

МЕТОД ТЕРМИЧЕСКОЙ АКТИВАЦИИ ТРИТИЯ. ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ, СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ И ДАЛЬНЕЙШИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

© 2023 г. Г. А. Бадун*, М. Г. Чернышева

*Химический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова,
119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3*

** e-mail: badunga@my.msu.ru*

Поступила в редакцию 09.01.2023, после доработки 29.01.2023, принята к публикации 30.01.2023

В статье рассматривается метод термической активации трития, в котором атомарную форму трития получают диссоциацией молекул на нагретой электрическим током вольфрамовой проволоке. Проведен анализ развития представлений о процессах, происходящих в системе, и способов оптимизации условий получения меченых соединений с требуемыми величинами удельной радиоактивности, внутримолекулярного распределения и минимизацией побочных продуктов. Такой подход позволяет вводить тритий не только в индивидуальные соединения, но и в сложные смеси молекул с равномерным распределением метки по компонентам. С другой стороны, проведение реакции с супрамолекулярными комплексами в условиях избирательного введения трития в стерически доступные фрагменты позволяет получить информацию о структурной организации объектов. Рассматривается концепция тритиевого зонда как системного подхода, который включает получение меченных тритием соединений, исследование с их помощью условий образования межмолекулярных комплексов и определение их состава, а также определение их структурных параметров с помощью обработки атомами трития и анализа распределения трития по компонентам. Применение метода термической активации трития совместно с компьютерным моделированием и современными инструментальными методами исследования позволяет получать уникальную информацию о составе и строении сложных многокомпонентных систем.

Ключевые слова: тритий, меченые соединения, метод термической активации трития, тритиевый зонд.

DOI: 10.31857/S0033831123020053, **EDN:** XFPZEA

В основе метода термической активации трития лежит явление, открытое И. Ленгмюром, – атомизация водорода на вольфрамовой проволоке, выполняющей роль катализатора [1]. При температурах вольфрамовой проволоки 1500–2500 К происходит диссоциация молекул водорода на атомы. И. Ленгмюр рассмотрел как процессы атомизации водорода на вольфраме, так и адсорбцию атомов водорода на стекле, что явилось толчком к исследованию поверхностных явлений. Это было отмечено в его Нобелевской лекции [2].

Атомизация водорода на вольфраме имеет много применений, том числе в синтезе алмазов методом CVD [3, 4], для выращивания кремниевых и гер-

маниевых пленок и удалении с их поверхности примесей (in situ etching by atomic hydrogen) [5, 6]. Для описания взаимодействия атомарного водорода с поверхностью используется так называемый, механизм «горячего предшественника» (hot-precursor mechanism of adsorption): атом водорода при первом столкновении переводит водород, изначально связанный с поверхностью, в возбужденное колебательное состояние выше потенциального барьера диффузии связанного водорода [7, 8]. Рассматривается применение in situ атомарного водорода для очистки многослойных материалов Mo/Si от углеродных загрязнений в линиях пучка синхротронного излучения и машинах для лито-

графии в экстремальном ультрафиолетовом диапазоне [9, 10].

Использование вместо водорода (протия) его изотопов – дейтерия и трития – позволяет применить это явление для получения меченых веществ. В 1976 г. была опубликована первая работа по введению трития в пептидный антибиотик А-128 и гуанозинмонофосфат с помощью метода термической активации [11]. Была достигнута удельная радиоактивность 10–20 Ки/ммоль при температуре нити 2000 К и времени экспозиции 2–5 мин. Предполагалось, что увеличение удельной радиоактивности возможно при больших временах облучения [11]. Для многих веществ такой подход был оправдан, и были получены удовлетворительные результаты по величине общей и удельной радиоактивности меченых соединений [12, 13].

При анализе возможностей метода термической активации трития необходимо учитывать, что система является неравновесной («горячие» атомы бомбардируют холодную мишень) и гетерогенной (атомы поступают в твердую мишень из газовой фазы). Уникальность такого подхода заключается в том, что генерация активной формы трития происходит на некотором расстоянии от мишени, в которой протекают реакции, что позволяет достаточно просто регулировать скорость протекающих реакций. Скорость диссоциации молекулярного трития и первичная энергетическая характеристика атомов определяется температурой вольфрамовой проволоки и давлением газа. Скорость образования меченого соединения в мишени зависит от интенсивности потока атомов на мишень и их энергии. А эти параметры можно регулировать, изменяя расстояние от атомизатора до мишени (форму реакционного сосуда), давление трития и способ подготовки вещества (на результат влияет плотность упаковки и ориентация молекул в поверхностном слое мишени, а в случае тонких мишеней – химическая природа подложки).

Используя различные условия проведения эксперимента, можно преследовать разные цели и получать меченые вещества:

с максимальной удельной активностью;

с минимальным количеством радиоактивных примесей;

РАДИОХИМИЯ том 65 № 2 2023

с фиксированным положением трития в молекуле (селективно-меченные соединения);

с неопределенным положением трития в молекул (неселективно-меченные соединения), вплоть до равномерно меченных соединений.

Кроме того, для макромолекул и супрамолекулярных комплексов из распределения трития по компонентам можно сделать предположения о структурной организации объекта. Рассмотрим влияние различных факторов проведения эксперимента на достигаемый результат.

Энергия диссоциации молекулы водорода достаточно велика, зависит от изотопного состава и меняется в пределах от 432 ($^1\text{H}_2$) до 443 кДж/моль ($^3\text{H}_2$). Степень диссоциации водорода становится существенной при температуре выше 3000 К, однако вольфрам выполняет роль катализатора, поэтому скорость диссоциации водорода на нагретой вольфрамовой проволоке становится значимой при температуре выше 1400 К. При нагревании электрическим током вольфрамовой проволоки на поверхности возможно образование нестойкого гидрида вольфрама, который разлагается, и атомы водорода покидают поверхность, так как растворимость водорода в вольфраме очень низкая [14]. Скорость образования атомов водорода на нагретой вольфрамовой проволоке сильно зависит от химической активности вольфрама, которая, в свою очередь, определяется подготовкой поверхности металла к эксперименту, включая удаление загрязнений, способных играть роль каталитических ядов. Этим объясняется большой разброс экспериментальных значений энергии диссоциации водорода на вольфраме – от 181 до 238 кДж [15–18].

Изменение температуры атомизатора очень сильно влияет на интенсивность потока атомов трития. Если энергию активации образования атомарного трития на вольфрамовой проволоке принять равной 220 кДж/моль, то снижение температуры с 2000 до 1600 К снизит интенсивность потока атомов в 27 раз с существенным уменьшением доли атомов с энергией, необходимой для протекания реакции отрыва атома водорода. Поэтому одним из главных регулирующих факторов в получении меченых соединений является температура атомизатора.

Если диссоциация водорода происходит при низком давлении газа, покидающие вольфрам ато-

мы могут распространяться на большие расстояния без столкновений с молекулами в газовой фазе. Для реакционного сосуда диаметром 7 см, в котором вольфрамовая проволока располагается вдоль центральной оси, условие свободного пробега атомов до стенок выполняется при давлении ≤ 0.4 Па, если реакционный сосуд охлажден до 77 К. В этом случае создается ситуация, когда поток «горячих атомов», энергия которых будет определяться температурой атомизатора, бомбардирует «холодную мишень». Расчеты энергетики потока атомов, бомбардирующих мишень при различных давлениях газа, приведены в работе [19].

Интегральный поток атомов на мишень можно определить экспериментально, используя в качестве вещества-мишени акцептор атомов водорода. Например, при обработке атомами трития замороженных водных растворов начальная радиоактивность мишени будет пропорциональна потоку атомов, но она не учитывает тритий, который возвращается в газовую фазу за счет реакции изотопного обмена. В качестве более точного индикатора потока атомов на мишень было предложено использовать коричную кислоту, которая легко гидрируется, и по скорости уменьшения давления можно следить за кинетикой процесса, а по радиоактивности меченого продукта – определять количество трития, вступившего в реакцию. Если полностью связать газ с мишенью, то из ее радиоактивности можно определить изотопное содержание трития в исходном газе в случае использования в работе смесей водорода и трития. С помощью коричной кислоты было показано, что при температуре атомизатора 2000 К и давлении газа 0.5 Па для реакционного сосуда объемом 400 см³, охлажденного жидким азотом, происходит полное связывание трития с мишенью за время нагревания атомизатора 10 с. При использовании в эксперименте трития без добавки протия радиоактивность мишени достигает 24 мКи, что соответствует количеству водорода в газовой фазе с учетом 500 см³ коммуникаций, остающихся при комнатной температуре. Столь высокая скорость процессов в системе будет использована в дальнейшем для интерпретации результатов реакции атомарного трития с другими веществами.

Для характеристики пространственного распределения потока атомов, способных вступать в реакцию изотопного обмена с углеводородными фраг-

ментами молекул, предложено использовать пленки полиэтилена низкого давления, содержащего минимальное число разветвлений цепи и кратных связей [20]. Было показано, что скорость увеличения радиоактивности полиэтилена при малых временах воздействия (10 с) связана с расстоянием до атомизатора и давлением трития, причем максимальная скорость образования меченого соединения достигалась при условии, когда произведение давления трития в системе (Па) и расстояния от источника атомов до мишени (см) было равно 2.

При взаимодействии атомов трития, поступающих из газовой фазы, с органическими молекулами мишени может протекать большое число реакций. Соотношение их скоростей зависит как от химического состава мишени, так и от энергетических характеристик потока атомов [21, 22]. Введение трития в алифатические фрагменты молекул происходит за счет двух последовательных реакций:

- 1) образование промежуточного радикала в результате отрыва атома водорода атомом трития,
- 2) рекомбинация промежуточного радикала с другим атомом трития с получением меченого соединения.

Известно, что при проведении реакции в газовой фазе активационный барьер первой реакции составляет от 20 до 50 кДж/моль и зависит от того, какая связь разрывается (первичный, вторичный или третичный углерод) [23]. С помощью пленок полиэтилена было экспериментально подтверждено, что доля «горячих атомов» с энергией, превышающей энергию активации реакции отрыва атома водорода от группы $-\text{CH}_2-$, соответствует распределению Максвелла–Больцмана с температурой, близкой к температуре вольфрамовой проволоки [24]. Было найдено, что в условиях свободного пробега атомов до мишени вероятность реакции при первом соударении с углеводородной матрицей, охлажденной до 77 К, составляла 18% при температуре вольфрамовой проволоки 2000 К и уменьшалась до 2.5% при снижении температуры атомизатора до 1660 К. Вместе с тем было показано, что атомы трития способны вступать в реакцию и при существенной потере энергии. При полной термализации атомов в газовой фазе до 77 К вероятность реакции при первом соударении оказалась настолько мала, что ее не удалось определить, однако и в этом случае проис-

ходило образование меченого полиэтилена, вероятно, по безактивационному туннельному механизму.

Для ароматических фрагментов молекул возможно образование меченого материнского соединения путем присоединения атома трития по бензольному кольцу с последующей реакцией диспропорционирования с другим атомом трития. Однако из-за конкуренции с реакцией гидрирования бензольного кольца введение трития в ароматические фрагменты молекулы по радикальному механизму менее предпочтительно.

Если стенки реакционного сосуда покрыты «толстым» слоем молекул вещества-мишени, то взаимодействие атомов трития будет происходить преимущественно без участия материала подложки. Хотя глубина проникновения атомов в глубь мишени зависит от плотности упаковки молекул и их пространственной ориентации [25, 26], при обработке замороженных водных растворов или нанесении безводных пленок вещества на стенки реакционного сосуда с удельным покрытием более 5 мг/м² участие подложки практически исключено. Однако предварительное нанесение вещества на материалы с развитой поверхностью способствует получению тонких покрытий, и подложка может влиять на результат взаимодействия атомов трития с веществом. Впервые этот эффект был продемонстрирован в работе [27], когда проводили реакцию изотопного обмена с шестичленным пептидом даларгин, который наносили на различные подложки (стекло, активированный уголь, малослойный графит (МСГ)). При обработке атомами трития пленки даларгина толщиной около 10 мг/м², нанесенной на стенки реакционного сосуда, тритий включался преимущественно в алифатические остатки пептида. Однако при нанесении пептида на активированный уголь с получением практически монослойного покрытия при тех же условиях обработки существенно возрастало содержание трития в тирозине и фенилаланине. Аналогичные результаты были получены в экспериментах, когда для активации реакции нагревали систему до 335 К в присутствии катализаторов 5% Pd/C, 10% Pd/C, 5% Pt/МСГ. Действительно, при двух способах активации трития перед реакцией с даларгином атомам приходилось перемещаться по подложке, что придавало им катионные свойства, и изотопный обмен протекал преимущественно путем электрофильного замещения.

Проведение реакций с даларгином, нанесенным на оксид графена, восстановленный оксид графена и одностенные углеродные нанотрубки, также показало существенное влияние подложки на внутримолекулярное распределение трития [28]. Для объяснения результатов эксперимента провели моделирование расположения даларгина на поверхности углеродных материалов методом молекулярной механики в силовом поле AMBIER. Расчет показал, что при адсорбции даларгина на поверхности оксида графена остаток фенилаланина достаточно сильно взаимодействует с атомами подложки, что способствует изменению механизма реакции на электрофильный. Кроме того, возможно некоторое экранирование лейцина из-за уменьшения угла между ароматическим кольцом фенилаланина и алкильным радикалом лейцина, тогда как аминокислотный остаток глицина становится более доступен для взаимодействия с атомами трития, как поступающим из газовой фазы, так и диффундирующим по поверхности оксида графена. Вместе с тем, достаточно равномерное распределение трития по аминокислотным остаткам пептида, нанесенного на углеродные нанотрубки, объяснили тем, что молекула даларгина «обворачивается» вокруг трубки с образованием внутримолекулярных водородных связей. В результате все аминокислотные остатки не испытывают затруднений для реакции с тритием.

В работе [29] на примере даларгина, нанесенного на лист графена, рассматриваются дальнейшие перспективы использования различных методов моделирования с использованием полуэмпирической оптимизации геометрии молекул для интерпретации результатов взаимодействия атомов трития с органическими соединениями.

Под действием атомов трития помимо реакции изотопного замещения водорода возможны и другие реакции, включающие декарбоксилирование, дегалоидирование, замещение на тритий гидроксильной и аминогруппы с образованием меченых побочных продуктов. Замещение водорода при других атомах кроме углерода приводит к образованию так называемой лабильной метки, которая легко замещается на водород при растворении вещества в воде или любом другом протонном растворителе. Тритий из лабильных положений удаляют, растворив меченое вещество с последующим испарением растворителя или с помощью диализа. Вероятность

протекания основной и побочных процессов зависит от условий проведения реакции.

На первом этапе применения метода термической активации [11] на основании работ И. Ленгмюра для получения меченых соединений было принято обрабатывать атомами трития мишени различных веществ несколько минут. Такой подход может быть оправдан только при использовании низких потоков атомов трития, например, когда реакцию проводили в длинных трубчатых реакционных сосудах в условиях термализации атомов [30]. Схемы расположения атомизатора и мишени в различных реакционных сосудах приведены в работах [21, 31, 32]. Оптимальные условия потока атомов трития на мишень создаются в цилиндрическом реакционном сосуде диаметром 6–7 см, вдоль центральной оси которого расположена вольфрамовая проволока. Как указано выше, в таком реакторе удобно создавать интенсивные потоки атомов трития без потери их энергии, и для вещества, активно связывающего тритий, характерное время полной атомизации газа составляет 10 с. Несомненно для реакции изотопного замещения водорода на тритий, особенно если вероятность реакции невысока, время обработки может быть больше. Но для веществ, которые способны легко модифицироваться под действием атомарного трития, увеличение времени реакции будет увеличивать количество побочных продуктов.

Негативное влияние больших потоков атомов на образование меченого материнского соединения было показано при получении меченого тритием пантетина [33]. Молекула пантетина содержит дисульфидный мостик, который легко восстанавливается под действием атомарного трития с разрывом как S–S-, так и C–S-связей. Для получения [^3H]пантетина пришлось снизить интенсивность потока атомов трития на мишень уменьшением температуры вольфрамовой проволоки и продолжительности реакции. Оказалось, что при температуре вольфрамовой проволоки 1360 К максимальный выход [^3H]пантетина достигался при времени реакции 30 с, а при 2000 К – менее 10 с. Повышение давления молекулярного трития увеличивало общую радиоактивность всех продуктов реакции, но уменьшало выход [^3H]пантетина. Максимальная радиоактивность [^3H]пантетина достигалась при следующих условиях: давление трития 0.5 Па, температура вольфрамовой проволоки 1700 К, время

реакции 10 с. Снижение температуры вольфрамовой проволоки и уменьшение времени реакции оказалось эффективным приемом для получения других меченых соединений.

Чем больше в молекуле функциональных групп, тем больше вариантов модификации молекулы возможно под действием атомарного трития. Регулировать их скорость можно, меняя интенсивность потока атомов и их энергетику. На примере реакций атомов трития с аминокислотами лизином и аспарагиновой кислотой было показано, что с увеличением температуры вольфрамовой проволоки скорости реакций декарбоксилирования и дезаминирования росли быстрее, чем реакция изотопного замещения водорода на тритий [26]. Из изменения отношения скорости образования продуктов модификации (норвалин, α -аланин, β -аланин) к скорости образования меченых материнских соединений с изменением температуры атомизатора (при времени реакции 10 с) было найдено, что энергия активации реакций декарбоксилирования и дезаминирования выше на 93 и 59 кДж/моль, чем энергия активации реакции изотопного замещения водорода на тритий по связи C–H. Поэтому зависимость выхода меченого материнского соединения имела экстремальный характер с максимумом при температуре атомизатора 1800–1900 К. Для других соединений условия оптимального выхода будут зависеть от их химической структуры. Исследование влияния условий обработки атомами трития мишеней различных соединений позволило выработать общее правило: чем деликатнее соединение, тем мягче должны быть условия введения метки [34].

Сопоставление результатов реакции атомов трития с безводными мишенями гомологических рядов аминокислот от глицина до норлейцина и бромидов алкилтриметиламмония (алкил = $-\text{C}_4\text{H}_9$, $-\text{C}_{12}\text{H}_{25}$, $-\text{C}_{14}\text{H}_{29}$, $-\text{C}_{16}\text{H}_{33}$) показало, что выход меченого материнского соединения возрастает с увеличением количества звеньев в углеводородном фрагменте молекул вплоть до $-\text{C}_4\text{H}_9$ (норлейцин), а далее мало меняется [26]. Для высших бромидов алкилтриметиламмония доля радиоактивности меченого материнского соединения от всей радиоактивности мишени достигала 80–90% и практически не зависела от температуры атомизатора. Полученные результаты можно объяснить, используя экспоненциальную модель уменьшения потока реакционных

атомов трития при их проникновении в глубь мишени с коэффициентом 1.8 нм^{-1} . То есть снижение потока атомов трития в 10 раз происходит на глубине 1.15 нм. Так как геометрическая площадь внутренних стенок типичного сосуда, на которые наносится вещество, составляет около 200 см^2 , то в реакцию будет вступать только 20–30 мкг вещества, и для более толстых мишеней избыточное количество вещества будет выполнять функцию «носителя».

Безусловно, способность атомов трития проникать в мишень зависит от плотности упаковки молекул на поверхности и их пространственной организации. Было найдено, что в области углеводородных цепей насыщенных адсорбционных слоев поверхностно-активных веществ [25] и бислойных липидных мембран [35] коэффициент ослабления снижается до 0.4 нм^{-1} , однако это особый случай, который редко реализуется при получении меченых соединений. При обработке атомами трития белков проникновение атомов трития внутрь глобулы практически невозможно в участках α -спиралей и β -складок [36], что ограничивает возможности введения трития в такие молекулы. Частичным решением проблемы является использование реакционных сосудов с шероховатыми стенками при их обработке абразивами или плавиковой кислотой. Гораздо более эффективным способом увеличения удельной радиоактивности белков оказалось их предварительная адсорбция на углеродных наноматериалах (наноалмаз, углеродные нанотрубки, оксид графена) с образованием монослойного покрытия. Полученные адсорбционные комплексы размещались на стенках реакционного сосуда и подвергались действию атомарного трития. Оказалось, что в этом случае удельная радиоактивность бычьего сывороточного альбумина может быть увеличена до 8700 Ки/ммоль. То есть в составе молекулы белка замещается на тритий 300 атомов водорода (8.2% от всех неабильных атомов водорода в альбумине) [37].

Для увеличения радиоактивности меченого соединения можно использовать повышение температуры мишени, если промежуточные радикалы устойчивы при температуре выше 77 К [22]. Однако такой прием не является универсальным, например, для блок-сополимеров этиленгликоля и пропиленгликоля увеличение температуры мишени приводило к полному подавлению реакции получения мече-

ного материнского соединения из-за неустойчивости промежуточных радикалов.

Для мишеней, представляющих собой смесь молекул, изменение условий введения трития может приводить к изменению распределения трития по компонентам мишени, что необходимо учитывать при введении трития в сложные смеси и при исследовании структуры надмолекулярных комплексов. На примере обработки атомами трития смеси аминокислот и глюкозамина в виде замороженных водных растворов или лиофилизированных мишеней было показано, что радиоактивность меченых соединений при времени воздействия 15 с зависела, прежде всего, от их концентрации в поверхностном слое [38, 39]. При времени реакции 45 с радиоактивность поверхностно-активных аминокислот (пролина и валина) достигала предельной величины, а при больших временах не менялась или даже снижалась, тогда как радиоактивность серина и глицина продолжала расти. В лиофилизированной мишени при малых временах реакции скорость образования $[^3\text{H}]$ глюкозамина была в 6 раз выше, чем $[^3\text{H}]$ глицина, однако при времени реакции более 45 с также наблюдалось снижение выхода $[^3\text{H}]$ глюкозамина. Было также экспериментально подтверждено, что увеличение давления трития в системе с 0.5 до 2 Па хотя и увеличивало исходную радиоактивность мишени, но мало сказывалось на эффективности введения трития в исследуемые вещества.

Обнаруженные закономерности изменения радиоактивности компонентов мишени объясняются совокупностью протекающих в мишени процессов: быстрое достижение предельной величины радиоактивности на поверхности мишени и существенно более медленное увеличение степени обмена водорода на тритий в объеме мишени; снижение радиоактивности меченого материнского соединения на поверхности мишени при больших временах реакции за счет побочных реакций с функциональными группами, которое не компенсируется реакцией в объеме мишени; определяющая роль в скорости образования меченого материнского соединения «горячих» атомов трития, не потерявших свою энергию за счет столкновений в газовой фазе и при проникновении в глубь мишени.

Изменение реакционной способности атомарного трития по мере проникновения в глубь мишени было продемонстрировано в эксперименте с амина-

кислотами, покрытыми слоями цетиламина разной толщины [40]. Оказалось, что даже монослой цетиламина сильно уменьшал скорость образования меченых аминокислот, а соотношение выходов меченого материнского соединения и побочных продуктов изменялось в сторону последних. Работа [40] отражает сложность процессов, происходящих в объеме мишени, и является важным аргументом в пользу минимальной обработки атомами трития препаратов в случае, если целью эксперимента является минимизация количества побочных продуктов.

Учет указанных факторов позволил применить метод термической активации для введения трития в природные смеси органических молекул – гуминовые и фульвокислоты. Важно было при введении трития и при дальнейших процедурах очистки сохранить набор молекул, входящих в состав этих препаратов, а распределение трития по компонентам сделать максимально равномерным. Оказалось, что такой результат достигается при обработке атомами трития лиофилизированных мишеней в течение 10 с в условиях свободного пробега атомов и температуре мишени 77 К, температура атомизатора выбирается в зависимости от химического состава гуминовых веществ и лежит в диапазоне 1800–1950 К. Идентичность свойств исходных и меченых препаратов подтверждалась с помощью эксклюзионной хроматографии [41]. Меченные тритием гуминовые вещества широко используются для исследования их поведения в различных системах, в том числе в живых организмах [42–46].

Аналогичный подход был применен для введения трития в другие препараты с неопределенным химическим составом или полимеры с различным молекулярно-массовым распределением: хитозан, кагоцел, карбоксиметилцеллюлозу, гиалурионовую кислоту, которые также использовались как радиоактивные индикаторы в биохимических и медицинских исследованиях [47–55].

Так как метод термической активации позволяет ввести тритий в любой объект, содержащий нелабильный водород (C–H), то логичным было использовать его для радиоактивной метки материалов, в которых водород не является основным элементом. Например, углеродные наноматериалы (наноалмазы, углеродные нанотрубки, графен и оксид графена) содержат водород в индикаторных

количествах, и с помощью метода термической активации удалось успешно ввести в них тритий [56, 57]. При малой степени обработки физико-химические свойства углеродных наноматериалов будут сохраняться, и такие меченные тритием материалы можно использовать как радиоактивные индикаторы. Такой подход был успешно реализован для выявления закономерностей поступления наноалмазов в растения через корневую систему [58, 59], а также при разработке прочных ксеногенных протезов клапанов сердца, содержащих наноалмазные покрытия, в том числе позволил проследить за сохранностью покрытий в экспериментах как *in vitro*, так и *in vivo* [60, 61].

Вместе с тем при длительной обработке атомарным тритием углеродных наноматериалов можно заместить практически весь водород на тритий и получить материал с предельно высокой удельной радиоактивностью. Для получения наноалмазов с предельно высокой радиоактивностью 9 ТБк/г, которая соответствует полному замещению «нелабильного водорода» на тритий, был использован специальный прием диспергирования водной суспензии агрегатов наноалмазов ультразвуком высокой интенсивности перед лиофилизацией, что повысило доступность атомам трития поверхности наночастиц [62].

Было показано, что длительная обработка атомарным тритием наноалмазов может приводить к химической модификации поверхности. При этом можно регулировать изменение свойств наноматериалов, причем процессы модификации существенно отличаются от термического отжига в атмосфере водорода [63]. Длительная обработка атомами трития оксида графена позволила также получить материал с высоким содержанием трития. В оксиде графена помимо замещения водорода на тритий происходит его восстановление, и если создать условия сохранения образующейся тритиевой воды в составе меченого материала, то он может иметь применение в виде источника мягкого бета-излучения большой интенсивности, например, в бета-вольтаических батареях [64].

Важным направлением использования реакций атомарного трития является «тритиевая планиграфия» – определение структуры белков из данных по распределению трития по аминокислотным остаткам [36]. Для успешной реализации метода необхо-

дима хорошая аналитическая база, включающая методы выделения и очистки белков, ферментативного гидролиза, разделения и идентификации пептидов. На последней стадии проводится аминокислотный анализ с измерением радиоактивности, желательного в on-line режиме. Из радиоактивности аминокислотных остатков можно прежде всего определить «доступную поверхность» белков [65]. Безусловно, для воссоздания структуры белка или белковых комплексов этой информации недостаточно, но с использованием информации, полученной другими методами, и компьютерного моделирования можно сделать правильный выбор в пользу наиболее реалистичной модели. В последние годы достигнут существенный прогресс в предсказании структуры белков по их первичной последовательности [66], а также продолжают развиваться экспериментальные методы определения структуры белков [67]. Тем не менее, использование реакций атомарного трития занимает свою нишу в исследовании структуры крупных биологических супрамолекулярных комплексов. Основные успехи метода тритиевой планиграфии были достигнуты в исследовании рибосомы [68], белковых оболочек растительных вирусов [69–75], белков в составе мембран вируса гриппа [76–79], адсорбционных слоев белков [80, 81].

Метод тритиевой планиграфии основан на том, что атомарный тритий не может проникать в плотно упакованные участки белковых глобул – элементы вторичной структуры. Фактически атомарный тритий замещает водород в тех участках белка, которые ему доступны. Используя калибровочные коэффициенты, учитывающие различия в реакционной способности компонентов белка, можно из удельной радиоактивности аминокислотных остатков определить площадь доступной поверхности и использовать эти данные в построении трехмерной структуры белка [82–85]. Для исследования белковых оболочек растительных вирусов и адсорбционных слоев белков наиболее подходящими оказались корреляционные коэффициенты, полученные в модельных экспериментах с короткими пептидами [86].

При интерпретации результатов авторы метода тритиевой планиграфии используют положение, что только первое столкновение атома трития с мишенью может быть реакционным, что удобно для

создания простой и понятной концепции метода. Такой подход удовлетворительно объясняет результаты взаимодействия атомов трития с компактными глобулярными белками, однако не может объяснить способность атомов трития проникать через бислойные липидные мембраны и внутрь белковой оболочки некоторых растительных вирусов. При рассмотрении взаимодействия с такими объектами необходимо учитывать, что глубина проникновения реакционных атомов трития в вещество (мишень) определяется процессами замедления атомов и скоростью химических реакций при изменении энергии атомов. В среду с высокой электронной плотностью, например, в структурированные участки белковых глобул, атомы трития не могут проникнуть, так как в случае нерекционного столкновения атом с большой вероятностью изменит траекторию своего движения и покинет эту среду. Если нерекционное столкновение произошло на поверхности мишени, то атом трития покинет мишень. Модель такого поведения атомов трития наглядно была показана в экспериментах с пленками полиэтилена, помещенными в алюминиевый футляр [24], и при автордиографии пористых материалов. При наличии в структуре мишени полостей с достаточно гладкими стенками после первого столкновения атом будет испытывать дальнейшие столкновения с углом отражения меньше $\pi/2$, то есть проникновение в такие полости будет происходить с минимальной потерей энергии атома (эффект «соскальзывания» атомов в полость) [87]. Такое поведение атомов трития необходимо учитывать для объектов с параллельной ориентацией молекул, между которыми имеются области с пониженной электронной плотностью, например, бислойные липидные мембраны, адсорбционные слои поверхностно-активных веществ (ПАВ).

С помощью реакций атомарного трития подробно исследовано образование адсорбционных слоев лизоцима и смесей лизоцима с ПАВ. Толщина адсорбционного слоя лизоцима, образующегося на границе раздела водный раствор–воздух, при различных концентрациях белка в растворе, а также влияние на адсорбцию белка pH и ионной силы раствора были определены с помощью метода нейтронного рассеяния, что позволило обнаружить условия образования разреженных и насыщенных слоев белка

с расположением молекул параллельно и перпендикулярно границе раздела [88, 89].

Однако полученные данные не позволяли определить ориентацию молекул лизоцима в адсорбционном слое. Эта задача была успешно решена с использованием атомарного трития [81]. Для этого водный раствор белка выдерживали на стенках реакционного сосуда для образования адсорбционного слоя, затем быстро замораживали. Реакционный сосуд с полученной мишенью подсоединяли к вакуумной установке для работы с газообразным тритием, обработку атомами трития замороженного раствора проводили импульсами по 10 с, дважды обновляя состав газовой фазы. Как было показано в работе [38], эти условия являются оптимальными с точки зрения достижения приемлемой величины радиоактивности белка без существенного вклада побочных реакций. Далее меченный тритием препарат по классической схеме, используемой в тритиевой планиграфии, подвергали очистке, ферментативному гидролизу, хроматографическому разделению пептидов, их кислотному гидролизу и аминокислотному анализу с определением удельной радиоактивности аминокислот. В результате определили профиль радиоактивности аминокислотных остатков лизоцима и экспериментальные данные сопоставили с компьютерным моделированием процесса бомбардировки лизоцима горячими атомами трития. Оказалось, что при концентрации раствора 2 г/л образуется насыщенный адсорбционный слой, в котором молекулы лизоцима расположены перпендикулярно границе раздела фаз с равной вероятной ориентацией молекул относительно границы раздела. Это означает, что при этой концентрации на границе раздела лизоцим адсорбируется в виде димеров с противоположной ориентацией молекул в составе димера. Про образование димеров лизоцима в объеме раствора при высокой концентрации известно [90]. Однако равновероятную ориентацию молекул в адсорбционном слое удалось определить только с помощью реакций атомарного трития.

При реакции атомов трития с лизоцимом в составе смешанных адсорбционных слоев общая радиоактивность лизоцима и распределение трития по аминокислотным остаткам будут зависеть как от ориентации молекул лизоцима в слое, так и от экранирующего действия ПАВ. Для упрощения анализа использовали более простой подход: после обра-

ботки атомами трития проводили тотальный гидролиз белка и определяли распределение трития по типам аминокислотных остатков. Так как в составе лизоцима присутствуют только 3 остатка фенилаланина (F) и 2 остатка пролина (P), которые расположены по разные стороны белковой глобулы, то эти аминокислоты были выбраны в качестве реперных, и отношение удельных радиоактивностей $A(F)/A(P)$ позволяло сделать вывод об ориентации лизоцима в адсорбционном слое [91]. При адсорбции димеров с равновероятной ориентацией лизоцима относительно границы раздела $A(F)/A(P)$ было близко к единице [81].

Для анализа результатов экспериментов со смесями лизоцима с ПАВ также привлеклась информация об изменении поверхностного натяжения для границ раздела с воздухом и п-ксилолом, а также определяли состав смешанных адсорбционных слоев, образующихся на межфазной границе водный раствор/п-ксилол с помощью меченных тритием соединений и метода сцинтиллирующей фазы [92]. Важно отметить, что эксперимент с использованием реакций атомарного трития проводили при концентрации ПАВ, при которой структура белка сохранялась.

В результате был определен состав смешанных адсорбционных слоев, а также выявлена преимущественная ориентация лизоцима для его смесей с различными ПАВ. Оказалось, что ориентация белка в составе смешанного адсорбционного слоя зависит от типа ПАВ. В присутствии бромид-додецилтриметиламмония (ДТАБ) отношение удельных радиоактивностей $A(F)/A(P)$ увеличивалось до 1.5, и наоборот, в присутствии неионогенных ПАВ (Бридж-35, триблоксополимеров этиленгликоля и пропиленгликоля или плуроников P123, F127, L121) отношение $A(F)/A(P)$ становилось меньше 1 (от 0.1 до 0.5).

В смешанных адсорбционных слоях лизоцима с ионогенными ПАВ наблюдалось сильное уменьшение радиоактивности лизоцима: уже при эквимолярном отношении веществ в растворе в присутствии ДТАБ радиоактивность лизоцима снижалась в 4 раза. Такое изменение объясняется как частичным вытеснением белка из адсорбционного слоя, так и образованием комплексов ПАВ–белок, что приводило к экранировке аминокислотных остатков белка в реакции с атомами трития.

Для неионогенных ПАВ уменьшение радиоактивности лизоцима в составе смешанного адсорбционного слоя наблюдалось только для плюроники F127, который в отличие от плюроников L121 и P123 не образует пластиноподобных ламеллярных структур [93]. Для плюроники L121 общая радиоактивность лизоцима изменилась мало, а для плюроники P123 и Бридж-35 радиоактивность выросла, хотя по данным метода сцинтиллирующей фазы эти вещества частично вытесняют лизоцим с границы раздела [94]. Наблюдаемый эффект увеличения радиоактивности белка объясняется проницаемостью адсорбционных слоев неионогенных ПАВ для атомарного трития, а также более слабым их взаимодействием с белковой глобулой. В адсорбционном слое молекулы лизоцима располагаются между молекулами неионогенных ПАВ, которые в меньшей степени экранируют белок от атомов трития по сравнению с молекулами воды.

Молекула Бридж-35 имеет такой же гидрофобный фрагмент, как ДТАБ, но гидрофильный фрагмент образован этиленоксидными звеньями, аналогично плюороникам. Сходство в результатах для Бридж-35 и плюороников определяется именно объемным гидрофильным фрагментом, который обеспечивает слабое взаимодействие с молекулой лизоцима и высокой проницаемостью адсорбционного слоя для трития.

Для определения мест взаимодействия при образовании комплекса с лизоцимом был проведен анализ с помощью молекулярного докинга. Использовали два типа программного обеспечения: (1) HEX 8 – программный пакет, который позволяет определить центр связывания при минимальной полной энергии системы, и для исследования межмолекулярного взаимодействия полимерных молекул эта программа была единственным инструментом; (2) Autodock 4 – программный пакет, который позволяет определить энергию связывания белок–лиганд в заданных координатах. При построении модели комплекса использовали структуру лизоцима 6lyz из Protein Data Bank.

Для комплексов лизоцима с катионными ПАВ с помощью программного пакета HEX 8 выявили два выгодных положения лиганда: в области активного центра фермента и в области α -спирали от Val109 до Arg114. Поэтому при расчете в программе Autodock 4 использовали оба возможных

положения ПАВ. Было установлено, что значения свободной энергии для комплексов, в котором лиганд находится в области активного центра, близки к экспериментально определенным из результатов флуоресцентного анализа [95]. В смешанном адсорбционном слое можно предположить возможность обоих положений лиганда в комплексе с лизоцимом: на его поверхности и включенного в активный центр фермента. Такое взаимодействие приводит к ориентации лизоцима в адсорбционном слое таким образом, что аминокислотные остатки фенилаланина направлены в сторону границы раздела фаз, а расположение ПАВ в комплексе приводит к существенной экранировке лизоцима для атомарного трития, что снижает его радиоактивность.

Для плюороников моделирование с помощью программного пакета HEX 8 показало, что взаимодействие этиленоксидных цепей происходит с помощью водородных связей с остатками аминокислот на поверхности белковой глобулы вблизи остатков фенилаланина (Phe3, Phe34 и Phe38), тогда как остатки пролина (Pro70 и Pro79) остаются в гидрофобной среде. В результате молекуле лизоцима становится выгодно повернуться так, чтобы участок с фенилаланинами оказался в растворе, а участок с пролинами – на поверхности раздела. В адсорбционном слое, образованном лизоцимом и плюорониками, молекулы лизоцима отделены друг от друга и, как следствие, более доступны взаимодействию с атомарным тритием по сравнению с адсорбционным слоем, образованным индивидуальным лизоцимом. Таким образом, результаты докинга подтвердили полученные нами экспериментальные данные.

Для определения состава и строения смешанных адсорбционных слоев лизоцима использовали большой набор методов, но важнейшим связующим звеном в этом цикле работ является использование метода термической активации трития как способа получения меченых соединений и как инструмента исследования адсорбционных слоев с помощью реакций атомарного трития. Аналогично исследуются и другие объекты, например, условия образования и состав адсорбционных слоев лизоцима и альбумина на поверхности различных типов углеродных наноматериалов (детонационные наноалмазы, одностенные углеродные нанотрубки, оксид графена) [96–98].

Такой комплексный подход получил название «тритиевый зонд» и включает следующие этапы работы:

получение меченного тритием вещества и использование его в качестве радиоактивного индикатора для определения условий образования и состава молекулярных комплексов (чаще всего биополимер–лиганд), а также смешанных адсорбционных слоев;

обработку атомарным тритием исследуемого объекта;

анализ распределения трития по компонентам;

определение структуры исследуемого объекта исходя из распределения трития по компонентам с привлечением данных других методов (оптическая спектроскопия, тензиометрия и др.) и компьютерного моделирования.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 22-23-00019).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Langmuir I. // J. Am. Chem. Soc. 1912. Vol. 34, N 7. P. 860.
2. Langmuir I. Nobel Lecture: Surface Chemistry // Nobelprize.org. Nobel Media AB 2014. 1932. P. 38.
3. Yang N. Novel Aspects of Diamond: from Growth to Applications. Topics in Applied Physics. Switzerland: Springer, 2015. 296 p.
4. Ребров А.К. // УФН. 2017. Т. 187, N 2. С. 193.
5. Tok E.S. // J. Chem. Phys. 2001. Vol. 115. P. 6550.
6. Li Q., Tok E.S., Chuan K.H. // Phys. Rev. B: Condens. Matter. 2008. Vol. 77, N 20. P. 205306.
7. Widdra W., Yi S.I., Maboudian R., Briggs G.A.D., Weinberg W.H. // Phys. Rev. Lett. 1995. Vol. 74, N 11. P. 2074.
8. Tok E.S., Engstrom J.R., Kang H.C. // J. Chem. Phys. 2003. Vol. 118, N 7. P. 3294.
9. Chen J., Louis E., Harmsen R., Tsarfati T., Wormeester H., Van Kampen M., Schaik W., van de Kruijs R., Bijkerk F. // Appl. Surf. Sci. 2011 Vol. 258, N 1. P. 7.
10. Song Y., Lu Q., Gong X., Wang D., Zhang Z., Yu B., Yao S., Mao Q., Ma T., Bai Y. // Vacuum. 2022. Vol. 196. 110738.
11. Шишков А.В., Филатов Э.С., Симонов Е.Ф., Унукович М.С., Гольданский В.И., Несмеянов А.Н. // ДАН СССР. 1976. Т. 228, № 5. С. 1237.
12. Шишков А.В., Нейман Л.А., Смоляков В.С. // Успехи химии. 1984. Т. 53, № 7. С. 1125.
13. Нейман Л.А. Смоляков В.С., Шишков А.В. Радиоизотопные методы в физико-химической биологии. Использование реакций атомарного трития. Итоги науки и техники. Сер.: Общие проблемы физико-химической биологии М.: ВИНТИ, 1985. Т. 2. 208 с.
14. Fukai Y. The Metal–Hydrogen System. Basic Bulk Properties. Springer, 2005. 2nd Ed. 499 p.
15. Umemoto H., Ohara K., Morita D., Nozaki Y., Masuda A., Matsumura H. // J. Appl. Phys. 2002. Vol. 91, N 3. P. 1650.
16. Zheng W., Gallagher A. // Surf. Sci. 2006. Vol. 600, N 10. P. 2207.
17. Langmuir I. // J. Am. Chem. Soc. 1912. Vol. 34, N 10. P. 1310.
18. Otsuka T., Ihara M., Komiyama H. // J. Appl. Phys. 1995. Vol. 77, N 2. P. 893.
19. Бадун Г.А., Филатов Э.С. // Атом. энергия. 1987. Т. 63, № 2. С. 123.
20. Бадун Г.А., Волкова С.В., Кузьмичева О.Н., Михалина Е.В., Тясто З.А. // Радиохимия. 2005. Т. 47, № 2. С. 178.
21. Филатов Э.С., Симонов Е.Ф. Физико-химические и ядерно-химические способы получения меченых соединений и их идентификация. М.: Энергоатомиздат, 1987. 348 с.
22. Badun G.A., Chernysheva M.G., Ksenofontov A.L. // Radiochim. Acta. 2012. Vol. 100, N 6. P. 401.
23. Кондратьев В.Н., Никитин Е.Е. Химические процессы в газах. М.: Наука, 1981. 262 с.
24. Бадун Г.А., Михалина Е.В., Тясто З.А. // Радиохимия. 2006. Т. 48, № 5. С. 468.
25. Тясто З.А., Михалина Е.В., Чернышева М.Г., Бадун Г.А. // Радиохимия. 2007. Т. 49, № 2. С. 163.
26. Чернышева М.Г., Бадун Г.А., Тясто З.А., Позднякова В.Ю., Федосеев В.М., Ксенофонов А.Л. // Радиохимия. 2007. Т. 49, № 2. С. 166.

27. Разживина И.А., Бадун Г.А., Артемкина С.Б., Чернышева М.Г., Ксенофонтов А.Л., Грайфер Е.Д., Гаршев А.В. // Радиохимия. 2019. Т. 61, № 1. С. 56.
28. Чернышева М.Г., Буняев В.А., Бадун Г.А. // Радиохимия. 2020. Т. 62, № 2. С. 169.
29. Денисик М.Г., Бадун Г.А., Чернышева М.Г., Митрофанов А.А. // X Рос. конф. с междунар. участием «Радиохимия-2022»: Тез. докл. СПб., 26–30.09.2022. С. 22.
30. Бадун Г.А., Филатов Э.С., Костин А.И. // Радиохимия. 1985. Т. 27, № 2. С. 222.
31. Гедрович А.В., Бадун Г.А. // Коллоид. журн. 1992. Т. 54, № 3. С. 24.
32. Шевченко В.П., Разживина И.А., Чернышева М.Г., Бадун Г.А., Нагаев И.Ю., Шевченко К.В., Мясоедов Н.Ф. // Радиохимия. 2015. Т. 57, № 3. С. 264.
33. Бадун Г.А., Филатов Э.С. // Радиохимия. 1991. Т. 33, № 1. С. 75.
34. Бадун Г.А. // Биохимия, фармакология и клиническое применение пантотеновой кислоты: Сб. науч. статей / Под ред. А.Г. Мойсеев. Гродно, 2003. С. 9.
35. Kordyukova L.V., Ksenofontov A.L., Badun G.A., Varatova L.A. // Biosci. Rep. 2001. Vol. 21, N 6. P. 711.
36. Баратова Л.А., Богачева Е.Н., Гольдманский В.И., Колб В.А., Спирин А.С., Шишков А.В. Тритиевая планиграфия биологических макромолекул. М.: Наука, 1999. 175 с.
37. Бадун Г.А., Чернышева М.Г. Патент на изобретение № RU 2671411 C1. Заявка № 2017133991. Приоритет изобретения 29.09.2017. Опубликовано: 31.10.2018. Бюл. № 31.
38. Бадун Г.А., Лукашина, Е.В. Ксенофонтов, А.Л. Федосеев В.М. // Радиохимия. 2001. Т. 43, № 3. С. 272.
39. Бадун Г.А., Ксенофонтов А.Л., Лукашина Е.В., Позднякова В.Ю., Федосеев В.М. // Радиохимия. 2005. Т. 47, № 3. С. 28140.
40. Чернышева М.Г., Тясто З.А., Бадун Г.А. // Радиохимия. 2009. Т. 51, № 3. С. 270.
41. Badun G.A., Chernysheva M.G., Tyasto Z.A., Kulikova N.A., Kudryavtsev A.V., Perminova I.V. // Radiochim. Acta. 2010. Vol. 98. N 3. P. 161.
42. Klein O.I., Isakova E.P., Deryabina Yu.I., Kulikova N.A., Badun G.A., Chernysheva M.G., Stepanova E.V., Koroleva O.V. // J. Chem. Ecol. 2014. Vol. 40. N 6. P. 643.
43. Kulikova N.A., Abroskin D.P., Badun G.A., Chernysheva M.G., Korobkov V.I., Beer A.S., Tsvetkova E.A., Senik S.V., Klein O.I., Perminova I.V. // Sci. Rep. 2016. Vol. 6. 28869.
44. Chernysheva M.G., Badun G.A., Kulikova N.A., Perminova I.V. // Chemosphere. 2020. Vol. 238. 124646.
45. Badun G.A., Chernysheva M.G., Zhernov Yu.V., Poroshina A.S., Smirnov V.V., Pigarev S.E., Mikhnevich T.A., Volkov D.S., Perminova I.V., Fedoros E.A. // Biomedicines. 2021. Vol. 9, N 12. 1787.
46. Zhao Y.-T., Wu C., Yan S., Wang C., Huang Z., Tan Q.-G., Ji R., Yang L., Sun C., Badun G.A., Chernysheva M.G., Wang P., Miao A.-J. // Anal. Chem. 2023. Vol. 95, N 2. P. 1219–1227.
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c03981>
47. Gallyamov M.O., Chaschin I.S., Khokhlova M.A., Grigorev T.E., Bakuleva N.P., Lyutova I.G., Kondratenko J.E., Badun G.A., Chernysheva M.G., Khokhlov A.R. // Mater. Sci. Eng. C. 2014. Vol. 37. P. 127.
48. Gallyamov M., Chaschin I., Bulat M., Bakuleva N., Badun G., Chernysheva M., Kiselyova O., Khokhlov A. // J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater. 2018. Vol. 106, N 1. P. 270.
49. Бадун Г.А., Чернышева М.Г., Казаишвили Ю.Г., Рудой Б.А. // Фармация. 2018. Т. 67, № 7. С. 14.
50. Chaschin I.S., Khugaev G.A., Krashenninnikov S.V., Petlenko A.A., Badun G.A., Chernysheva M.G., Dzhidzhikhiya K.M., Bakuleva N.P. // J. Supercrit. Fluids. 2020. Vol. 164. 104893.
51. Orlova M.A., Spiridonov V.V., Badun G.A., Trofimova T.P., Orlov A.P., Zolotova A.S., Priselkov A.B., Aleshin G.Yu., Chernysheva M.G., Yaroslavov A.A., Kalmykov S.N. // Mendeleev Commun. 2022. Vol. 32, N 5. P. 658.
52. Синолиц А.В., Чернышева М.Г., Бадун Г.А. // Радиохимия. 2021. Т. 63, № 4. С. 507.
53. Fedoros E.I., Baldueva I.A., Perminova I.V., Badun G.A., Chernysheva M.G., Grozdova I.D., Melik-Nubarov N.S., Danilova A.B., Nekhaeva T.L., Kuznetsova A.I., Emelyanova N.V., Ryakhovskiy A.A., Pigarev S.E., Semenov A.L., Tyndyk M.L., Gubareva E.A., Panchenko A.V., Bykov V.N., Anisimov V.N. // Environ. Res. 2020. Vol. 191. 110049.
54. Novikov I.V., Pigaleva M.A., Naumkin A.V., Badun G.A., Levin E.E., Kharitonova E.P., Gromovych T.I., Gallyamov M.O. // Carbohydr. Polym. 2021. Vol. 258. 117614.
55. Chaschin I.S., Sinolits M.A., Badun G.A., Chernysheva M.G., Anuchina N.M., Krashenninnikov S.V., Khugaev G.A., Petlenko A.A., Britikov D.V., Zubko A.V., Kurilov A.D., Dreger E.I., Bakuleva N.P. // Int. J. Biol. Macromol. 2022. Vol. 222. Part B. P. 2761.

56. Badun G.A., Chernysheva M.G., Yakovlev R.Yu., Leonidov N.B., Semenenko M.N., Lisichkin G.V. // *Radiochim. Acta*. 2014. Vol. 102, N 10. P. 941.
57. Badun G.A., Chernysheva M.G., Grigorieva A.V., Eremina E.A., Egorov A.V. // *Radiochim. Acta*. 2016. Vol. 104, N 8. P. 593.
58. Abmetko I.V., Chernysheva M.G., Kulikova N.A., Konstantinov A.I., Popov A.G., Badun G.A., Perminova I.V. // *Environ. Res.* 2021. Vol. 193. 110396.
59. Chernysheva M.G., Myasnikov I.Yu., Badun G.A., Matorin D.N., Gabbasova D.T., Konstantinov A.I., Korobkov V.I., Kulikova N.A. // *J. Soils Sedim.* 2018. Vol. 18, N 4. P. 1335.
60. Chernysheva M.G., Chaschin I.S., Badun G.A., Vasil'ev V.G., Mikheev I.V., Shen T., Sinolits M.A., Bakuleva N.P. // *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* 2022. Vol. 656. 130373.
61. Чернышева М.Г., Шень Т., Чащин И.С., Бадун Г.А. // X Рос. конф. с междунар. участием «Радиохимия-2022»: Тез. докл. СПб., 26–30.09.2022. С. 63.
62. Myasnikov I.Yu., Gopin A.V., Mikheev I.V., Chernysheva M.G., Badun G.A. // *Mendeleev Commun.* 2018. Vol. 28. P. 495.
63. Чернышева М.Г., Денисик М.Г., Попов А.Г., Бадун Г.А. // X Рос. конф. с междунар. участием «Радиохимия-2022»: Тез. докл. СПб., 26–30.09.2022. С. 62.
64. Бадун Г.А., Чернышева М.Г., Буняев В.А. Заявка на патент RU 2022134382A от 27.12.2022.
65. Bogacheva E.N., Gol'danskii V.I., Shishkov A.V., Galkin A.V., Baratova L.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998. Vol. 95, N 6. P. 2790–2794.
66. Jumper J., Evans R., Pritzel A., Green T., Figurnov M., Ronneberger O., Tunyasuvunakool K., Bates R., Žídek A., Potapenko A., Bridgland A., Meyer C., Kohl S. A. A., Ballard A. J., Cowie A., Romera-Paredes B., Nikolov S., Jain R., Adler J., Back T., Petersen S., Reiman D., Clancy E., Zielinski M., Steinegger M., Pacholska M., Berghammer T., Bodenstein S., Silver D., Vinyals O., Senior A.W., Kavukcuoglu K., Kohli P., Hassabis D. // *Nature*. 2021. Vol. 596. P. 583.
67. Thompson M.C., Yeates T.O., Rodriguez J.A. // *F1000Res*. 2020. Vol. 9. P. 667.
68. Agafonov D.E., Kolb V.A., Spirin A.S. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. Vol. 94. № 24. P. 12892.
69. Nemykh M.A., Efimov A.V., Novikov V.K., Orlov V.N., Arutyunyan A.M., Drachev V.A., Lukashina E.V., Baratova L.A., Dobrov E.N. // *Virology*. 2008. Vol. 373, N 1. P. 61.
70. Добров Е.Н., Ефимов А.В., Баратова Л.А. // *Молекуляр. биология*. 2004. Т. 38, № 5. С. 945.
71. Baratova L.A., Efimov A.V., Dobrov E.N., Fedorova N.V., Hunt R., Badun G.A., Ksenofontov A.L., Torrance L., Järvekülg L. // *J. Virol.* 2001. Vol. 75, N 20. P. 9696.
72. Dobrov E.N., Badun G.A., Lukashina E.V., Fedorova N.V., Ksenofontov A.L., Fedoseev V.M., Baratova L.A. // *Eur. J. Biochem.* 2003. Vol. 270, N 16. P.3300.
73. Lukashina E., Badun G., Fedorova N., Ksenofontov A., Nemykh M., Serebryakova M., Mukhamedzhanova A., Karpova O., Rodionova N., Baratova L., Dobrov E. // *FEBS J.* 2009. Vol. 276. P. 7006.
74. Lukashina E., Ksenofontov A., Fedorova N., Badun G., Mukhamedzhanova A., Karpova O., Rodionova N., Baratova L., Dobrov E. // *Mol. Plant Pathol.* 2012. Vol. 13, N 1. P. 38.
75. Ksenofontov A.L., Fedorova N.V., Badun G.A., Serebryakova M.V., Nikitin N.A., Evtushenko E.A., Chernysheva M.G., Bogacheva E.N., Dobrov E.N., Baratova L.A., Atabekov J.G., Karpova O.V. // *PLoS ONE*. 2019. Vol.14, N 5. e0216905.
76. Богачева Е.Н., Долгов А.А., Чуличков А.Л., Шишков А.В., Ксенофонтов А.Л., Федорова Н.В., Баратова Л.А. // *Биоорганич. химия*. 2012. Т. 38, № 1. С. 70.
77. Ксенофонтов А.Л., Добров Е.Н., Федорова Н.В., Радюхин В.А., Бадун Г.А., Арутюнян А.М., Богачева Е.Н., Баратова Л.А. // *Молекуляр. биология*. 2011. Т. 45, № 4. С. 689.
78. Shishkov A., Bogacheva E., Fedorova N., Ksenofontov A., Badun G., Radyukhin V., Lukashina E., Serebryakova M., Dolgov A., Chulichkov A., Dobrov E., Baratova L. // *FEBS J.* 2011 Vol. 278, N 24. P. 4905.
79. Shishkov A.V., Goldanskii V.I., Baratova L.A., Fedorova N.V., Ksenofontov A.L., Zhirnov O.P., Galkin A.V. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1999. Vol. 96, N 14. P. 7827.
80. Богачева Е.Н., Гедрович А.В., Шишков А.В. // *Коллоид. журн.* 2004. Т. 66, № 2. С. 166.
81. Lukashina E. V., Badun G.A., Chulichkov A.L. // *Biomol. Eng.* 2007. Vol. 24, N 1. P. 125.
82. Шишков А.В., Богачева Е.Н. // *Хим. физика*. 2014. Т. 33, № 7. С. 74.
83. Богачева Е.Н., Долгов А.А., Шишков А.В. // *Хим. физика*. 2012. Т. 31, № 6. С. 26.
84. Богачева Е.Н., Долгов А.А., Чуличков А.Л., Шишков А.В. // *Хим. физика*. 2012. Т. 31, № 8. С. 45.

85. Богачева Е.Н., Богачев А.Н., Дмитриев И.Б., Долгов А.А., Чуличков А.Л., Шишков А.В., Баратова Л.А. // Биофизика. 2011. Т. 56, № 6. С. 1024.
86. Гедрович А.В., Бадун Г.А. // Молекуляр. биология. 1992. Т. 26. С. 558.
87. Бадун Г.А., Федосеев В.М. // Радиохимия. 2001. Т. 43, № 3. С. 267.
88. Lu J.R., Su T. J., Thomas R.K., Penfold J., Webster J. // J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1998. Vol. 94, N 21. P. 3279.
89. Lu J.R., Su T.J., Howlin B.J. // Phys. Chem. B. 1999. Vol. 103, № 28. P. 5903.
90. Wilson L.J., Adcock-Downey L., Pusey M.L. // Biophys. J. 1996. Vol. 71. P. 2123.
91. Chernysheva M.G., Badun G.A., Razzhivina I.A., Ksenofontov A.L. // Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp. 2017. Vol. 520. P. 1.
92. Бадун Г.А., Чернышева М.Г., Позднякова В.Ю., Федосеев В.М. // Радиохимия. 2005. Т. 47, № 6. С. 536.
93. Lee E.S., Oh Y.T., Youn Y.S., Nam M., Park B., Yun J., Kim J.H., Song H.-T., Oh K.T. // Colloids Surf.B: Biointerfaces. 2011. Vol. 82, N 1. P. 190.
94. Chernysheva M.G., Shnitko A.V., Ksenofontov A.L., Arutyunyan A.M., Petoukhov M.V., Badun G.A. // Int. J. Biol. Macromol. 2020. Vol. 158. P. 721.
95. Chernysheva M.G., Shnitko A.V., Skrabkova H.S., Badun G.A. // Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp. 2021. Vol. 629. P. 127503.
96. Чернышева М.Г., Бадун Г.А., Синолиц А.В., Егоров А.В., Егорова Т.Б., Попов А.Г., Ксенофонтов А.Л. // Радиохимия. 2021. Т. 63, № 2. С. 185.
97. Bunyayev V.A., Shnitko A.V., Chernysheva M.G., Ksenofontov A.L., Badun G.A. // Fullerenes, Nanotubes Carbon Nanostruct. 2022. Vol. 30. № 1. P.99.
98. Буняев В.А., Чернышева М.Г., Бадун Г.А. // X Рос. конф. с междунар. участием «Радиохимия-2022»: Тез. докл. СПб., 26–30.09.2022. С. 14.