподіл електронної густини в утвореному продукті взаємодії СР з вихідним та модифікованим піреном, та на геометрію хемосорбованого комплексу.

Був також встановлений перехідний стан (ПС) для реакції взаємодії СР з вихідною молекулою пірена (рис. 4.4) з досить малою уявною частою перехідного вектора (i198,82 см$^{-1}$). Також методом IRC [89, 90] локалізовано комплекс вихідних речовин (ВР), що відповідає на поверхні потенціальної енергії цьому перехідному стану, та підтвердити, що даний ПС відповідає необхідному нам продукту реакції (ПР).



ВР ПС ПР

Рисунок 4.4 – Етапи взаємодії СОАР з графеноподібною площиною.

Це дозволило порахувати енергію активації цієї ракції за формулою (4.3):

$$E_{\text{акт}} = \text{E}_{\text{тот}}(\text{ПС}) - \text{E}_{\text{тот}}(\text{ВР}) \quad (4.3)$$

де $\text{E}_{\text{тот}}(\text{ПС})$ – повна енергія перехідного комплексу, $\text{E}_{\text{тот}}(\text{ВР})$ – повна енергія комплексу вихідних речовин.

Розрахована енергія активації за формулою (4.3) становить 91,6 кДж/моль. Дану величину можна порівняти з аналогічними величинами для взаємодії СР з модифікованою Оксиген- і Нітрогенвмісними функціональними групами молекулою пірена.

4.2 Взаємодія СР із графеноподібною площиною $C_{42}H_{16}$, модифікованою різними функціональними групами

Кон’югований поліароматичний кластер $C_{42}H_{16}$ ($Gr|^{Clus}$) та кластери з різними кисневмісними (гідроксильними, кетонними та піронними групами; $GrO|^{Clus}$) та азотвмісними (четвертинний азот, аміно- та нітрогрупи; $N\text{-}Gr|^{Clus}$) групами використовували для моделювання В-ОГр, ОГр та N-ОГр відповідно (рис. 4.5). Розмір вибраних кластерів значно перевищує розмір СР, тому вважається що краєві ефекти є мінімальними. Взаємодія СР із модельними кластерами у водних розчинах розглядалась як реакція заміщення молекули води на радикал на поверхні графенової площини (рис. 4.6).

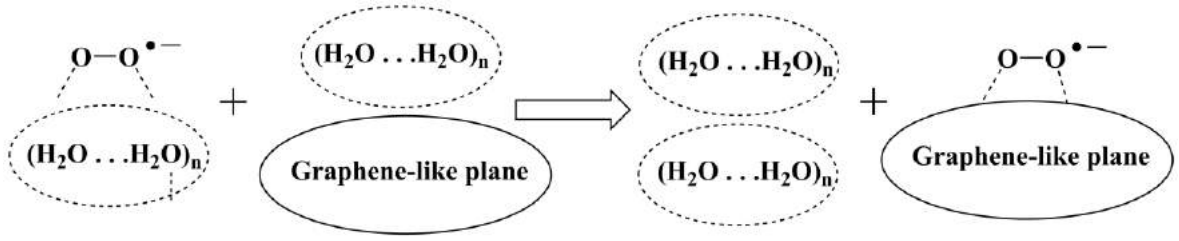


Рисунок 4.6 – Моделювання реакції заміщення молекули води, адсорбованої графеновою площиною на молекулу супероксид-радикалу у водному розчині.

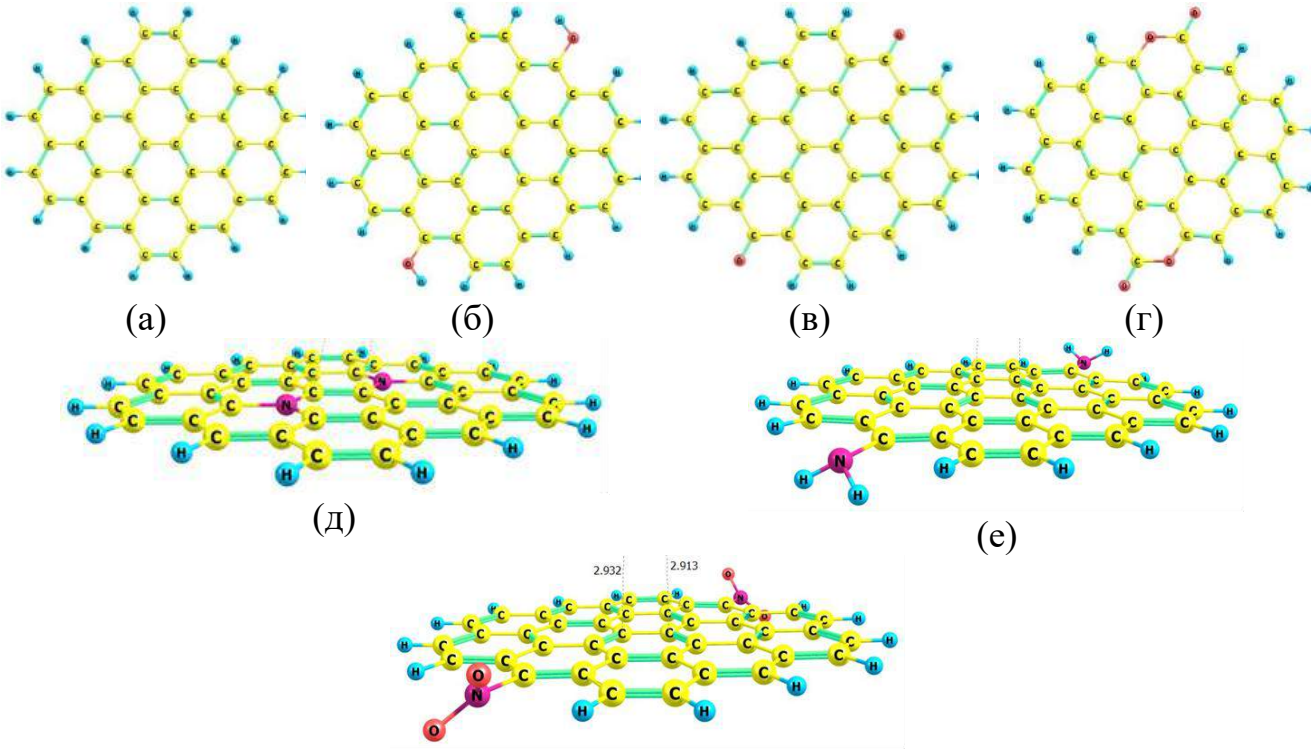


Рисунок 4.5 – Модельні поліароматичні кластери: (а) В-ОГр (Gr|^{Clus}), (б) ОГр з 2-ма гідроксильними групами GrO|$^{Clus(OH)}$, (в) ОГр з 2-ма карбонільними групами GrO|$^{Clus(C=O)}$, (г) ОГр з 2-ма піронними групами GrO|$^{Clus(O-C=O)}$, (д) N-ОГр з 2-ма четвертинними азотами N-GrO|$^{Clus(Nquat)}$, (е) N-ОГр з 2-ма аміногрупами N-GrO|$^{Clus(NH2)}$, (є) N-ОГр з 2-ма нітрогрупами N-GrO|$^{Clus(NO2)}$.

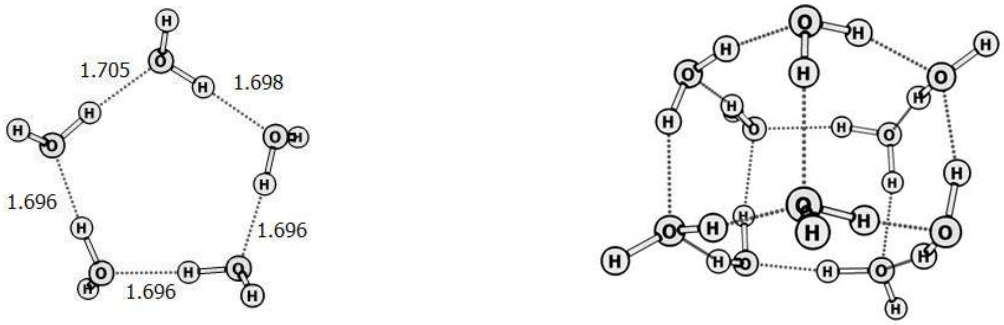
Енергії фізичної та хімічної адсорбції розраховували за формулами:

$$\Delta E ph.ads = \left((E_{tot}(2nH_20) + E_{tot}(Gr|^{Clus} \dots O_2^{*-})\right) - \left((E_{tot}(O_2^{*-} \dots nH_20) + E_{tot}(Gr|^{Clus} \dots nH_20)\right) \quad (4.4)$$

$$\Delta E chem.ads = \left((E_{tot}(2nH_20) + E_{tot}(Gr|^{Clus} - O_2^{*-})\right) - \left((E_{tot}(O_2^{*-} \dots nH_20) + E_{tot}(Gr|^{Clus} \dots nH_20)\right) \quad (4.5)$$

де E_{tot} (2nH_2O) – сумарна енергія кластеру, що містить 2n молекул води; E_{tot} (Gr|^{Clus} ···$O_2^{\bullet-}$) – сумарна енергія фізично адсорбованого комплекусу; E_{tot} (Gr|^{Clus}–$O_2^{\bullet-}$) – сумарна енергія хімічно адсорбованого комплексу; E_{tot} (O_2 $^{\bullet\ -}$···n H_2O) – проміжний комплекс молекули із водним кластером; E_{tot} (Gr|^{Clus}···n H_2O) – сумарна енергія гідратованої графенової поверхні.

Спершу нами було змодельовано водний кластер (ВК, рис. 4.7). Він складається з п’яти молекул води, що об’єднані в п’ятичленний цикл – т.зв. хомодромний кластер (5-ВК, рис. 4.7 (а)) [91]. Літературний пошук показав, що саме такі кластери є найбільш термодинамічно стійкі з найменш можливих та експериментально зафіксованих в твердому, рідкому та газоподібних станах [92, 93]. Після заміщення молекул води на поверхні $Gr|^{Clus}$ молекулою СР, утворюється водний кластер, що складається з 10-ти молекул води (10-ВК, рис. 4.7 (б)).



(а) (б)

Рисунок 4.7 – Рівноважна структура (а) 5-ВК з 5-ма молекулами води та (б) 10-ВК з10-ма молекулами води. Тут та надалі довжина зав’язків в Å.

Енергетична діаграма взаємодії СР із гідратованим кластером $Gr|^{Clus}$ у водному розчині наведено на рис.4.8. 5-ВК та $Gr|^{Clus}$ утворюють міжмолекулярний комплекс, що зв’язаний водневими зв’язками та орієнтований паралельно площині на відстані 2,5 – 3 Å (рис. 4.8, ліворуч). Водночас, при взаємодії СР з 5-ВК структура останнього змінюється. Після заміщення 5-ВК на СР, утворюється комплекс 10-ВК разом із міжмолекулярним комплексом на відстані 2,95 Å (рис. 4.8, центральне зображення). Цей процес термодинамічно можливий згідно з отриманим розрахунковим значення енергії фізичної адсорбції, яка становить – 8,6 кДж/моль. Наступне наближення СР до $Gr|^{Clus}$ призводить до утворення хемосорбованого комплексу (рис. 4.8, праворуч), в якому утворюється ковалентний зв'язок між атомами карбону та оксигену довжиною 1,52 Å. В цьому випадку відстань O – O в SR зростає з 1,24 Å до 1,48 Å. Можна припустити, що електронна густина із поверхні СР перерозподіляється на кластер $Gr|^{Clus}$. Проте, енергія хемосорбції має додатне значення ($\Delta E_{chem.ads}$ + 200.6 кДж/моль),

що свідчить про низьку ймовірність формування такого хемосорбованого комплексу у водних розчинах. Аналогічні розрахунки були проведені для всіх кисневмісних та азотовмісних кластерів (див. табл. 4.2).

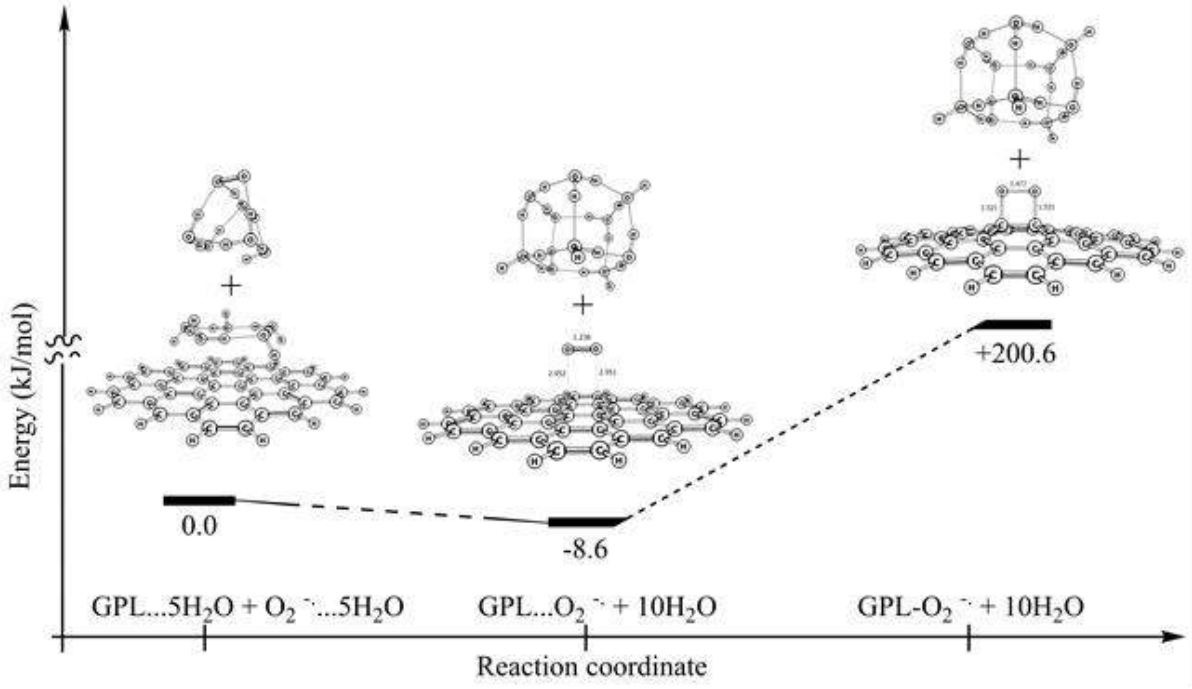


Рисунок 4.8 – Енергетична діаграма взаємодії СР з гідратованим $Gr|^{Clus}$ у водному розчині.

Таблиця 4.2 – Енергетичні параметри реакції взаємодії супероксид-радикалу із графеновими площинами

Графеновий кластер	$\Delta E_{ph.ads}$, кДж/моль	$\Delta E_{chem.ads}$, кДж/моль
$Gr\|^{Clus}$	-8.6	+200.6
$GrO\|^{Clus(OH)}$	+32.1	+207.8
$GrO\|^{Clus(C=O)}$	-109.7	+123.5
$GrO\|^{Clus(O-C=O)}$	-10.7	+148.6
$N\text{-}GrO\|^{Clus(Nquat)}$,	-16.7	-3.4
$N\text{-}GrO\|^{Clus(NH2)}$,	+9.8	+218.3
$N\text{-}GrO\|^{Clus(NO2)}$	-50.1	+138.4

Аналіз отриманих розрахунків показує, що присутність різних функціональних груп на поверхні графену суттєво впливає на хемосорбцію вільних радикалів на їх поверхні та змінює перерозподіл електронної густини в утворених комплексах. Квантово-хімічні розрахунки доводять, що найвище значення енергії фізичної сорбції (- 109.7 кДж/моль) спостерігається для кисневмісної поверхні із кетонними групами на периферії площини, тоді як найнижче значення (+ 32.0 кДж/моль) – для кластера із гідроксильними групами. Енергії хемосорбції майже в усіх випадках значно вищі за одиницю, що свідчить про неможливість такого процесу. Виключенням є лише азотований кластер із четвертинним азотом, в якому обидва процеси, як фізична так і хімічна сорбція вільних радикалів є енергетично вигідними. Найімовірніше, що ефект вловлення графеновою площиною вільних радикалів відбувається за рахунок їх фізичної сорбції.

4.3 Квантово-хімічне дослідження взаємодії ебселену з графеноподібною площиною

Ебселен (2-феніл-1,2-бензоселеназол-3(2H)-он) – нетоксичний селеноорганічний препарат з протизапальними, антиатеросклеротичними та цитопротекторними властивостями, зокрема, при лікуванні гострих інфарктів. Молекулярна дія ебселену сприяє його протизапальним та антиоксидантним властивостям, які були продемонстровані в різних моделях *in vivo*. Численні експерименти *in vitro* з використанням ізольованих ліпосом, мікросом, клітин та органів показали, що ебселен захищає від окисидативного стресу. На відміну від багатьох неорганічних та аліфатичних сполук селену, ебселен має низьку токсичність, оскільки метаболізм сполуки не вивільняє фрагмент селену, який залишається в структурі кільця. Подальший метаболізм включає метилювання, глюкуронування та гідроксилювання. Експериментальні дослідження на щурах та собаках показали, що ебселен здатний пригнічувати як спазм судин, так і пошкодження тканин у моделях інсульту, що корелює з його інгібуючою дією на окислювальні процеси [94, 95]. Припускається, що лікарський композит, що складається з ебселену і нативного

графену а також окисненого графену буде мати підвищену фармакологічну активність щодо лікування інсульту в порівнянні з вихідними речовинами окремо. Для цього насамперед потрібно дослідити можливість взаємодії цих речовин на атомно-молекулярному рівні. Тому, однією із задач, поставлених перед нами було дослідити методами квантової хімії взаємодії ебселену з чистою та модифікованою (гідроксильними групами) графеноподібною площиною у водному розчині на супермолекулярному рівні, тобто з явним врахуванням молекул води як розчинника.

Молекула ебселену має бутто-слад – $C_{13}H_9NOSe$ та просторову будову, що зображена на рис. 4.9. За модель графеноподібної площини було обрано кластери, наведені передньому розділі.

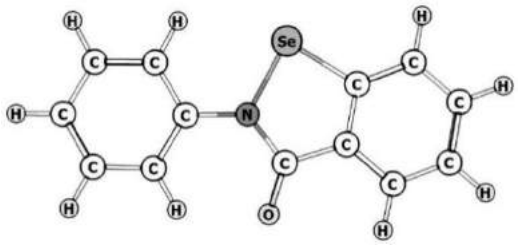


Рисунок 4.9 – Модель ебселену, використана для квантово-хімічних розрахунків.

Енергія міжмолекулярної взаємодії в газовій фазі (ΔE) розраховувалась за формулою:

$$\Delta E_{int} = E_{tot}(Gr|^{Clus} \dots Ebs) - ((E_{tot}(Gr|^{Clus}) + E_{tot}(Ebs)) \qquad (4.6)$$

де $E_{tot}(Gr|^{Clus} \dots Ebs)$ – повна енергія міжмолекулярного комплексу, ($E_{tot}(Gr|^{Clus}$) та $E_{tot}(Ebs)$ – повні енергії графеноподібної площини і молекули ебселену, відповідно.

Для оцінки впливу води на взаємодію ебселену з $Gr|^{Clus}$ використано кластери молекул води різного розміру (рис. 4.10). Для розуміння впливу молекул води на процес адсорбції у водному розчині розраховано енергію гідратації (ΔE_{hydr}) як енергію міжмолекулярної взаємодії між кластером води і гідратованою молекулою ебселену чи графеноподібної площини за формулою:

$$\Delta E_{hydr} = E_{tot}\left(Gr|^{Clus\ (or\ Ebs)} \ldots nH_2O\right) - ((E_{tot}(nH_2O) + (E_{tot}\left(Gr|^{Clus(or\ Ebs)}\right)) \qquad (4.7)$$

де $E_{tot}(Gr|^{Clus} \ldots nH_2O)$ – повна енергія гідратованоuj ебселену чи графеноподібної площини, $E_{tot}(nH_2O)$– повна енергія кластеру, що складається з n (5 або 8) молекул води, $E_{tot}\left(Gr|^{Clus(or\ Ebs)}\right)$ – повна енергія досліджуваної молекули ебселену чи графеноподібної площини.

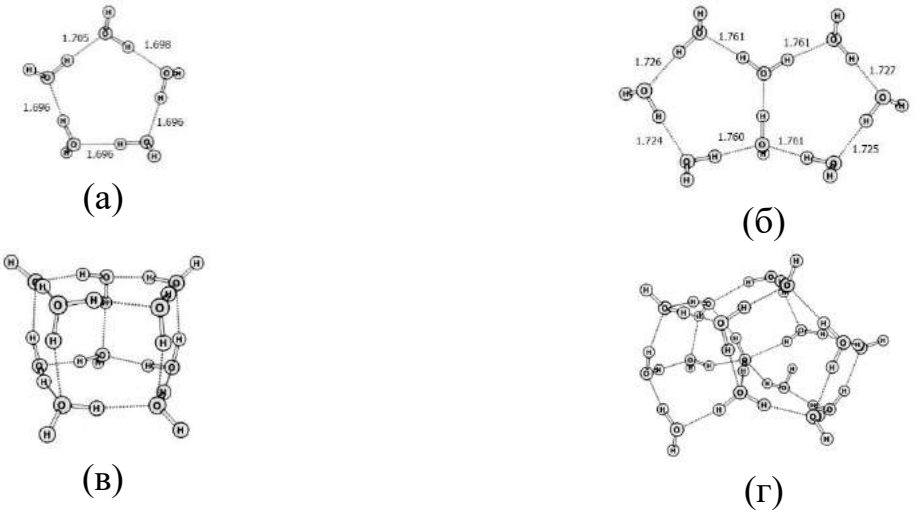


Рисунок 4.10 – Рівноважна геометрія міжмолекулярних комплексів: а – з кластер з 5 молекул води, б – кластер з 8 молекул води, в – з кластер з 10 молекул води, г – кластер з 16 молекул води (тут і далі міжатомна відстань в Å).

Взаємодія гідратованої молекули ебселену з $Gr|^{Clus}$, у водному розчині розглядалась як процес заміщення молекул води на поверхні площини графену молекулою ебселену (рис. 4.11).

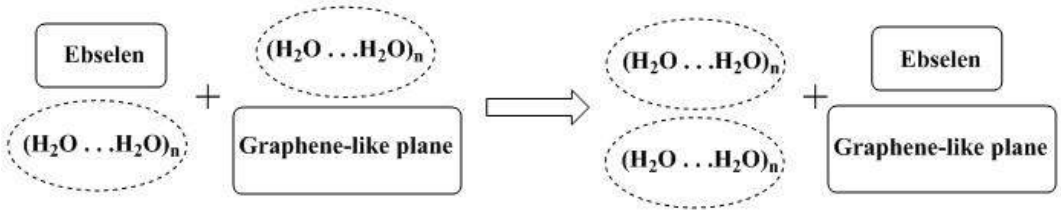


Рисунок 4.11 – Схема моделювання взаємодії гідратованої молекули ебселену з гідратованим $Gr|^{Clus}$.

Енергетичний ефект такого процесу ($\Delta E_{int.\ water}$) розраховувався за наступною формулою:

$$\Delta E_{int,water} = \left(E_{tot}(2nH_2O) + E_{tot}\left(Gr|^{Clus} \dots Ebs\right)\right) - ((E_{tot}(Ebs \dots nH_2O) + E_{tot}\left(Gr|^{Clus} \dots nH_2O\right)) \quad (4.8)$$

де $E_{tot}(2nH_2O)$ – повна енергія кластеру, що складається з 2n молекул води, $E_{tot}(Gr|^{Clus} \dots Ebs)$ – повна енергія міжмолекулярного комплексу графеноподібна площина – молекула ебселену, $((E_{tot}(Ebs \dots nH_2O))$ – міжмолекулярний комплекс молекули ебселену з кластером води, $E_{tot}(Gr|^{Clus} \dots nH_2O)$ – повна енергія гідратованої поверхні графеноподібної площини.

Розрахунки розпочинали із локалізації двох міжмолекулярних комплекси (рис. 4.12). Перший з них (рис. 4.12 (а)) являє собою систему з двох паралельних ароматичних площин ебселену і $Gr|^{Clus}$, які розміщені на відстані 3,37 Å одна від одної. Другий міжмолекулярний комплекс за будовою подібний до попереднього (рис. 4.12 (б)), але відстань між молекулами дещо більша і становить 3,42 Å. Енергія міжмолекулярної взаємодії для газової фази (ΔE_{int}) у випадку утворення комплексу ебселену з $Gr|^{Clus}$ має негативне значення і становить -135,5 кДж/моль. Це свідчить про термодинамічну ймовірність виникнення даного міжмолекулярного комплексу, який може утворитись за рахунок досить значних нековалентних взаємодій. Наявність гідроксильних груп у складі $Gr|^{Clus}$ незначно понижують енергію міжмолекулярних взаємодій до -138,3 кДж/моль.

(а) (б)

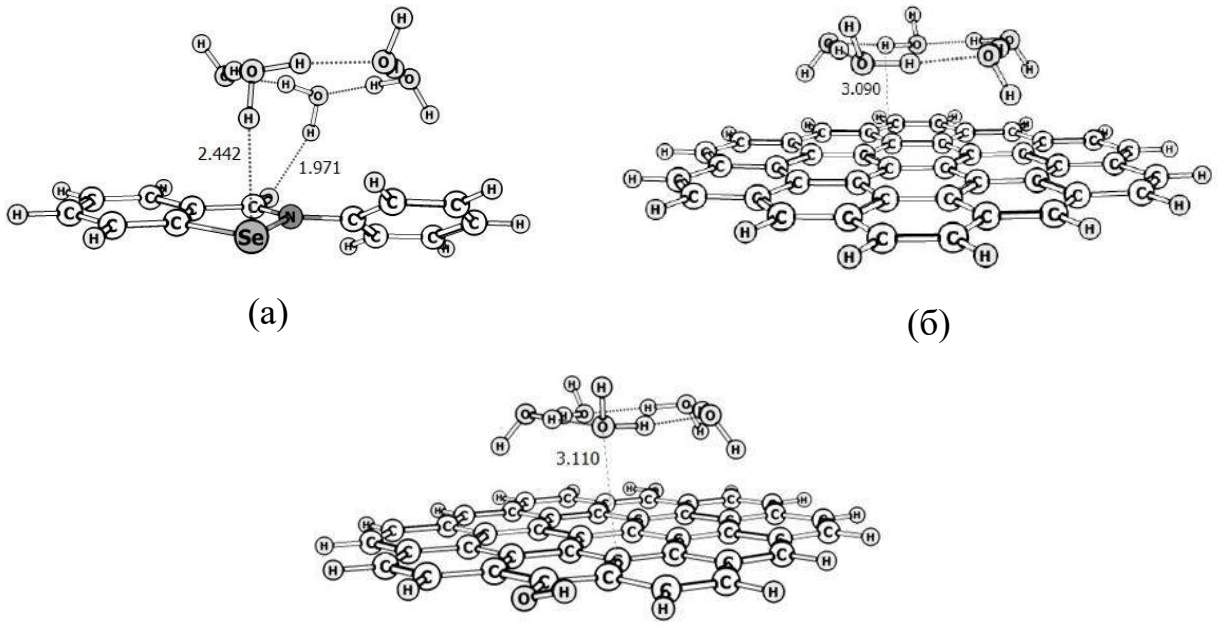
Рисунок 4.12 – Просторова будова міжмолекулярних комплексів молекули ебселену і: (а) – чистої графеноподібної площини, (б) – модифікованої графеноподібної площини двома гідроксильними групами.

Для з'ясування впливу гідратації на енергію адсорбції окремо взятих молекул ебселену та графеноподібної площини було враховано, що у водному розчині молекули розчинника можуть взаємодіяти як з молекулою ебселена так і з поверхнею $Gr|^{Clus}$. Кластер води утворює міжмолекулярні комплекси з молекулою ебселену та $Gr|^{Clus}$ без руйнування вихідних аналогічних з'єднань між молекулами води і без розриву п'ятичленного кільця, відбувається лише незначна його деформація (рис. 4.13). Як видно з рис. 4.13 (а), кластер води утворює водневі зв'язки з карбонільною групою ебселену, довжиною 1,97 Å. Крім цього, один із атомів Гідрогену молекули води координується до атома Селену (l(Se–O)=2.44 Å). Тому енергія гідратації (ΔE_{hydr}) даного міжмолекулярного комплексу досить значна і становить -109,4 кДж/моль. В наступному розглянутому міжмолекулярному комплексі (рис. 4.13 (б)) між кластером води і чистої $Gr|^{Clus}$, не утворюються специфічні взаємодії і в зв'язку з цим, відстань між ними, яка становить ≈ 3,1 Å є більшою, за аналогічну величину в попередньому комплексі. Енергія гідратації для цього комплексу також є меншою і становить -81,9 кДж/моль. Міжмолекулярний комплекс, який складається з п'яти молекул води і модифікованої графеноподібної площини двома гідроксильними групами за будовою мало чим відрізняється від попереднього (рис. 4.13 (в)). Кластер води розміщений на приблизно такій же відстані від модифікованої $Gr|^{Clus}$ (3,11 Å) і енергія гідратації майже така сама і становить -83,5 кДж/моль.

Таблиця 4.3 –Енергія міжмолекулярної взаємодії в газовій фазі (ΔE_{int}) та у водному розчині ($\Delta E_{int.\ water}$) молекули ебселену з чистою та модифікованою (гідроксильними групами) графеноподібною площиною (в кДж/моль).

	$C_{42}H_{16}$	$C_{42}H_{16}O_2$
Газова фаза	-135,5	-138,3
5 H_2O	-116,1	-117,4
8 H_2O	-139,8	-145,4

Як видно з таблиці 3.2, енергетичний ефект ($\Delta E_{int.\ water}$) процесу взаємодії гідратованої молекули ебселену з гідратованою графеноподібною площиною за участі п'ятичленного кластера води для $Gr|^{Clus}$ становить -116,1 кДж/моль. Аналогічна величина для модифікованої $Gr|^{Clus}$двома гідроксильними групами є незначно нижчою і становить -117,4 кДж/моль.



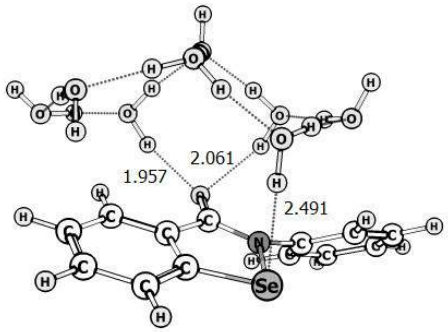
(а) (б)

(в)

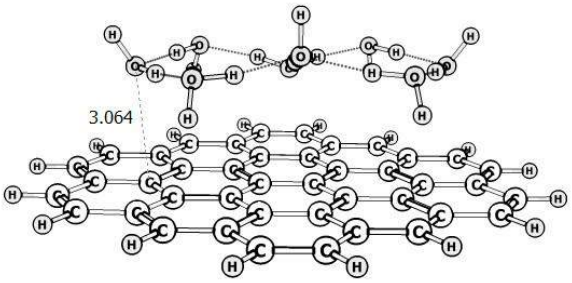
Рисунок 4.13 – Гідратовані міжмолекулярні комплекси, що складаються з 5 молекул води і ебселену (а), нативної графеноподібної площини (б), модифікованої графеноподібної площини двома гідроксильними групами (в).

Для встановлення того, як розмір вибраного кластера води впливає на енергію міжмолекулярної взаємодії, було використано кластер води більшого розміру, що є восьми членним комплексщм, утворений з двох конденсованих п'ятичленних. Такий кластер води співрозмірний з молекулою ебселену (рис. 4.14 (а)). Як видно з цього рисунку, кластер води в даному випадку є досить деформований в порівнянні з вихідним. Енергія гідратації для цього комплексу є меншою на 20,9 кДж/моль за абсолютним значенням в порівнянні з аналогічною величиною для комплексу з п'ятьма молекулами води і становить -88,5 кДж/моль.

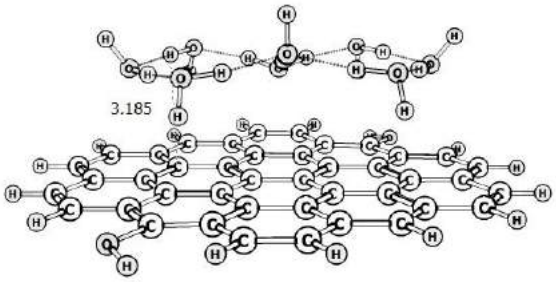
Наступні два міжмолекулярні комплекси $Gr|^{Clus}$ та модифікованої $Gr|^{Clus}$ (рис. 4.14 (б та в)) подібні між собою, як і попередні аналогічні з п’ятьма молекулами води. Відстані між кластерами води і площиною в обох випадках також в межах трьох Ангстрем. Тому їхні енергії гідратації також мало відрізняються і становлять для $Gr|^{Clus}$ -65,2 кДж/моль, а для модифікованої -62,4 кДж/моль.



(а)



(б)



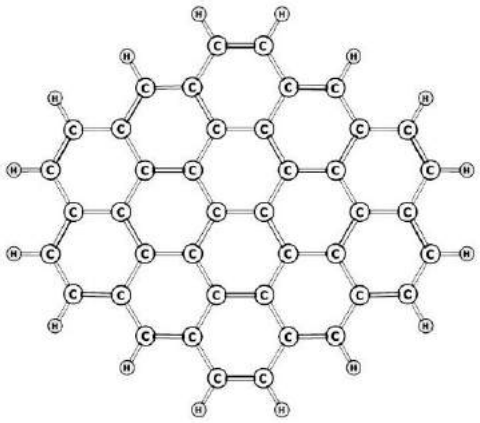
(в)

Рисунок 4.14 – Гідратовані міжмолекулярні комплекси, що складаються з шести молекул води і ебселену (а), нативної графеноподібної площини (б), модифікованої графеноподібної площини двома гідроксильними групами (в).

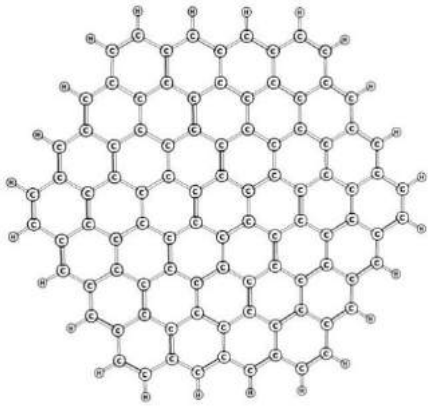
4.4. Взаємодія MnTBAP з СР за участі графеноподібної площини

Mn(III)тетракіс(4- бензойна кислота) порфірин монохлорид (MnTBAP) є сіллю металопорфірину брутто-складом $C_{48}H_{28}MnN_4O_8$•Cl яка використовується як модель ферменту СОД і діє як ефективний вловлювач АФК та АФА.

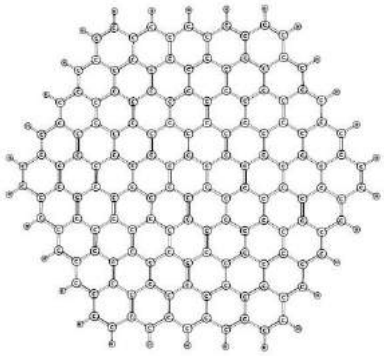
За модель графеноподібної площини було взято поліароматичну молекулу бруто-складом $C_{42}H_{16}$, яка була використана і в попередніх дослідженнях (рис. 4.15 (а)). Крім цього, для порівняння результатів розрахунку і з'ясування розмірного фактора, були використані поліароматичні молекули більшого розміру – складом $C_{96}H_{24}$, яка є співрозмірною з молекулою MnTBAP (рис. 4.15 (б)), а також подібної будови до попередньої, але незначно більшого розміру бруто-складом $C_{150}H_{30}$ (рис. 4.15 (в)).



(а)



(б)



(в)

Рисунок 4.15 – Оптимізовані структури графеноподібних площин: (а) – $C_{42}H_{16}$; (б) – $C_{96}H_{24}$; (в) – $C_{150}H_{30}$.

Зважаючи на те, що взаємодія СР з манганпорфіриновим циклом відбувається за схемою MnTBAP + $O_2^{\cdot-}$ → MnTBAP–$O_2^{\cdot-}$, то енергія хімічної взаємодії СР ($\Delta E_{react\text{-}1}$) розраховувалась за наступною формулою:

$$\Delta E_{react\text{-}1}=(E_{tot}\ (\text{MnTBAP–}O_2^{\cdot-}))-((E_{tot}(\text{MnTBAP}) + E_{tot}\ (O_2^{\cdot-})) \quad (4.9)$$

де E_{tot} (MnTBAP–$O_2^{\cdot-}$) – повна енергія продукту взаємодії, E_{tot} (MnTBAP) – повна енергія манганпорфірину, E_{tot} ($O_2^{\cdot-}$) – повна енергія супероксидного аніон-радикала.

Взаємодія манганпорфірину з графеноподібною площиною описується схемою $Gr|^{Clus}$ + MnTBAP → $Gr|^{Clus}$ ··· MnTBAP, тоді енергія адсорбції манганпорфірину на поверхні графеноподібної площини (ΔE_{ads}) розраховувалась за формулою:

$$\Delta E_{ads}=(E_{tot}\ (Gr|^{Clus} \cdots \text{MnTBAP}))-((E_{tot}(\text{MnTBAP}) + E_{tot}\ (Gr|^{Clus})) \quad (4.10)$$

де E_{tot} ($Gr|^{Clus}$ ··· MnTBAP) – повна енергія адсорбованого комплексу, E_{tot} ($Gr|^{Clus}$) – повна енергія адсорбента (графеноподібної площини), E_{tot} (MnTBAP) – повна енергія манганпорфірину.

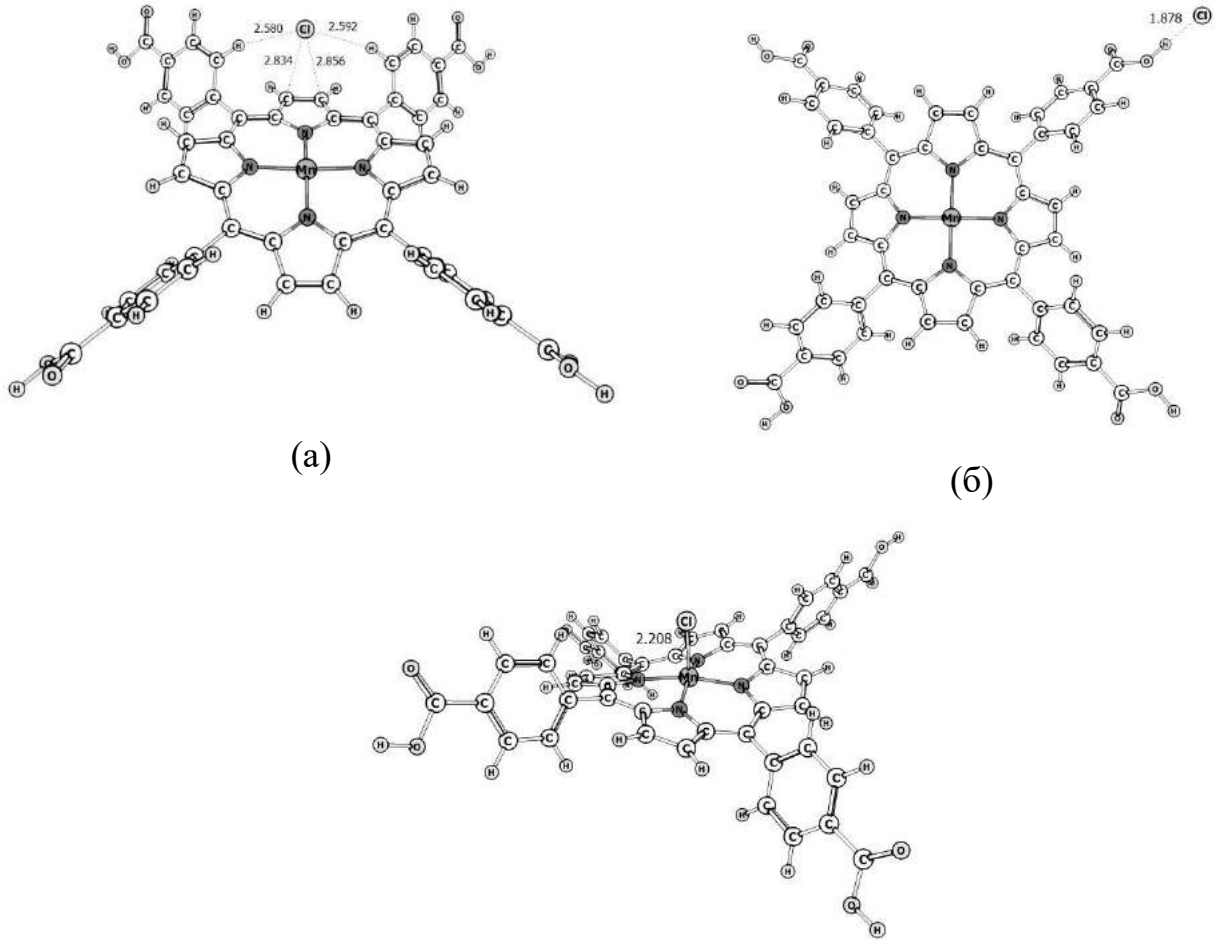
Реакція СР з адсорбованим манганпорфірином на графеноподібній площині описується схемою $O_2^{\cdot-}$ + $Gr|^{Clus}$ ··· MnTBAP → $O_2^{\cdot-}$– $Gr|^{Clus}$ ··· MnTBAP, відповідно, енергетичний ефект даної хімічної реакції ($\Delta\Delta E_{react\text{-}2}$) розраховувалась за формулою (4.11):

$$\Delta E_{react\text{-}2}=(E_{tot}\ (O_2^{\cdot-}\text{–}\ Gr|^{Clus}\cdots\text{MnTBAP}))-((E_{tot}(O_2^{\cdot-}) + E_{tot}\ (Gr|^{Clus}\cdots\text{MnTBAP}) \quad (4.11)$$

де E_{tot} ($O_2^{\cdot-}$– $Gr|^{Clus}$···MnTBAP) – повна енергія продукту реакції супероксидного радикала з адсорбованим комплексом, E_{tot} ($O_2^{\cdot-}$) – повна енергія супероксидного аніон-радикала, E_{tot} ($Gr|^{Clus}$ ··· MnTBAP) – повна енергія адсорбованого комплексу.

Оскільки MnTBAP є сіллю, а саме іонним комплексом, то на початку роботи необхідно встановити будову нейтральної сольової форми MnTBAP, для цього було локалізовано три найбільш ймовірні структури (рис. 4.16). Як видно з цього рисунку, найнижче значення повної енергії характерне для ізомера, що на рис. 4.16 (в), і він умовно має відносне значення повної енергії за 0,0 кДж/моль, а для решти іонних комплексів це значення є вищим. Особливістю першого із іонних комплексів (рис. 4.16 (а)) є те, що аніон хлору локалізується біля пірольного пятичленного циклу, між

двома ароматичними кільцями бензойної кислоти на відстані 2,6 Å. Його повна енергія на 156,9 кДж/моль вища за найстійкіший комплекс. Другий комплекс характеризується тим, що аніон хлору розміщений біля карбоксильної групи залишку бензойної кислоти (рис. 4.16 (б)). Як видно з цього рисунку, не зважаючи на те, що відстань між аніоном хлору і атомом водню карбоксильної групи є меншою ніж у попередньому випадку (1,9 Å), його повна енергія найвища з усіх розглянутих, яка на 228,1 кДж/моль вища за третій комплекс. Останній з розглянутих іонних комплексів є той, в якого аніон хлору координується до атома мангану, з довжиною зв'язка Mn–Cl в комплексі, як видно з рис. 4.16 (в) становить 2,2 Å.



(а) (б) (в)

Рисунок 4.16 – Рівноважна геометрія можливих сольових форм MnTBAP, (ізомерний іонний комплекс з найнижчою повною енергією позначений як 0,0 кДж/моль).

Отже, розрахунками показано, що найстійкіший іонний комплекс є той, у якого аніон хлору координується до атома мангану, який розміщений в центрі металопорфіринового цикл. Така конфігурація солі хлорид–металопорфірин підтверджується літературними даними [96-98].

Як свідчать літературні дані [99-101], в металопорфіриновому циклі центром взаємодії з активними формами кисню в основному є центральний атом Mn. Тому було розглянуто два можливих хемосорбованих комплексів, які являють собою продуктами взаємодії MnTBAP з CP (рис. 4.17 та 4.18). В першому з них (рис. 4.17) CP координується до атома мангану лише одним атомом кисню на відстані 1,67 Å з протилежного боку порфіринової площини від аніона хлору. При цьому, довжина зв’язку Mn–Cl дещо видовжується з 2,2 до 2,4 Å, тоді як міжатомна відстань O–O в цьому комплексі незначно зменшується на 0,03 Å, в порівнянні з аналогічною величиною в ізольованому радикалі $O_2^{\cdot -}$. Енергія хімічної взаємодії утворення продукту, зображеного на рис. 4.17 має негативну величину і становить -529,6 кДж/моль, що свідчить про значний ступінь термодинамічної ймовірності протікання цієї реакції.

Другий комплекс (рис. 4.18) за способом приєднання CP до атома мангану відрізняється від попереднього. Його особливістю є те, що два атоми кисню одночасно утворюють два однакові зв’язки з атомом мангану (Mn–O) довжиною 1,8 Å. При цьому зберігається ковалентний зв'язок між атомами кисню, який дещо довший за аналогічний в попередньому комплексі і становить 1,49 Å. Довжина зв’язку Mn–Cl в цьому продукті реакції майже такий же як і в попередньому і є рівний 2,36 Å.

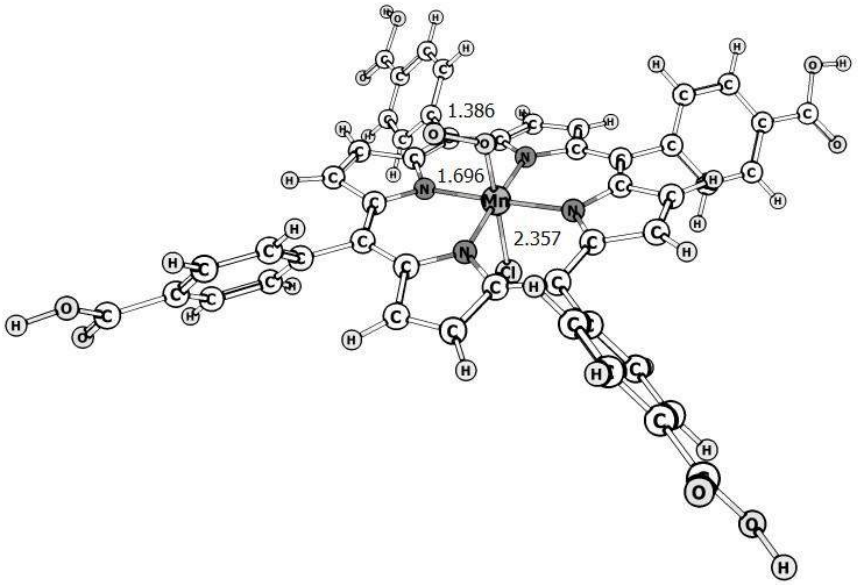


Рисунок 4.17 – Оптимізована структура одноцентрового продукту взаємодії MnTBAP і CP.

Енергетичний ефект реакції, розрахованого також як і в попередньому випадку негативний, і є на 14,9 кДж/моль більшим за абсолютною величиною, та становить -544,5 кДж/моль.

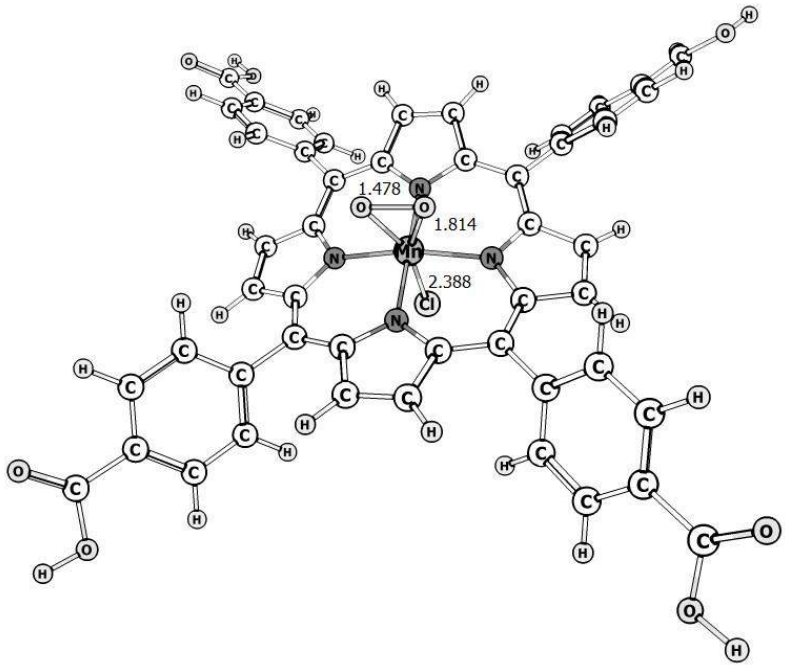


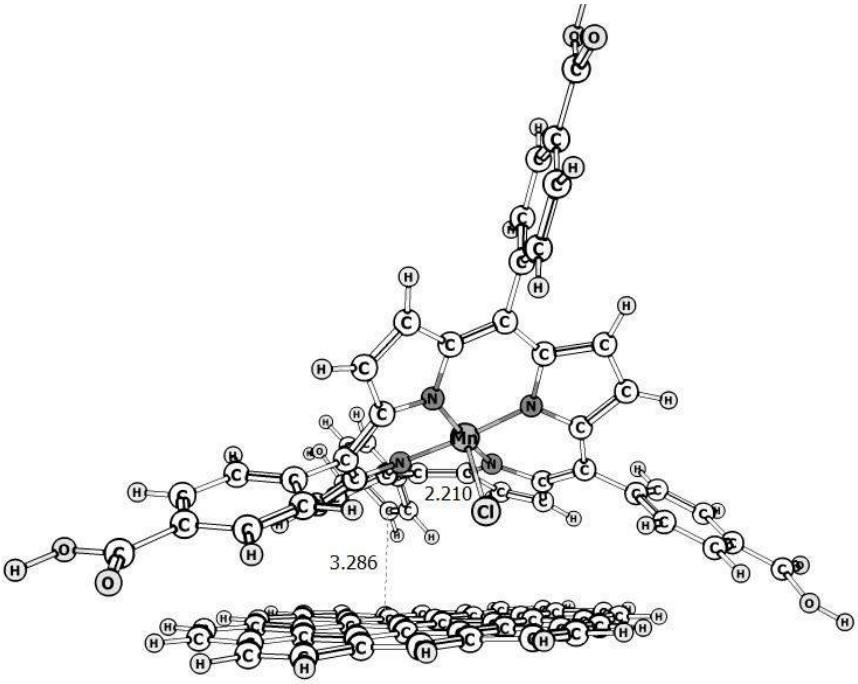
Рисунок 4.18 – Оптимізована структура двохцентрового продукту взаємодії MnTBAP і CP.

Отже аналіз квантовохімічних розрахунків свідчить, що при взаємодії манганпорфірину з супероксидним аніон-радикалом, останній утворює два зв'язки з атомом мангану, що не суперечить літературним даним [100, 101].

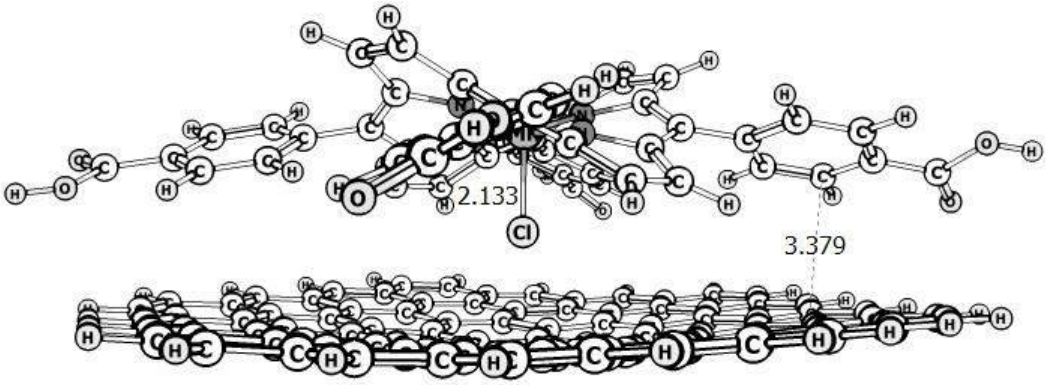
Наступним етапом цього дослідження є з'ясування енергетичних і геометричних характеристик міжмолекулярних комплексів MnTBAP з графеноподібними площинами. До уваги брались ті комплекси аніон хлору сполуки $C_{48}H_{28}MnN_4O_8$•Cl був направлений до $Gr|^{Clus}$ з метою подальшої взаємодії металопорфіринового комплекса з СР, як це було показано на рис. 4.17 та 4.18.

На рис 4.19 (а) показано оптимізовану геометрію продукту взаємодії манган порфірину з поліароматичною молекулою $C_{42}H_{16}$, з якого видно, що його розміри є меншими за розміри MnTBAP, тому два залишка бензойної кислоти не приймають участь в зв'язуванні з манганпорфірином. Слід зазначити, що середня відстань між молекулами в цьому комплексі становить 3.3 Å. Довжина зв'язку Mn–Cl в адсорбованому MnTBAP майже така сама, як і в ізольованому манган порфірині, та становить 2,21 Å. Розрахована енергія міжмолекулярної взаємодії (ΔE_{ads}) становить -230,8 кДж/мол, від'ємний знак цієї величини свідчить про термодинамічну ймовірність утворення даного міжмолекулярного комплексу.

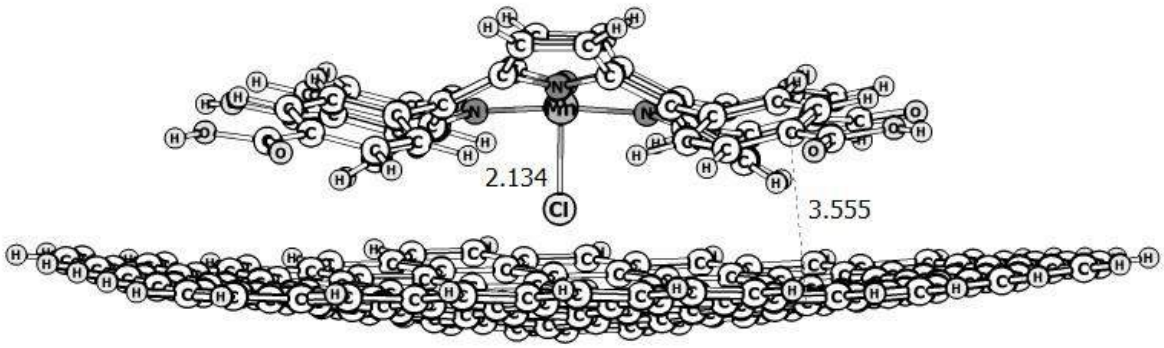
Наступним був локалізований адсорбований комплекс манганпорфірину з поліароматичною молекулою більшого розміру брутто-складом $C_{96}H_{24}$, зображений на рис. 4.19 (б). Як видно з цього рисунку, графеноподібна площина і площина манганпорфірину є співрозмірними і майже паралельні між собою. Середня відстань між цими площинами становить 3,38 Å, а довжина зв'язку Mn–Cl для цього міжмолекулярного комплексу дещо менша в порівнянні з вище розглянутим комплексом (рис. 4.19 (а)) і становить 2,13Å. Крім цього поліароматична молекула злегка деформується, відносно вихідної, тобто, її площина викривлюється в сторону манганпорфірину.



(а)



(б)



(в)

Рисунок 4.19 – Оптимізовані структури міжмолекулярних комплексів MnTBAP і графеноподібних площин різного розміру: (а) – $C_{42}H_{16}$; (б) – $C_{96}H_{24}$; (в) – $C_{150}H_{30}$.

Енергія адсорбції при утворенні даного адсорбційного комплексу (рис. 4.19 (б)) є більшою за абсолютним значенням від аналогічної величини для вище розглянутого комплексу на 133,3 кДж/моль і становить -364,2 кДж/моль, що пояснюється тим, що площа міжмолекулярної взаємодії в останньому комплексі є значно більшою ніж в попередньому.

Далі було розглянуто міжмолекулярний комплекс MnTBAP з найбільшою поліароматичною молекулою $C_{150}H_{30}$. Даний комплекс зображено на рис. 4.19 (в), з якого видно що при взаємодії цих молекул поліароматична молекула деформується значно більше ніж попередня $C_{96}H_{24}$. Середня відстань між молекулами в комплексі становить 3,56 Å. Довжина зв'язку Mn–Cl твка сама як і комплексі з $C_{96}H_{24}$ становить 2,13 Å. Значення $\Delta E_{.ads}$ для цього комплексу становить -421,9 кДж/моль, що на 191,1 кДж/моль більше за аналогічну величину для комплнксу з $C_{42}H_{16}$, та на 57,7 кДж/моль більше ніж для комплексу з $C_{96}H_{24}$ (див. табл. 4.4). Це може свідчити проте, що при використанні поліароматичної молекули ще більшого розміру в складі міжмолекулярного комплексу з MnTBAP, значення різниці між його $\Delta E_{.ads}$ і цієї величини для комплексу з $C_{150}H_{30}$ буде ще меншим.

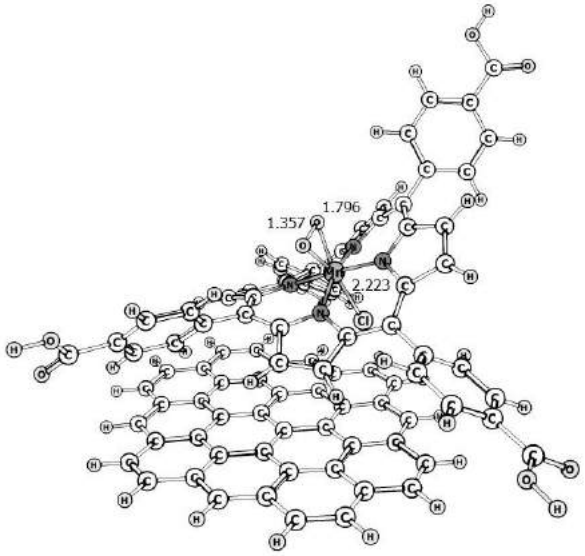
Для дослідження впливу $Gr|^{Clus}$ різного розміру на СР з манганпорфірином було розглянуто два міжмолекулярних комплекса (рис. 4.20). Перший з них, що зображений на рис. 4.20 (а), являє собою міжмолекулярний комплекс, який складається з $Gr|^{Clus}$ складом $C_{42}H_{16}$ і структури – продукту взаємодії СР з MnTBAP. Слід зазначити, що в присутності поліароматичної молекули $C_{42}H_{16}$ зв'язок Mn–O є дещо меншим від аналогічного на рис. 4.18 (1,81 Å) і становить 1,79 Å. Також незначно меншими є зв'язки O–O та Mn–Cl, які мають значення 1,35 та 1,22 Å відповідно проти 1,48 та 2,38 Å для продукту без присутності $Gr|^{Clus}$.

Енергетичний ефект реакції ($\Delta E_{react\text{-}2}$), продуктом якої є комплекс (рис. 4.20 (а)) на 47,8 кДж/моль більша за абсолютною величиною за $\Delta E_{react\text{-}1}$ для продукту аналогічної будови без $Gr|^{Clus}$ (-544,5 кДж/моль), і становить -539,6 кДж/моль. Другий продукт реакції за участі графеноподібної площини більшого розміру ($C_{96}H_{24}$)

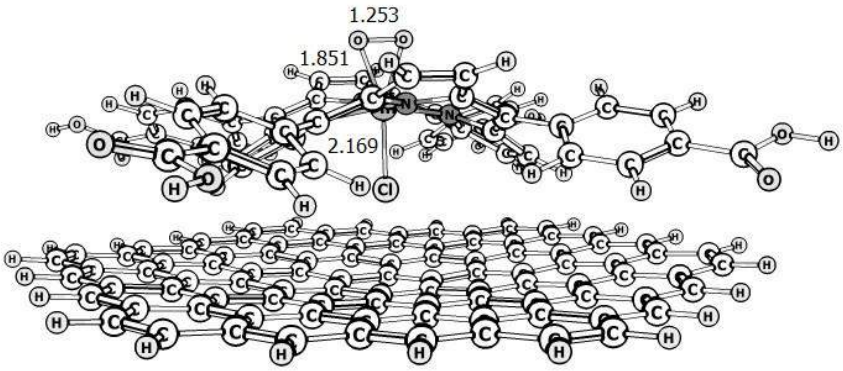
представлений на рис. 4.20 (б), з якого видно, що довжина зв’язків Mn–O дещо більша за аналогічну величину в попередньому продукті і становить 1,85 Å. Однак міжатомна відстань O–O навпаки менша ніж у продукту, розглянутого вище, і має значення 1,25 Å. Також коротшим є зв'язок Mn–Cl для останнього продукту, який становить 2,17 Å в порівнянні з вище розглянутим (2,22 Å), а також з продуктом без $Gr|^{Clus}$ (2,39 Å), зображеного на рис. 4.18. Розрахований енергетичний ефект реакції ($\Delta E_{react\text{-}2}$) також як і в усіх розглянутих раніше випадків має негативне значення, яке є найнижчим і становить -719,1 кДж/моль. Це на 126,8 кДж/моль більше за абсолютним значенням від аналогічної величини для продукту з $C_{42}H_{16}$ (-592,3кДж/моль), а також на 174,6 кДж/моль більша за аналогічну величину при утворенні продукту без залучення $Gr|^{Clus}$ (-544,5 кДж/моль).

Продукт взаємодії CP з адсорбованим комплексом MnTBAP– $C_{150}H_{30}$ зображено на рис. 4.20 (в), з якого видно, що його будова суттєво не відрізняється від попереднього (рис. 4.20 (в)). Слід зазначити, що відстань зв’язка Mn–O, лише незначно збільшилась з 2,17 до 2,19 Å. Значення $\Delta E_{react\text{-}2}$ для даного комплексу, як видно з таблиці, також виявилася максимальною за абсолютним значенням з усіх трьох розглянутих вище, і становить -814,5 кДж/моль. Це на, 270,0 кДж/моль більше за величину $\Delta E_{react\text{-}1}$, крім цього, на 222,2 кДж/моль більше за аналогічну величину для комплексу з $C_{42}H_{16}$, та на 95,4 кДж/моль більше ніж для комплексу з $C_{96}H_{24}$. Це свідчить, що використання більшого розміру $Gr|^{Clus}$суттєво не збільшить величину $\Delta E_{react\text{-}2}$.

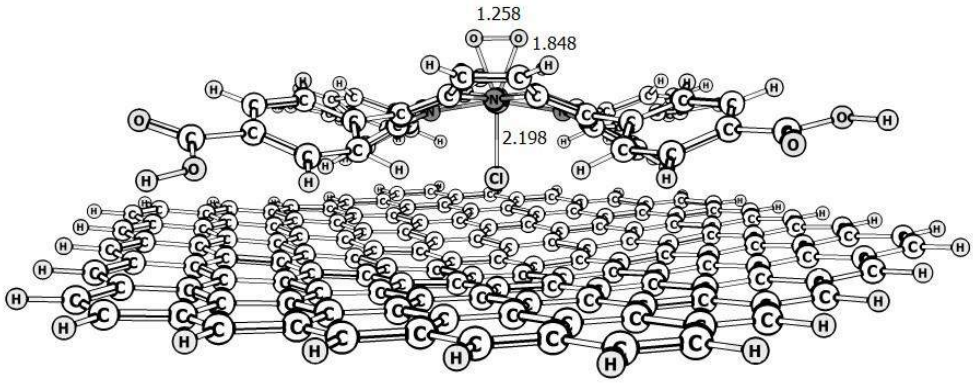
Як видно з таблиці 4.4, енергетичний ефект взаємодії CP з манганпорфірином в присутності $Gr|^{Clus}$ є нижчим, не залежно від розміру поліароматичних молекул. Зі збільшенням їх розміру, як енергія адсорбції ($\Delta E_{.ads}$) так і значення $\Delta E_{react\text{-}2}$ збільшуються за абсолютним значенням.



(а)



(б)



(в)

Рисунок 4.20 – Оптимізовані структури міжмолекулярних комплексів СР з MnTBAP і графеноподібних площин різного розміру: (а) – $C_{42}H_{16}$; (б) – $C_{96}H_{24}$; (в) – $C_{150}H_{30}$.

Таблиця 4.4 – Енергетичні характеристики взаємодії СР з графеноподібними площинами ($\Delta E_{.ads}$), та СР з адсорбованим манганпорфірином на графеноподібній площині ($\Delta E_{react\text{-}2}$), кДж/моль

Формула поверхні	$\Delta E_{.ads}$	$\Delta E_{react\text{-}2}$
$C_{42}H_{16}$	-230.8	-592,3
$C_{96}H_{24}$	-364,2	-719,1
$C_{150}H_{30}$	-421,9	-814,5

ВИСНОВКИ

В результаті реалізації проекту було розроблено серію нових високоефективних антиоксидантів на основі нанорозмірних графенів та перевірено їх потенційну дію як потужних серцево-судинний протекторів, а також досліджено їхня антиоксидантна здатність в реакціях вловлювання активних форм кисню in vitro та in situ з використанням моделі ішемії/реперфузії у доклінічних дослідженнях. За допомогою квантово-хімічних методів було досліджено основні принципи механізму дії оксидів графену як вловлювачів вільних радикалів.

1. Вивчено та оптимізовано метод синтезу нано-антиоксидантів на основі графену та проаналізовано їхню структуру та хімію поверхні за допомогою рентгеноструктурного аналізу, скануючої електронної мікроскопії, RAMAN аналізу, рентгенівських фотоелектронних та інфрачервоних спектроскопій та температурно-програмованого десорбційної мас-спектрометрії. Проведено модифікування зразків оксиду графену шляхом відновлення, допування атомами N, ковалентного приєднання тіолових (-SH) груп, а також груп із вмістом селену та хелатних комплексів. На поверхню вихідних зразків успішно іммобілізовано фермент СОД шляхом фізичної адсорбції та хімічної іммобілізації. Було показано, що синтезовані наночастинки мають чітку кристалічну структуру та велику кількість кисневмісних функціональних груп , що сприяє їх розчиненню у фізіологічних розчинах, а отже, збільшує їхню біосумісність. Модифіковані зразки мають у своєму складі гетероатоми азоту, сірки, селену і мангану, про що свідчать дані ІЧ-спектроскопії.

2. Досліджено активність нових антиоксидантів на основі графену як ефективних вловлювачів активних форм кисню, зокрема O2-*, HO*, та DPPH радикалу. Показано, що активність вихідних зразків не поступається модифікованим, проте найвищу ефективність проявляють оксиди графену із іммобілізованим на його поверхні Mn-порфіриновим комплексом.

3. Проведено детальну оцінку кардіопротекторних властивостей наноматеріалів на основі графену для лікування ішемічно-реперфузійного

пошкодження. Вибрано тип та дозу нано-антиоксидантів, що мають найпотужніший кардіопротекторний ефект. Досліджено вміст метаболітів, що характеризують розвиток окисно-нітрозативного стресу, продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активні форми нітрогену в серцевій тканині. Детальні висновки представлені у заключному звіті Інститут фізіології ім.О.О.Богомольця НАН України. На жаль провести морфологічний контроль тканин серця щурів, а також інших органів на предмет накопичення та/або можливого розкладання наночастинок графену після їх використання як кардіопротекторів не вдалось в зв'язку з карантинними обмеженнями.

4. Відтворено механізм реакції вловлення активних форм кисню та вивчено роль хімії поверхні антиоксидантів на основі графену із використанням кванто-хімічних методів моделювання. Аналіз результатів квантово-хімічних розрахунків свідчить, що наявність різних функціональних груп в складі графеноподібної площини значно впливає на енергетичний ефект реакції хемосорбції, а також на перерозподіл електронної густини в утвореному продукті взаємодії супероксидного аніон-радикала з вихідним та модифікованим графеноподібними кластерами. Результати аналізу квантовохімічних розрахунків також доводять, що взаємодія ебселену з чистою та модифікованою (гідроксильними групами) графеноподібною площиною термодинамічно ймовірна як в газовій фазі так і у водному розчині. Прии взаємодії манганпорфірину з супероксидним аніон-радикалом, останній утворює два зв'язки з атомом мангану. Енергетичний ефект взаємодії супероксидного радикала з Mn-порфірином в присутності графеноподібної матриці є від'ємною величиною, що свідчить про високу термодинамічну ймовірність утворення такого комплексу та перебіг реакції вловлювання супероксидрадикала на фого поверхні. Цей факт підтверджується й емпіричними дослідженнями. Більше того зі збільшенням розміру кластеру, як енергія адсорбції так і значення енергетичного ефекту реакції збільшуються за абсолютним значенням, проте використання більшого розміру вуглецевої матриці суттєво не збільшить термодинамічну ймовірність такої взаємодії.

Публікації, підготовлені під час реалізації проекту

1. Войтко К.В., Бакалінська О.М., Гошовська Ю.В., Семенцов Ю.І., Картель М.Т. Каталазоподібні властивості багатошарових оксидів графену та їх модифікованих форм. Поверхня 2020; 12(27):251. doi.org/10.15407/Surface.2020.12.251

2. Р.А. Федічкіна, Ю.В. Гошовська, І.Ю. Охай, К.В. Войтко, В.Ф. Сагач. Вплив екзогенного глутатіону на кардіодинаміку і відкривання мітохондріальної пори при ішемії-реперфузії серця щурів. Фізіологічний журнал 2021; 61 (1): 3. doi.org/10.15407/fz67.01.003

3. K.V. Voitko, O.M. Bakalinska, Yu.I. Sementsov, Yu.V. Goshovska. Perspectives of the usage of nano-antioxidants for cardiovascular diseases therapy. Ukrainian conference with international participation «Chemistry, Physics and Technology of Surface». 26-27 May 2021, Kyiv – Ukraine. P. 212.

4. E.M. Demianenko, K.V. Voitko, A.M. Grinko, S.V. Zhuravskyi, Yu.I. Sementsov. Quantum chemical study of the superoxide radical interaction with initial and O, N-modified graphene-like plane. Ukrainian conference with international participation «Chemistry, Physics and Technology of Surface». 26-27 May 2021, Kyiv – Ukraine. P. 56.

5. Y.V. Goshovska, K.V. Voitko, Y.P. Korkach, O.M. Bakalinska, V.F. Sagach. Evaluation of cardioprotective action of nano-antioxidants based on graphene oxide and its nitrogen-containing derivatives / Ukrainian conference with international participation «Chemistry, Physics and Technology of Surface». 26-27 May 2021, Kyiv – Ukraine. P. 77.

6. Yulia V Goshovska, Kateryna V Voitko, Yulia P Korkach, Vadym F Sagach. Cardioprotective effect of graphene oxide pretreatment against reperfusion injury in rats. 2021 IEEE 11th International Conference on "Nanomaterials: Applications & Properties" (NAP-2021), 6-11 Sept, Odsesa, Ukraine

7. Kateryna Voitko, Sergiy Zhuravskyi, Alina Grinko. Free radical scavenging properties of the novel graphene-based nano-antioxidants. 2021 IEEE 11th International Conference on "Nanomaterials: Applications & Properties" (NAP-2021), 6-11 Sept, Odsesa, Ukraine

8. Kateryna Voitko, Yulia Grebelna, Serhii Zhuravskyi, Kateryna Ivanenko, Tetyana Kulyk, Mykola Kartel, Yurii Sementsov. Changes in the structure and properties of graphene oxide surface during reduction and modification – прийнято до друку у журнал Chemistry, physics and technology of surface.

9. K.V. Voitko, Y.V. Goshovska, E.M. Demyanenko, Yu.I. Sementsov, S.V. Zhuravskyi, L.A. Mys, Sagach V.F. Free radical scavenging and cardioprotective properties of graphene oxide: in situ study and quantum-chemical approach – under review in ACS Applied Nano Materials.

ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ

[1] www. who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death.

[2] www.socialdata.org.ua/death/.

[3] Maddu N. Diseases related to types of free radicals. In *Antioxidants*, 2019.

[4] Marczin N., El-Habashi N., Hoare G., et al. Antioxidants in myocardial ischemia–reperfusion injury: therapeutic potential and basic mechanisms. Arch Biochem Biophys. 2003; 420:222.

[5] Venardos K.M., Kaye D.M. Myocardial ischemiareperfusion injury, antioxidant enzyme systems, and selenium: a review. Curr Med Chem. 2007; 14:1539.

[6] Hamilton K.L., Staib J.L., Phillips T., et al. Exercise, antioxidants, and HSP72: protection against myocardial ischemia/reperfusion. Free Radical Biol Med. 2003; 34:800.

[7] Lefer D.J., Granger D.N. Oxidative stress and cardiac disease. Am J Med. 2000; 109:315.

[8] Weydert C.J., Cullen J.J. Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. Nat. Protocols 2010; 5(1):51.

[9] Liu J. R., Hinkhouse M. M., Sun W. Q. et al. Redox regulation of pancreatic cancer cell growth: Role of glutathione peroxidase in the suppression of the malignant phenotype. Human Gene Therapy 2004; 15(3):239.

[10] Wong G.H.W., Elwell J.H., Oberley L.W., Goeddel D.V. Manganous superoxide dismutase is essential for cellular resistance to cytotoxicity of tumor necrosis factor. Cell 1989; 58(5):923.

[11] Cullen J. J., Weydert C., Hinkhouse M. M. et al. The role of manganese superoxide dismutase in the growth of pancreatic adenocarcinoma. Cancer Res. 2003; 63(6): 1297.

[12] Weydert C., Roling B., Liu J. R. et al. Suppression of the malignant phenotype in human pancreatic cancer cells by the overexpression of manganese superoxide dismutase. Mol. Cancer Therap. 2003; 2(4):361.

[13] Ough M., Lewis A., Zhang Y. P. et al. Inhibition of cell growth by overexpression of manganese superoxide dismutase (MnSOD) in human pancreatic carcinoma. Free Radical Res. 2004; 38 (11): 1223.

[14] Hong,Yu. Ah., Park Ch. W. Catalytic antioxidants in the kidney. Antioxidants 2021; 10(1):130.

[15] Batinic-Haberle I., Reboucas J. S., Spasojevic I. Superoxide dismutase mimics: chemistry, pharmacology, and therapeutic potential. Antioxidants & Redox Signaling 2010; 13(6):877.

[16] Miriyala S., Spasojevic I., Tovmasyan A. et al. Manganese superoxide dismutase, MnSOD and its mimics. Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Basis of Disease 2012; 18220(5):794.

[17] Tovmasyan A., Sheng H.X., Weitner T. et al. Design, mechanism of action, bioavailability and therapeutic effects of Mn porphyrin-based redox modulators. Medical Principles and Practice 2013; 22(2):103.

[18] Gauuan P. J. F., Trova M. P., Gregor-Boros L. Superoxide dismutase mimetics: synthesis and structure-activity relationship study of MnTBAP analogues. Bioorganic & Medicinal Chemistry 2002; 10(9):3013.

[19] Batinic-Haberle I., Tovmasyan A., Spasojevic I. An educational overview of the chemistry, biochemistry and therapeutic aspects of Mn porphyrins - from superoxide dismutation to H_2O_2-driven pathways. Redox Biology 2015; 5:43.

[20] Patel M., Day B. J. Metalloporphyrin class of therapeutic catalytic antioxidants. Trends in Pharmacological Sciences 1999; 20(9):359.

[21] Liang L. P., Ho Y. S., Patel M. Mitochondrial superoxide production in kainate-induced hippocampal damage. Neuroscience 2000; 101(3):563.

[22] Bao F., DeWitt D. S., Prough D. S. Peroxynitrite generated in the rat spinal cord induces oxidation and nitration of proteins: Reduction by Mn (III) tetrakis (4-benzoic acid) porphyrin. Journal of Neuroscience Research 2003; 71(2):220.

[23] Liu D. X., Bao F., Prough D. S. et al. Peroxynitrite generated at the level produced by spinal cord injury induces peroxidation of membrane phospholipids in normal rat cord: Reduction by a metalloporphyrin. Journal of Neurotrauma 2005; 22(10):1123.

[24] Batinic-Haberle I., Cuzzocrea S., Reboucas J. S. et al. Pure MnTBAP selectively scavenges peroxynitrite over superoxide: Comparison of pure and commercial MnTBAP samples to MnTE-2-PyP in two models of oxidative stress injury, an SOD-specific Escherichia coli model and carrageenan-induced pleurisy. Free Radical Biology and Medicine 2009; 46(2):192.

[25] Cao X. C., Luo D. Q., Li T. et al. MnTBAP inhibits bone loss in ovariectomized rats by reducing mitochondrial oxidative stress in osteoblasts. Journal of Bone and Mineral Metabolism 2020; 38(1):27.

[26] Cuzzocrea S., Costantino G., Mazzon E. et al. Beneficial effects of Mn(III)tetrakis (4-benzoic acid) porphyrin (MnTBAP), a superoxide dismutase mimetic, in zymosan-induced shock. British Journal of Pharmacology 1999; 128(6): 1241.

[27] Liu D. X., Shan Y. C., Valluru L. et al. Mn (III) tetrakis (4-benzoic acid) porphyrin scavenges reactive species, reduces oxidative stress, and improves functional recovery after experimental spinal cord injury in rats: comparison with methylprednisolone. Bmc Neuroscience 2013; 14:20103

[28] Reboucas J. S., Spasojevic I., Batinic-Haberle I. Pure manganese(III) 5,10,15,20-tetrakis(4-benzoic acid)porphyrin (MnTBAP) is not a superoxide dismutase mimic in aqueous systems: a case of structure-activity relationship as a watchdog mechanism in experimental therapeutics and biology. Journal of Biological Inorganic Chemistry 2008; 13(2):289.

[29] Zingarelli B., Day B. J., Crapo J. D. et al. The potential role of peroxynitrite in the vascular contractile and cellular energetic failure in endotoxic shock. British Journal of Pharmacology 1997; 120(2):259.

[30] Amani H. Habibey R., Hajmiresmail S.J., et al. Antioxidant nanomaterials in advanced diagnoses and treatments of ischemia reperfusion injuries. J Mater Chem B. 2017; 5:9452.

[31] Gao L.Z., Zhuang J., Nie L., et al. Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles. Nat Nanotechnol. 2007; 2:577.

[32] Lin Y.H., Dumcenco D.O., Komsa H.-P., et al. Properties of individual dopant atoms in single-layer MoS2: atomic structure, migration, and enhanced reactivity. Adv Mater. 2014; 26:2857.

[33] Wang G.L., Xu X.F., Qiu, L., et al. Dual responsive enzyme mimicking activity of AgX (X = Cl, Br, I) nanoparticles and its application for cancer cell detection. ACS Appl Mater Interfaces. 2014; 6:6434.

[34] Hu A.L., Lin Y.-H., Deng H.-H., et al. Fluorescent hydrogen peroxide sensor based on cupric oxide nanoparticles and its application for glucose and l-lactate detection. Biosens Bioelectron. 2014; 61:374.

[35] Qiu Y., Wang Z., Owens A., et al. Antioxidant chemistry of graphene-based materials and its role in oxidation protection technology. Nanoscale 2014; 6:1174417.

[36] Nia Z., Chen J., Tang B., et al. Optimizing the free radical content of graphene oxide by controlling its reduction. Carbon 2017; 116:703.

[37] Ruiz V., Yate L., García I., et al. Tuning the antioxidant activity of graphene quantum dots: Protective nanomaterials against dye decoloration. Carbon 2017: 116:366.

[38] Baali N., Khecha A., Bensouici A., et al. Assessment of antioxidant activity of pure graphene oxide (GO) and ZnO-decorated reduced graphene oxide (rGO) using DPPH radical and H2O2 scavenging assays. J Carbon Res. 2019; 5:75.

[39] Wang J., Cui X., Li H., et al. Highly efficient catalytic scavenging of oxygen free radicals with graphene-encapsulated metal nanoshields. Nano Research. 2018; 11:2821.

[40] Wang Y., Kong W., Wang L., et al. Optimizing oxygen functional groups in graphene quantum dots for improved antioxidant mechanism. Phys Chem Chem Phys. 2019, 21:1336.

[41] Nia Z., Chen J., Tang B., et al. Optimizing the free radical content of graphene oxide by controlling its reduction. Carbon 2017; 116:703.

[42] Kakaei K. et al. Graphene surface. Particles and catalysts. Academic Press; 2019. 456p.

[43] Eigler S., Hirsch A. Chemistry with graphene and graphene oxide—challenges for synthetic chemists. Angew Chem Int Ed. 2014; 53:2.

[44] Voitko K.V. Asymmetric catalysis under 1D/2D nanostructured carbon materials. J Nanosci Nanotechnol. 2019; 19:5074–5088.

[45] Geim A.K., Novoselov K.S. The rise of graphene. Nat Mater. 2007; 6:183.

[46] Rao C.N.R., Sood A.K., Subrahmanyam K.S., et al. Graphene: the new two-dimensional nanomaterial. Angew Chem Int Ed. 2009; 48:7752.

[47] Rao C.N.R., Sood A.K., Voggu R., et al. Some novel attributes of graphene. J Phys Chem Lett. 2010; 1:572.

[48] Jang B., Zhamu A. Processing of nanographene platelets (NGPs) and NGP nanocomposites: a review. J Mater Sci. 2008; 43:5092.

[49] Graifer E.D., Makotchenko V.G., Nazarov A.S., et al Graphene: chemical approaches to the synthesis and modification. Uspehi khimii. 2011; 80(8):784.

[50] Dhand V., Rhee K.Y., Kim H.J., et al. A comprehensive review of graphene nanocomposites: research status and trends. J Nanomat. 2013; 2013:763953.

[51] Yang S., Brüller S., Wu Z., et al. Organic radical-assisted electrochemical exfoliation for the scalable production of high-quality grapheme. J Am Chem Soc. 2015; 137(43):13927.

[52] Kartel M., Sementsov Y., Dovbeshko G., et al. Lamellar structures from grapheme nanoparticles produced by anode oxidation. Adv Mater Lett. 2017; 8(3):212.

[53] Sementsov Y., MakhnoS., Kartel M., et al. Graphene nanoparticles and graphene nanoparticles - polyamide 12/12 composites. Int J Innov Sci, Eng & Technol. 2016; 4:2348.

[54] Nedilko S.G, Revo S., Chornii S., et al. Structure and optical features of micro/nanosized carbon forms prepared by electrochemical exfoliation. Nanoscale Res Lett. 2017; 12: 28.

[55] Tripathi P., Patel C., Shaz M.A., et al. Synthesis of high-quality graphene through electrochemical exfoliation of graphite in alkaline electrolyte. Mat Sci. 2013; arXiv:1310.7371.

[56] Rao K.S., Senthilnathan J., Liu Y., et al. Role of peroxide ions in formation of graphene nanosheets by electrochemical exfoliation of graphite. Sci Reports 2014; 4:4237.

[57] Stankovich S., Dikin D.A., Piner R.D., et al. Synthesis of graphene-based nonosheets via chemical reduction of exfoliated graphite oxide. Carbon. 2007; 45:1558.

[58] Ng H.H., Yildiz G.S., Ku J.M., et al. Chronic NaHS treatment decreases oxidative stress and improves endothelial function in diabetic mice. Diab Vasc Dis Res. 2017; 14(3):246.

[59] Askari H., Seifi B., Kadkhodaee M., et al. Protective effects of hydrogen sulfide on chronic kidney disease by reducing oxidative stress, inflammation and apoptosis. EXCLI J. 2018; 17:14.

[60] Shymans'ka T.V., Hoshovs'ka Iu.V., Semenikhina O.M., et al. Effect of hydrogen sulfide on isolated rat heart reaction under volume load and ischemia-reperfusion. Fiziol Zh. 2012; 58(6):57.

[61] Li F., Li T. Y., Sun C. X. et al. Selenium-doped carbon quantum dots for free-radical scavenging. Angewandte Chemie-International Edition 2017; 56(33):9910.

[62] Ferrari A.C. Interpretation of raman spectra of disordered and amorphous carbon. Phys rev B.1999; 61(20):14095.

[63] Dovbeshko G., Gnatyuk O., Nazarova A., et al. Vibrational spectra of carbonaceous materials: a SEIRA spectroscopy versus FTIR and Raman. Fullerenes, Nanotubes Carbon Nanostruc. 2005; 13:393.

[64] Ferrari A.C. Raman spectrum of graphene and graphene layers. Phys Rev Lett. 2006; 97:187.

[65] Kumar C.S.S.R (Ed.). Raman spectroscopy for nanomaterials characterization. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg, 2012.

[66] Ferrari A.C., Meyer J.C., Scardaci V., et al. Raman spectrum of graphene and graphene layers. Phys Rev Lett. 2006; 97:187401.

[67] Nemanich R., Solin S. First-and second-order Raman scattering from finite-size crystals of graphite. Phys Rev B 1979; 20:392.

[68] Vidano R., Fishbach D. Observation of Raman band shifting with excitation wavelength for carbons and graphites. Solid State Comm 1981; 39:341.

[69] Ni Z., Wang Y., Yu T. Raman spectroscopy and imaging of graphene. Nano Res. 2008; 1: 273.

[70] Parka J.S., Reinab A., Saitoa R. G' band Raman spectra of single, double and triple layer graphene. Carbon 2009; 47:1303.

[71] Kudin K.N., Ozbas B., Schniepp H.C. et al. Raman spectra of graphite oxide and functionalized graphene sheets. Nano Letters 2008; 8:36.

[72] Данилов М.О., Русецкий И.А., Слободянюк И.А. Электрохимическое получение графеновых структур из углеродных нанотрубок для кислородных электродов. Укр. хим. журн. 2017; 83:50.

[73] Cancado L.G., Takai K., Enoki T., et al. General equation for the determination of the crystallite size La of nanographite by Raman spectroscopy. Appl Phys Lett. 2006; 88163106.

[74] Pandey D., Reifenberger R., Piner R. Scanning probe microscopy study of exfoliated oxidized graphene sheets. Surface Science 2008; 602 (9): 1607.

[75] Mkhoyan K. A., Contryman A. W., Silcox J., et al. Atomic and electronic structure of graphene-oxide. Nano Letters 2009; 9 (3): 1058.

[76] Hong Y.L., Lee J., Ku B.C., et al. The influence of oxidative debris on the fragmentation and laser desorption/ionization process of graphene oxide derivatives. New J Chem. 2018; 42(15):12692.

[77] Kim Y.K., Min D.H. Fabrication of alternating multilayer films of graphene oxide and carbon nanotube and its application in mechanistic study of laser desorption/ionization of small molecules. ACS Appl Mat Interf. 2021; 4(4):2088.

[78] Boehm H.P. Surface oxides on carbon and their analysis: a critical assessment. Carbon 2002; 40:145.

[79] Goertzen S.L., Theriault K.D., Oickle A.M., et al. Standartization of the Boehm titration. Part I. CO_2 expulsion and endpoint determination. Carbon 2010; 48:1252.

[80] Rattana T., Chaiyakun S., Witit-anun N., et al. Preparation and characterization of graphene oxide nanosheets. Iseec 2012; 32:759.

[81] Voitko K.V., Haliarnyk D.M., Bakalinska O.M., Kartel M.T. Factors determining the catalytic activity of multi-walled carbon nanotubes in the decomposition of diacyl peroxides in non-aqueous media. Catalysis Letters 2017; 147(8):1966.

[82] Khalil L.B., Girgis B.S., Tawfik T.A. Decomposition of H2O2 on activated carbon obtained from olive stone. J Chem Technol Biothechnol. 2001; 76:1132.

[83] Karadag A., Ozcelik B., Saner S. Review of methods to determine antioxidant capacities. Food Analytical Methods 2009; 2(1):41.

[84] Schmidt M.W., Baldridge K.K., Boatz J.A., et al. General atomic and molecular electronic structure system. J Comput Chem. 1993; 14:1347.

[85] Becke A. D. Density functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. J Chem Phys. 1993; 98(7):5648.

[86] Lee C., Yang W., Parr R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. Phys Rev B. 1988; 37(2):785.

[87] Grimme S. Density functional theory with London dispersion corrections. WIREs. Comput Mol Sci. 2011; 1:211.

[88] Grimme S., Ehrlich S., Goerigk L. Effect of the damping function in dispersion corrected density functional theory. J Comput Chem. 2011; 32:1456.

[89] Deng L., Ziegler T., Fan L. A combined density functional and intrinsic reaction coordinate study on the ground state energy surface of H_2 CO. J Chem Phys, 1993; 99:3823.

[90] Deng L., Ziegler T. The determination of intrinsic reaction coordinates by density functional theory. Int J Quant Chem. 1994; 52:731.

[91] Saenger W., Lindner K. OH-clusters with homodromic circular arrangement of hydrogen bonds. Angew. Chem. Int. Ed. 1980; 19(5):398.

[92] Saenger W. Circular hydrogen bonds. Nature 1979; 279(5711):343.

[93] Xantheas S.S. Cooperativity and hydrogen bonding network in water clusters. Chem. Phys. 2000; 258(2-3):225.

[94] Schewe T. Molecular actions of Ebselen—an antiinflammatory antioxidant. General Pharmacology: The Vascular System 1995; 26:1153.

[95] Parnham M., Sies H. Ebselen: prospective therapy for cerebral ischaemia. Expert Opinion on Investigational Drugs 2005; 9:607.

[96] Al-Muntaser A.A., El-Nahass M.M., Oraby, A.H. et al. Fabrication and transport mechanisms of 5,10,15,20-tetraphenyl-21H,23H-porphrine manganese(III) chloride/n-type silicon heterojunction solar cell. J Mater Sci: Mater Electron 2018; 29:10911.

[97] Gallagher A.T., Lee J.Y., Kathiresan V. et al. A structurally-characterized peroxomanganese(iv) porphyrin from reversible O_2 binding within a metal–organic framework. Chem. Sci. 2018; 9:1596.

[98] Lomova T., Tsaplev Yu., Klyueva M. et al. Recent advances in the practical use of the redox properties of manganese porphyrins. J. Organometallic Chem. 2021; 945:121880.

[99] Guo M., Dong H., Li J. et al. Spectroscopic observation of iodosylarene metalloporphyrin adducts and manganese(V)-oxo porphyrin species in a cytochrome P450 analogue. Nat Commun 2012; 3:1190.

[100] Phung Q.M., Pierloot K. The dioxygen adducts of iron and manganese porphyrins: electronic structure and binding energy. Phys. Chem. Chem. Phys. 2018; 20:17009.

[101] Kurtikyan T.S., Hayrapetyan V.A., Hovhannisyan A.A. et al. Ford nitric oxide dioxygenation by O2 adducts of manganese porphyrins. Inorg. Chem. 2020; 59(23):17224.