

КАЗАНСКИЙ ФИЗИКО-ТЕХНИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ИМ. Е.К. ЗАВОЙСКОГО –
ОБОСОБЛЕННОЕ СТРУКТУРНОЕ ПОДРАЗДЕЛЕНИЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «КАЗАНСКИЙ НАУЧНЫЙ
ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

На правах рукописи

Гафарова Альбина Разитовна

**КОНФОРМАЦИИ СОЛЕЙ ГЛЮКОНОВОЙ КИСЛОТЫ В УСЛОВИЯХ
ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ И МЕХАНОХИМИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ ПО
ДАНЫМ ЭПР И КВАНТОВОЙ ХИМИИ**

1.3.17. Химическая физика, горение и взрыв,
физика экстремальных состояний вещества

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата физико-математических наук

Научный руководитель:
к. ф.-м. н., Гумаров Г.Г.

Казань 2024

СОДЕРЖАНИЕ

Список сокращений и обозначений	4
ВВЕДЕНИЕ	5
Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	11
1.1. Характеристика исследуемых объектов	11
1.1.1. Глюконат кальция	11
1.1.2. Механоактивированный глюконат кальция	15
1.1.3. Глюконат натрия	17
1.2. Взаимодействие ионизирующего излучения с веществом. Образование радикалов	20
1.2.1. Быстрые электроны	22
1.3. Превращение органических веществ под действием механических напряжений	26
1.4. ЭПР как метод изучения радикалов в твердотельных углеводородах ..	29
1.4.1. Анализ g-тензора	33
1.4.2. Анализ тензоров СТВ	34
Глава 2. ТЕХНИКА И МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА	38
2.1. Объекты исследования	38
2.2. Используемая экспериментальная техника	40
2.2.1. Техника и методика облучения	40
2.2.2. Механоактивация	43
2.2.3. Методика исследований методами радиоспектроскопии	44
2.2.4. ИК спектроскопия	46
2.3. Методика моделирования спектров и квантово-химических расчетов	47

Глава 3. ИССЛЕДОВАНИЕ ГАММА-ОБЛУЧЕННЫХ СОЛЕЙ ГЛЮКОНОВОЙ КИСЛОТЫ МЕТОДАМИ МАГНИТНОЙ РАДИОСПЕКТРОСКОПИИ	49
3.1. ЯМР исследование гамма-облученного глюконата кальция.....	49
3.2. Исследования глюконата кальция методом ИК спектроскопии.....	52
3.3. ЭПР исследование гамма-облученного глюконата кальция в X- и Q- диапазонах	55
3.4. Квантово-химические расчеты в исследовании конформации глюконата кальция	62
3.5. Исследование глюконата натрия.....	71
Выводы по 3 главе.....	76
Глава 4. ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНОАКТИВИРОВАННОГО ГАММА- ОБЛУЧЕННОГО ГЛЮКОНАТА КАЛЬЦИЯ МЕТОДОМ ЭПР.....	77
4.1. ЭПР исследование механоактивированного глюконата кальция	77
4.2. ЭПР исследование глюконата кальция механоактивированного и облученного	80
Выводы по 4 главе.....	83
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	84
ПУБЛИКАЦИИ АВТОРА ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.....	85
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	88
БЛАГОДАРНОСТИ	98
ПРИЛОЖЕНИЕ 1	99
ПРИЛОЖЕНИЕ 2	100

Список сокращений и обозначений

КГ – кальция глюконат моногидрат ($\text{CaGluc}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$)

ГН – глюконат натрия (NaGluc)

МАКГ – механоактивированная форма глюконата кальция

ЭПР – электронный парамагнитный резонанс

СТС – сверхтонкая структура

СТВ – сверхтонкое взаимодействие

ЯМР – ядерный магнитный резонанс

ИК-спектроскопия – инфракрасная спектроскопия

DFT – (Density Functional Theory) метод квантово-химического моделирования систем

ПЦ – парамагнитный центр

ЛПЭ – линейная передача энергии

РСА – рентгеноструктурный анализ

ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия

SA MA – глюконат кальция высокой степени очистки (Sigma Aldrich) подвергнутый механоактивированию

ТТ MA – официальный (Тюменского Химико-Фармацевтического завода) глюконат кальция подвергнутый механоактивации

A – константа сверхтонкого взаимодействия

θ – торсионный угол

g – g-фактор

β -протон – протон, связанный с соседним атомом углерода

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Глюконовая кислота и ее соли находят множество применений в различных отраслях промышленности, в том числе в фармацевтике. Это связано, в основном, с ее слабокислым характером и сильной комплексообразующей способностью ее различных депротонированных форм. Повышенная стабильность глюконатных комплексов по отношению к другим монокарбоновым кислотам/солям обусловлена главным образом наличием спиртовых ОН-групп, депротонирование которых обеспечивает благоприятную основу для образования очень стабильных хелатных комплексов [1].

В частности, глюконат натрия часто используется в комбинации с другими веществами, в качестве плазмозамещающего и регулирующего водно-солевой баланс лекарства. При введении препаратов с добавлением данного соединения восполняется дефицит жидкости и электролитов, усиливается диурез, улучшается микроциркуляция крови. Такие составы также обладают противошоковым и дезинтоксикационным действием [2].

Среди прочих, наиболее распространенной солью глюконовой кислоты является глюконат кальция (или кальциевая соль глюконовой кислоты, КГ, $\text{CaGluc}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), который используется при лечении заболеваний, связанных с дефицитом кальция. Как известно, кальций играет огромную роль в жизнедеятельности организма, в функционировании мышечной ткани, клеток миокарда, нервной системы, кожи и костной ткани. Недостаточное поступление кальция и нарушение обмена кальция в организме может привести к серьезным заболеваниям, требующим систематического лечения. Интерес к исследованию данного соединения в последнее время был связан с разработкой механоактивированной модифицированной нанодисперсной аморфной формы глюконата кальция (МАКГ), биодоступность которой значительно выше. Предполагается, что повышение эффективности препарата может быть связано со стереохимическими изменениями

молекулы глюконата кальция при механоактивации [3-7]. Известно, что в результате механохимической обработки происходит образование парамагнитных центров [6]. В связи с этим, в данной работе рассматривается возможность использования метода ЭПР для исследования структуры механоактивированного глюконата кальция (МАКГ). Ионизирующее излучение (облучение γ -квантами) создает парамагнитные центры, позволяющие исследовать КГ методом ЭПР.

Известно, что облучение многоатомных спиртов (соединений, близких по составу и строению к солям глюконовой кислоты) гамма-квантами приводит в основном к образованию свободных радикалов на атомах углерода в результате разрыва связи С-Н [8-11]. Анализ спектров ЭПР позволит оценить величину торсионных углов между осью радикала и направлением связи С-Н на соседних атомах углерода, на основании соотношения Мак-Конелла. В спектре ЭПР будут наблюдаться линии сверхтонкой структуры, что позволит определить направление осей парамагнитного центра.

Исследование облученных солей глюконовой кислоты (глюконата кальция и глюконата натрия) также представляет интерес для такого направления фармацевтики как радиационная стерилизация лекарств. Метод радиационной стерилизации фармацевтических препаратов является хорошей альтернативой традиционным химической и термической обработкам. Можно проводить стерилизацию в конечной герметичной упаковке (нет риска повторного загрязнения), не происходит нагревания препарата (возможность стерилизации чувствительных к температуре соединений), происходит равномерная обработка по всему объёму (что трудно достижимо при химической и термической обработке) и т.д. [12-17].

Кроме того, существует определенный потенциал использования глюконата кальция и глюконата натрия в качестве ЭПР дозиметров и маркеров облучения. Ранее сообщалось о возможности создания ЭПР дозиметров на основе кристаллических углеводов (маннитол, сахароза,

глюкоза) [18, 19]. Попыток использования солей глюконовой кислоты в этих целях ранее не предпринималось, что обуславливает дополнительный интерес к исследованию данных соединений.

Степень разработанности темы исследования.

На момент написания диссертации неизвестно работ по применению гамма-облучения в отношении солей глюконовой кислоты. Ранее проведённые рентгеноструктурные, микроскопические и рентгеноэлектронные исследования механоактивированного глюконата кальция показали, что механохимическая обработка глюконата кальция приводит к переходу вещества из кристаллического состояния в аморфное, с формированием нанодисперсных структур [3-7]. Также установлено, что механоактивация КГ приводит к образованию радикалов [6]. Однако, структурные особенности глюконата кальция, подвергнутого механоактивации во многом остаются неизвестны.

Таким образом, **цель работы** – установление структуры гамма-облученных глюконатов кальция и натрия, и механоактивированного глюконата кальция с применением методов радиоспектроскопии.

Постановка задачи. Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

1. Разработка методики исследования молекулярной структуры солей глюконовой кислоты с использованием γ -облучения и ЭПР спектроскопии X-, Q- и W- диапазонов, а именно: определение дозы облучения и выяснение чувствительности спектроскопии ЭПР в X- Q- и W- диапазонах к структуре интересующих изменений;

2. Проведение расчетов методами квантовой химии с целью соотнесения наблюдаемых в эксперименте сигналов ЭПР с определенными парамагнитными центрами, образующимся в исследуемых соединениях в ходе гамма-облучения и механоактивации;

3. Исследование структурных особенностей механоактивированного глюконата кальция.

Научная новизна работы.

Предложена методика исследования, позволяющая определить параметры конформации солей глюконовой кислоты методами радиоспектроскопии.

Получены данные о конформации γ -облученного глюконата кальция и натрия.

Представлена модель конформационных изменений механоактивированного глюконата кальция и определена структура молекулы МАКГ.

Получена зависимость формы ЭПР спектра γ -облученного глюконата кальция от дозы облучения.

Практическая значимость работы.

Результаты исследований указывают на перспективность использования предложенного метода для конформационного анализа подобных соединений. Кроме того, полученные результаты могут лечь в основу новых методов модификации и производства фармакологических препаратов.

Исследование зависимости формы ЭПР спектра γ -облученных солей глюконовой кислоты от дозы облучения обуславливает потенциал использования данных соединений в качестве ЭПР дозиметров и маркеров облучения.

Исследование облученных солей глюконовой кислоты (глюконата кальция и глюконата натрия) также представляет интерес для такого направления фармацевтики как радиационная стерилизация лекарств.

Достоверность полученных результатов определяется использованием апробированных методик, повторяемостью измерений, сопоставимостью результатов с данными, полученными альтернативными методами и их соответствии результатам, опубликованным в научной литературе.

Методология и методы исследования:

В качестве основного экспериментального метода в диссертационной работе использовался метод спектроскопии ЭПР. Также представлены результаты исследований с помощью спектроскопии ЯМР и ИК. Исследуемые образцы подвергались механообработке и гамма-облучению. Моделирование экспериментально полученных спектров ЭПР проводилось с помощью программного модуля EasySpin MatLab. Расчеты методами квантовой химии были выполнены с использованием программного пакета ORCA.

Положения, выносимые на защиту:

1) Подход к исследованию молекулярной структуры солей глюконовой кислоты в условиях γ -облучения и механохимической обработки на основе совместного использования ЭПР спектроскопии X-, Q- и W- диапазонов, и методов квантовой химии.

2) Определение параметров тензоров сверхтонкой структуры и g-тензоров углерод-центрированных радикалов, локализованных на атомах C2, C3, C4, C5 глюконата натрия и C2, C3, C5 глюконата кальция.

3) Определение торсионных углов между p орбиталями атомов углерода, на которых локализованы неспаренные электроны и направлениями связей C-H ближайших β -протонов.

4) Модель молекулы механоактивированного глюконата кальция с учетом возможного перехода линейной конформации в изогнутую.

Личный вклад соискателя.

Автор принимала непосредственное участие в постановке задачи совместно с научным руководителем, планировании и проведении экспериментов, обработке и анализе экспериментальных данных, написании текста и оформлении полученных результатов, подготовке публикаций к печати и апробации результатов на научных конференциях.

Апробация работы.

Основные результаты работы были доложены на следующих научных школах и конференциях: «Молодежь и инновации Татарстана» (г. Казань,

2018); Международная конференция «Modern Development of Magnetic Resonance» (г. Казань, 2018, 2020-2022); Международная школа-конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Материалы и технологии XXI века» (г. Казань, 2018); «Magnetic Resonance — Current State and Future Perspectives» (г. Казань, 2019, 2024); International School-Conference Magnetic resonance and its applications Spinus (г. Санкт-Петербург, 2021-2023).

Публикации.

По теме диссертации опубликовано 16 печатных работ, из них 4 статьи в журналах, входящих в «Перечень журналов ВАК», и 12 тезисов докладов на научных конференциях.

Структура и объём диссертации.

Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, списка цитируемой литературы и двух приложений. Общий объём диссертации – 104 страниц, включая 46 рисунков и 9 таблиц. Библиографический список содержит 94 наименования.

Соответствие специальности 1.3.17 – химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества.

Диссертационная работа соответствует п.1 «Атомно-молекулярная структура химических частиц и веществ», п.2 «Пространственное и электронное строение, атомно-молекулярные параметры изолированных атомов, ионов, молекул», «структура и свойства кристаллов, аморфных тел жидкостей» паспорта специальности 1.3.17 – химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества.

Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Характеристика исследуемых объектов

1.1.1. Глюконат кальция

Из карбоксилатов сахара D-глюконат, очевидно, является наиболее значимым представителем: годовое производство этого органического соединения в мире оценивается примерно в 10^5 тонн. Причиной его массового производства является исключительно широкий спектр практического (медицинского, фармацевтического, промышленного и т. д.) применения. D-глюконат известен как исключительно популярный комплексообразователь. Соответственно, он стал предметом большого количества исследований по координационной химии. Его комплексообразующие свойства особенно примечательны в условиях pH от щелочного до гиперщелочного, где депротонирование одной или нескольких его спиртовых OH-групп обеспечивает благоприятную основу для образования очень стабильных хелатных комплексов с большим разнообразием катионов металлов.

Известный на сегодняшний день кальция глюконат моногидрат ($\text{CaGluc}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{CaO}_{14} \cdot \text{H}_2\text{O}$, кальция D-глюконат) и лекарственные композиции, содержащие активное вещество кальция глюконат, часто применяется для проведения лечения заболеваний, обусловленных нарушением обмена кальция в организме. Препарат восполняет дефицит ионов кальция, необходимого для осуществления процесса передачи нервных импульсов, сокращения скелетных и гладких мышц, деятельности миокарда, формирования костной ткани, свертывания крови [20, 21]. Кальций относится к фармакологической группе веществ, которые, наряду с витаминами и другими биологически активными веществами, являются обязательными элементами, обеспечивающими нормальное течение процессов жизнедеятельности организма человека. Недостаток кальция

приводит к развитию широкого спектра заболеваний, таких как остеопороз, гипокальциемия, пародонтоз, травматические и патологические переломы, дефекты костных тканей и т.д.

Удивительно, что, несмотря на популярность глюконата кальция, до недавнего времени не было полных данных о его кристаллической структуре. Это связано с тем, что рост монокристалла глюконата кальция весьма затруднен [21, 22]. Попытки вырастить монокристаллы традиционным методом медленного охлаждения насыщенных водных растворов (pH 7–8) глюконата кальция дают тонкие, хрупкие иглоподобные частицы, малопригодные для исследований. Лишь в 2018 году удалось вырастить монокристалл размерами 0,05 мм, 0,02 мм, 0,01 мм [24] с использованием метода диффузии паров висячей капли. Это дало возможность исследования глюконата кальция методом рентгеновской дифракции, в том числе с применением синхротронного излучения.

Таким образом, по данным РСА [24] установлено, что структура является ромбической с симметрией $P2_12_12_1$ и включает одномерные координационные полимеры (рис.1.1 – 1.3), параллельные оси а.

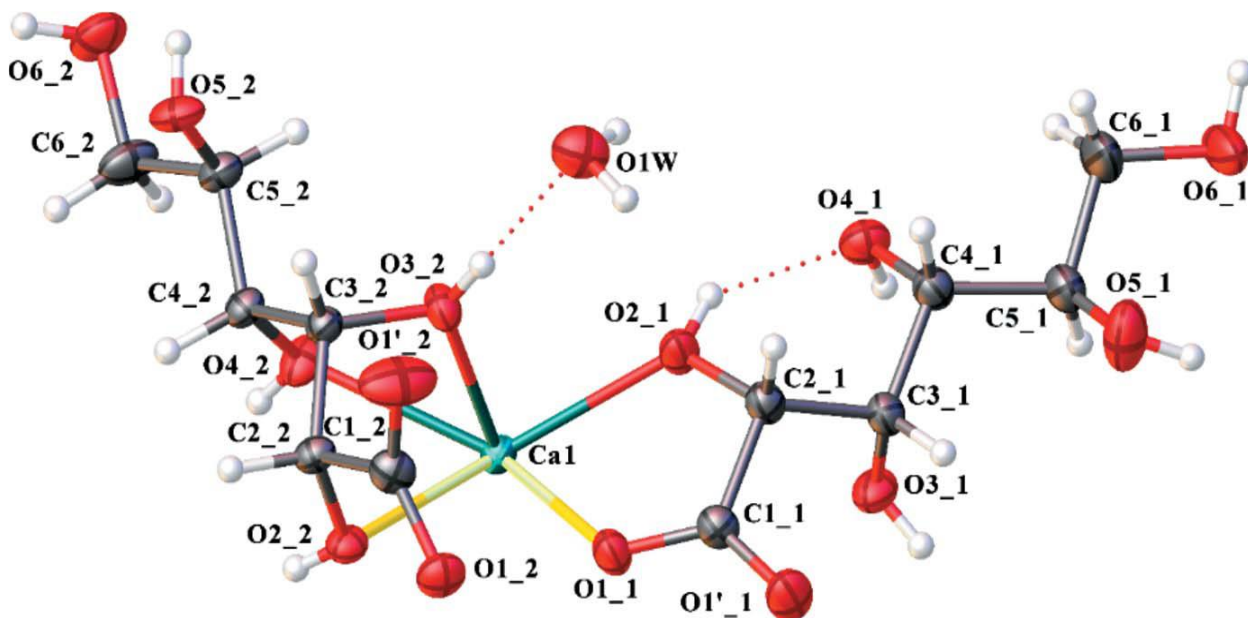


Рисунок 1.1 – Конфигурация молекулы CaGluc_2 (с молекулой H_2O) в составе монокристалла [24].

Входящие в глюконат кальция соседние атомы Ca связаны тремя кислородными мостиками. Такие мостики создаются карбоксилатными атомами кислорода O1 (O1_1; схема нумерации на рис. 1-1) одного из глюконатных лигандов (называемых здесь Gluc1) и кислород гидроксила O2 (O2_2) (Gluc2). Существует дополнительный оксомостик, который обеспечивается карбоксилатным кислородом O1 глюконата (O1_2 Gluc2).

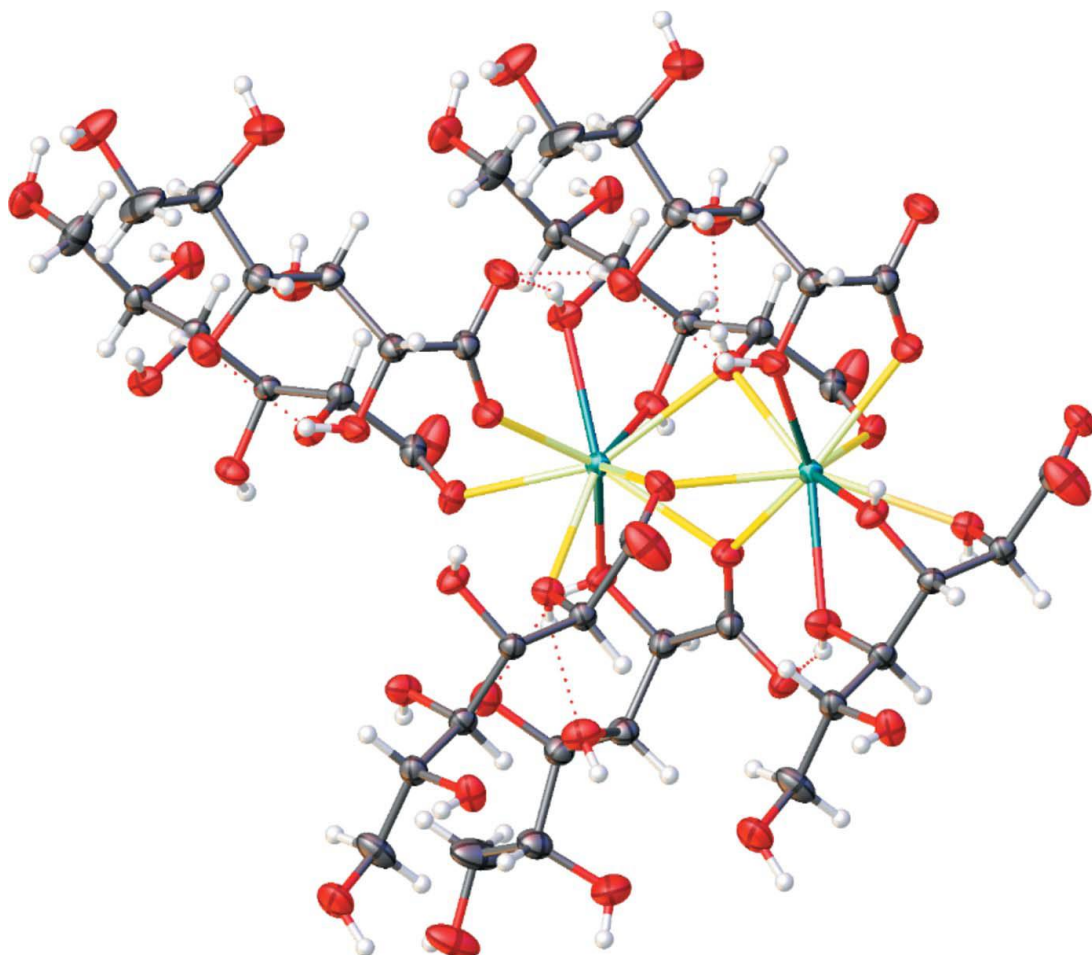


Рисунок 1.2 – Сегмент кристаллической структуры $\text{CaGluc}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ [24]. В первой координационной сфере атома кальция 9 атомов кислорода.

Расстояние между ионами металла в структуре глюконата кальция составляет 3,7312 (2) Å. Координационный полиэдр ионов кальция представляет собой искаженную триаугментированную треугольную призму, и, как следует из рис.1.3, прилегающие многогранники данной полиядерной цепи имеют общую треугольную грань.

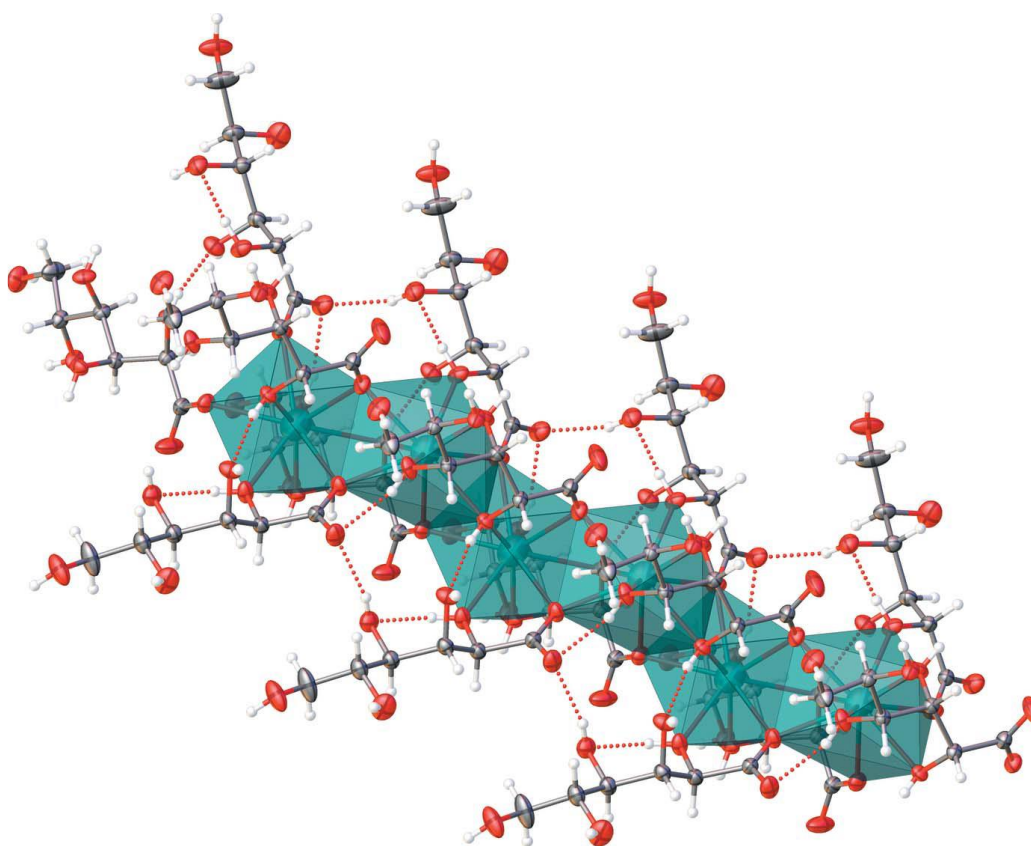


Рисунок 1.3 – Шестиядерный сегмент координационного полимера в кристаллической структуре $\text{CaGluc}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, демонстрирующий искаженные координационные многогранники в форме триангулярной призмы с общими гранями [24].

Ион кальция координирован с девятью атомами кислорода, пять из которых принадлежат двум глюконатным лигандам. Три донора асимметричных единиц представляют собой гидроксильные атомы O глюконата Gluc2 (O2_2, O3_2, O4_2), тогда как два других представляют собой кислород карбоксилата (O1_1) и гидроксильный кислород (O2_1) глюконата Gluc1.

Ни один из двух кристаллографически независимых гидроксидатомов O6 структуры глюконата кальция не участвует в связывании кальция. Вместо этого оба способствуют образованию водородных связей, которые связывают соседние полиядерные цепи и сольватную воду вместе. Один из атомов O6 (O6_1) выступает донором водорода при водородном связывании с молекулой воды в том же асимметричном звене и акцептором при

связывающем взаимодействии с O3 (O3_1) соседнего глюконата Gluc1. Второй атом глюконата O6 (O6_2) действует как донор водородной связи по отношению к карбоксилату O10 (O10_2) связанного по симметрии глюконата Gluc2 и как акцептор в водородной связи с близлежащей молекулой воды.

Из атомов кислорода глюконата Gluc1 все, кроме карбоксилатного кислорода O1, участвуют во взаимодействиях межцепочечных водородных связей, которые в совокупности образуют трехмерную сеть (рис. 1.4).

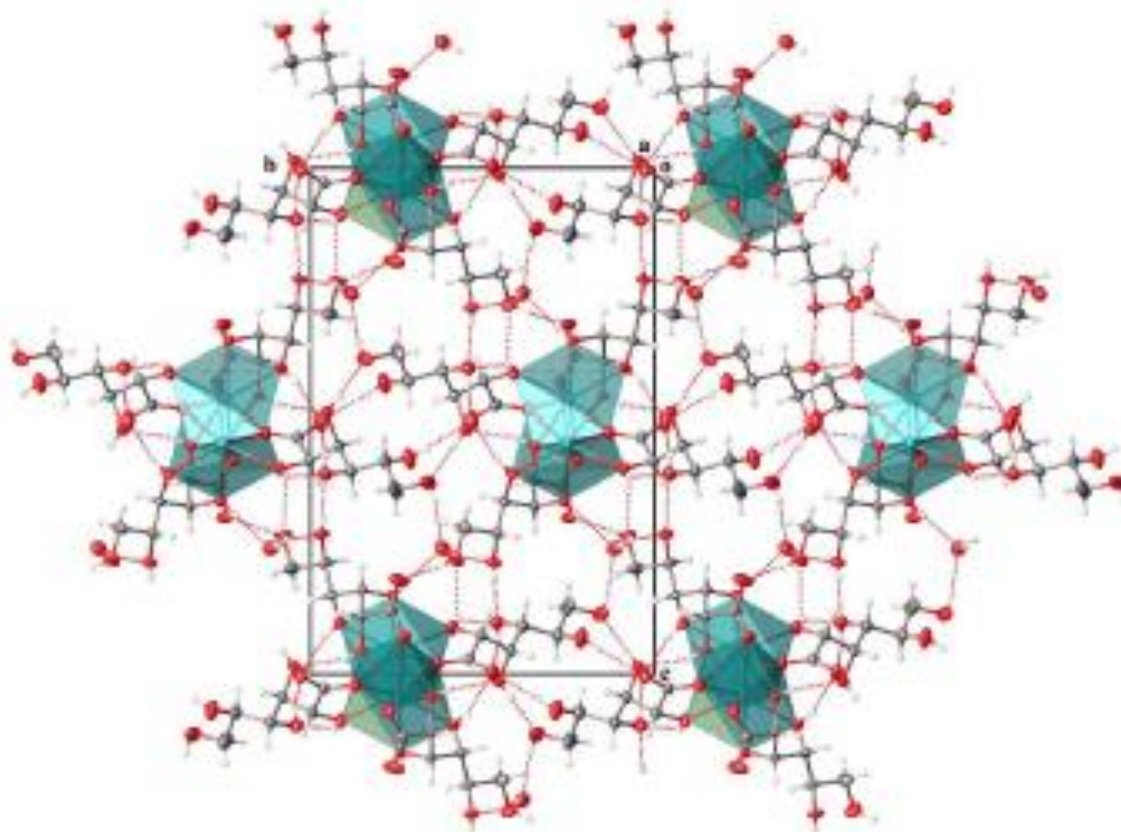


Рисунок 1.4 – Вид на кристаллическую структуру $\text{CaGluc}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ вдоль оси a (вдоль направления координационного полимера) [24].

1.1.2. Механоактивированный глюконат кальция

Благодаря возможности модификации молекулярных кристаллов без изменения химического состава, методы механохимии нашли широкое применение в фармацевтике [25-27]. Механохимический синтез позволяет получить препарат с уникальными физико-химическими свойствами и нередко с более высокой биологической активностью, что представляется

перспективным для разработки высокоэффективных лекарственных соединений. В частности, ввиду малой токсичности и высокой распространенности, представляют собой интерес координационные соединения углеводов и их производные с металлами. Одним из таких соединений является глюконат кальция. В результате механохимической обработки данного лекарственного препарата происходит значительное увеличение его терапевтической эффективности [28-30]. Исследования модифицированного КГ позволили установить ряд фактов, описанных ниже.

1) По данным просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ), установлено, что в результате механоактивации образуется нанодисперсная форма препарата, с размерами частиц ≤ 50 нм и агломератов ≤ 500 нм (рис. 1.5.) [31].

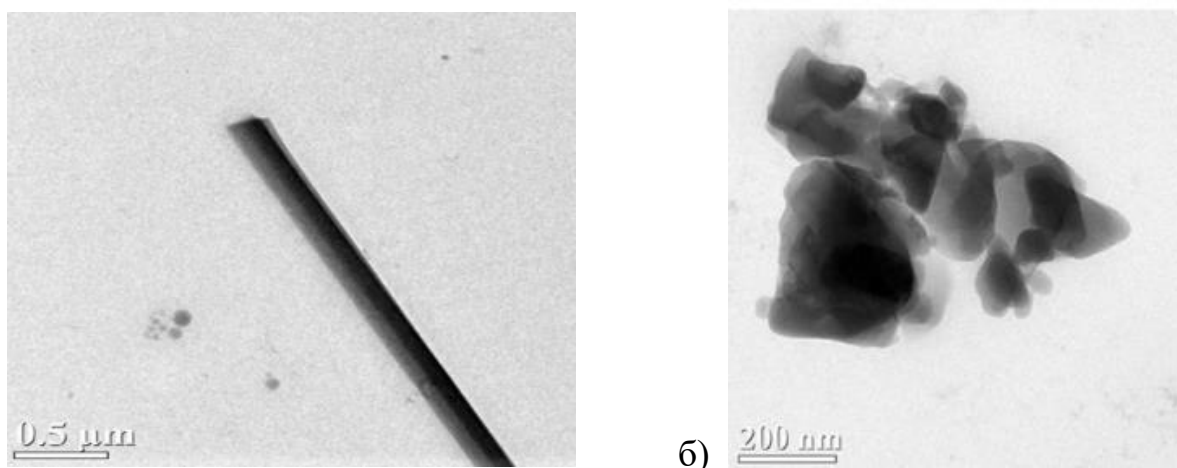


Рисунок 1.5 – ПЭМ изображение а) кристаллического глюконата кальция, б) механоактивированного глюконата кальция [31].

2) Механохимическая обработка глюконата кальция приводит к переходу вещества из кристаллического состояния к аморфному. На рис 1.6 в исходном КГ наблюдаются четкие дифракционные пики. Далее в процессе механоактивации происходит сглаживание пиков и снижение их интенсивности, растет аморфное гало. После 20 минутной обработки происходит полная аморфизация образца [32].

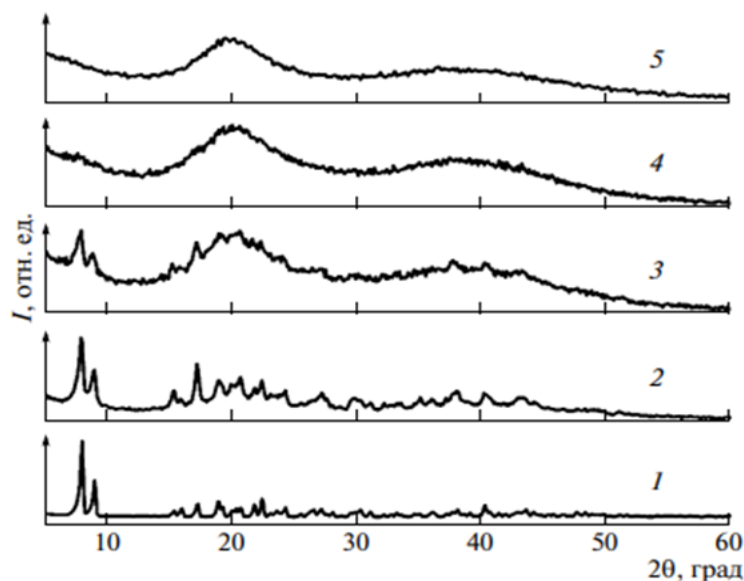


Рисунок 1.6 – Рентгеновские дифрактограммы глюконата кальция при различных временах механоактивации: 1 – 0, 2 – 4, 3 – 10, 4 – 20, 5 –нагрев до 120°C [32].

3) По данным исследований механоактивированного глюконата кальция методами масс-спектрометрии, новых продуктов обнаружено не было, при этом сохраняются примеси, наблюдаемые в исходном КГ [33].

4) Установлено, что механоактивация приводит к образованию радикалов [32]. На основании квантово-химических расчетов было выдвинуто предположение о локализации радикалов вблизи атомов Са [34].

1.1.3. Глюконат натрия

Глюконат натрия используется в текстильной промышленности для предотвращения осаждения железа и обесцвечивания полиэфирных и полиамидных тканей. Также хорошо подходит для удаления известковых отложений на металлических поверхностях. Он может использоваться в качестве эффективного пластификатора и ингибитора горечи в продуктах питания в виде пищевой добавки. Также вещество используют в качестве комплексообразователя и для усиления вкуса. Нельзя приуменьшить и значение данного соединения в фармацевтической отрасли. Натрия глюконат

используют в комбинации с другими веществами, в качестве плазмозамещающего и регулирующего водно-солевой баланс средства. При введении препаратов с добавлением данного соединения восполняется дефицит жидкости и электролитов, усиливается диурез, улучшается микроциркуляция крови. Такие составы также обладают противошоковым и дезинтоксикационным действием.

В комбинации с прочими лекарственными средствами применяется:

- при шоке, ожогах и обморожениях, острой потере крови;
- у пациентов с изотонической и гипотонической формой дегидратации;
- при метаболическом ацидозе, перитоните, электролитных нарушениях.

Кристаллическая система NaGluc моноклинная, пространственная группа P2(1), размеры элементарной ячейки $a = 0,56755(4)$ нм, $b = 0,87127(9)$ нм, $c = 0,85980(10)$ нм, $\beta = 104,5270(10)^\circ$, $\alpha = \gamma = 90^\circ$ и $Z = 2$. Монокристаллический рентгеноструктурный анализ показывает, что в каждой молекуле NaGluc, D-глюконат-аниона представляет собой шестичленную зигзагообразную углеродную цепь, имеющую почти плоскую форму (рис. 1.7) [35].

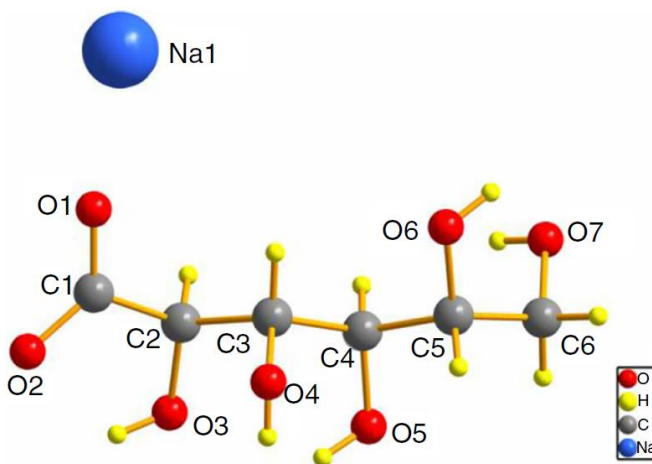


Рисунок 1.7 – Молекулярная структура глюконата натрия [35]

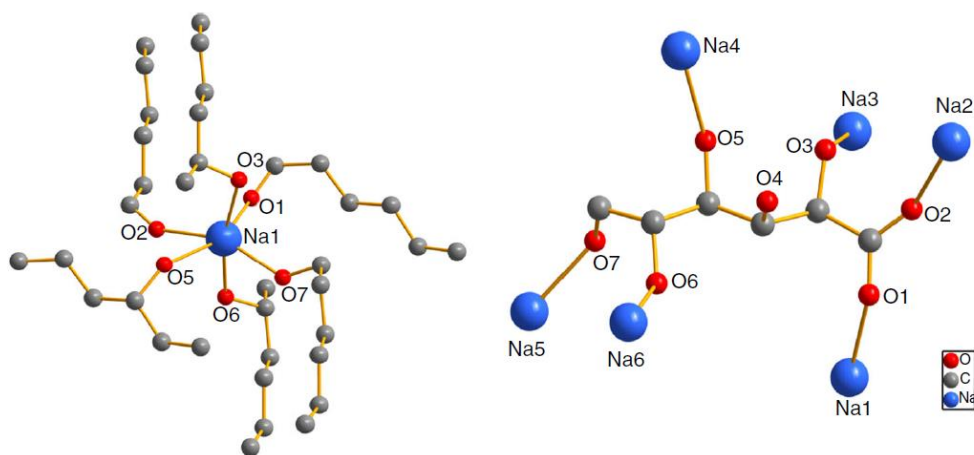


Рисунок 1.8 – Координационное окружение Na^+ и $\text{D-C}_6\text{H}_{11}\text{O}_7$

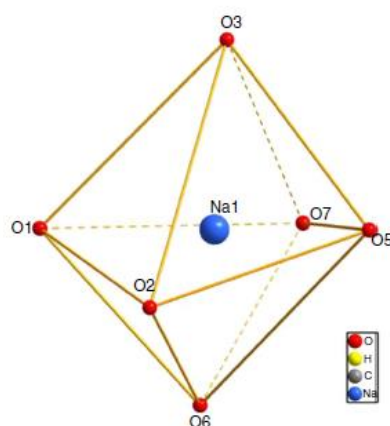


Рисунок – 1.9. Координационный полиэдр атома Na

Представление о связывании D-глюконатного лиганда с ионом щелочного металла Na и расположение ионов показаны на рис. 1.8. Каждый катион координируется с шестью анионами через гидроксильный кислород и карбоксилатный кислород, а каждый анион D-глюконата координируется с шестью катионами через гидроксильный кислород и карбоксилат кислорода. Каждый катион щелочного металла Na таким образом, координируется только с одним D-глюконат-анионом, а координационное соединение состоит из одного кристаллографически независимого катиона щелочного металла и одного D-глюконат-аниона. Каждый катион окружен оболочкой, состоящей из атомов кислорода. Каркасная диаграмма, иллюстрирующая координационный полиэдр в описанном здесь названном соединении, представлена на рис. 1.9.

1.2. Взаимодействие ионизирующего излучения с веществом.

Образование радикалов

При попадании рентгеновского излучения (E от ~ 10 эВ до ~ 1 МэВ и λ от 10^{-7} до 10^{-12} м) и гамма-излучения ($E > 300$ эВ и $\lambda < 2 \cdot 10^{-10}$ м) происходит взаимодействие фотона с веществом.

Существует четыре основных типа взаимодействий фотонов с веществом:

- Фотоэффект,
- Комптон – эффект,
- Образование электрон-позитронных пар,
- Когерентное рассеяние [36-39].

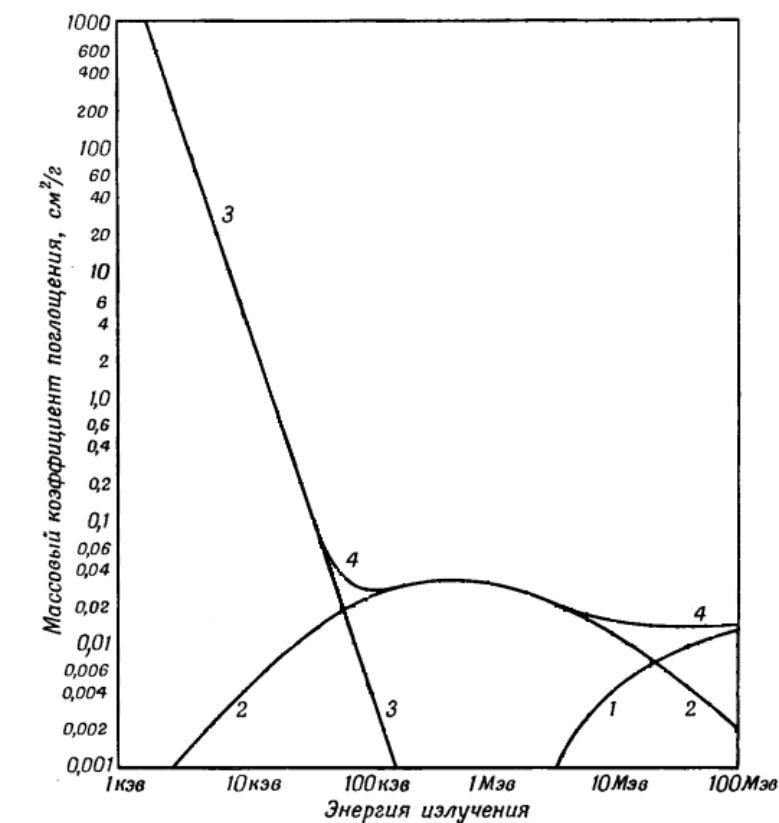


Рисунок 1.10 – Зависимость полного массового коэффициента ослабления от энергии излучения в воде: 1) коэффициент поглощения за счет образования электрон-позитронных пар, 2) коэффициент поглощения за счет комптоновского рассеяния, 3) коэффициент поглощения за счет фотоэлектрического эффекта, 4) полный коэффициент поглощения [40].

Каждый тип взаимодействия ионизирующего излучения с веществом обладает собственным коэффициентом ослабления, а в сумме они дают полный коэффициент ослабления (рис. 1.10):

$$\frac{\mu}{\rho} = \frac{\sigma_1}{\rho} + \frac{\tau}{\rho} + \frac{\sigma}{\rho} + \left(\frac{\pi}{\rho}\right) \quad (1.5)$$

где σ_1 , τ , σ и π – коэффициенты ослабления для когерентного рассеяния, фотоэффект, Комптон – эффект, эффект образования пар, соответственно [36-39].

В радиационной химии комптоновское рассеяние часто является основным эффектом воздействия рентгеновских и γ -лучей. Так, например, оно представляет единственный важный процесс, протекающий при облучении воды или других веществ с низким атомным номером γ -лучами кобальта-60 (средняя энергия гамма квантов 1.25МэВ) [40].

Комптоновское рассеяние – процесс взаимодействия фотона со свободным электроном атома. Термин «Свободный» означает, что энергия связи намного меньше, чем энергия падающего фотона.

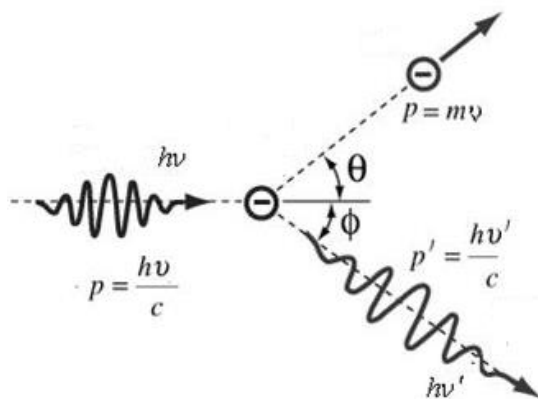


Рисунок 1.11 – Схема Комптон-эффекта [36].

Эффект Комптона можно рассмотреть как столкновение двух частиц: фотона с электроном. Опишем с помощью законов сохранения энергии и импульса:

$$E = h\nu \frac{\alpha(1-\cos\varphi)}{1+\alpha(1-\cos\varphi)} \quad (1.6)$$

$$h\nu' = h\nu_0 \frac{1}{1+\alpha(1-\cos\varphi)} \quad (1.7)$$

$$\cos\theta = (1 + \alpha) \operatorname{tg} \frac{\varphi}{2} \quad (1.8)$$

где $h\nu_0$, $h\nu'$ и E – энергии падающего фотона, рассеянного фотона и электрона соответственно, а $\alpha = \frac{h\nu_0}{m_0c^2}$, где m_0c^2 – энергия покоя электрона (0,511 МэВ). Если $h\nu_0$ выражено в МэВ, то $\alpha = \frac{h\nu_0}{0,511}$. После взаимодействия фотон рассеивается под углом φ , а электрон под углом θ , рисунок 1.11.

Для возникновения Комптон-эффекта энергия кванта должна быть велика по сравнению с энергией связи электрона [36].

1.2.1. Быстрые электроны

Благодаря комптоновскому рассеянию γ -излучение вызывает в облучаемой среде возникновение быстрых электронов. Эти электроны обладают значительной энергией, приближающейся к полной энергии фотонов, и, поскольку энергия, необходимая для химического изменения одной молекулы, составляет всего несколько электронвольт, быстрый электрон способен вызвать изменение химических свойств нескольких тысяч молекул.

Химическое изменение молекул, участвующих в первичном акте взаимодействия с фотоном играет, очевидно, сравнительно ничтожную роль, и, таким образом, химическое действие электромагнитных излучений высокой энергии почти полностью осуществляется быстрыми электронами. Поглощение фотонов не зависит от химической природы молекул облучаемого вещества и служит лишь причиной образования быстрых электронов. Химическое действие осуществляется именно этими быстрыми электронами, причем изменения происходят в первую очередь вдоль треков этих электронов.

Основным процессом, посредством которого быстрые электроны вызывают химические изменения в облучаемом веществе, является взаимодействие с внешними электронными оболочками атомов. При этом

электроны возбуждаются, переходя на более высокие энергетические уровни, или вырываются из атомов или молекул с образованием положительных ионов. Поскольку все электроны внешних оболочек атомов или молекул почти одинаково доступны активации быстрыми электронами, действие быстрых электронов на вещество не имеет специфического характера.

Некоторые из электронов, оторванных от атомов при воздействии быстрых электронов, сами обладают достаточно высокой энергией и могут взаимодействовать с атомами или молекулами. Если их энергия составляет значительную долю энергии быстрых электронов, то они носят название «вторичных электронов» и взаимодействуют с электронами внешних оболочек совершенно так же, как описано выше. Наибольшее число ионизаций в веществе вызывают медленные электроны. Медленные электроны обычно взаимодействуют с веществом путем лобовых столкновений, более эффективных в осуществлении ионизации. Таким образом, медленные электроны более эффективны при ионизации, чем быстрые. Энергия медленных электронов, в конце концов, падает до значения ниже потенциала ионизации среды, и такие электроны могут вызвать только возбуждение [40].

Все виды излучений высокой энергии взаимодействуют с веществом посредством образования заряженных частиц, обладающих высокой энергией. Эти частицы действуют по существу одинаково, вызывая ионизацию и возбуждение атомов и молекул вокруг треков. Однако, экспериментально установлено, что различные типы излучений часто вызывают разные конечные эффекты. Причина этого заключается в различной линейной плотности первичных актов вдоль треков ионизирующих частиц [4039, 40].

Линейная плотность первичных актов вдоль треков ионизирующих частиц характеризуется термином «линейная передача энергии», или ЛПЭ. Величина ЛПЭ пропорциональна квадрату заряда ионизирующей частицы и

снижается с ростом скорости последней. ЛПЭ – энергия, переданная среде (dE) на единицу длины трека (dl) ионизирующей частицы:

$$LET = \frac{dE}{dl} \quad (1.9)$$

Усреднённые значения ЛПЭ представлены в таблице 1.1.

Таблица 1.1. Средние значения линейной передачи энергии для различных типов излучения.

Излучения	ЛПЭ, эВ/нм
Электроны (1 МэВ), γ -кванты (1.25 МэВ)	0,2
Электроны (10 кэВ)	2,3
Рентгеновские лучи (200 кэВ)	2,8
Протоны (1 МэВ)	27
Протоны (10 МэВ)	4,7

По мере замедления частицы ЛПЭ возрастает, вплоть до самого конца трека. Примерная картина пространственного распределения положительных ионов, образовавшихся при действии излучения, показана на рисунке 1.12.

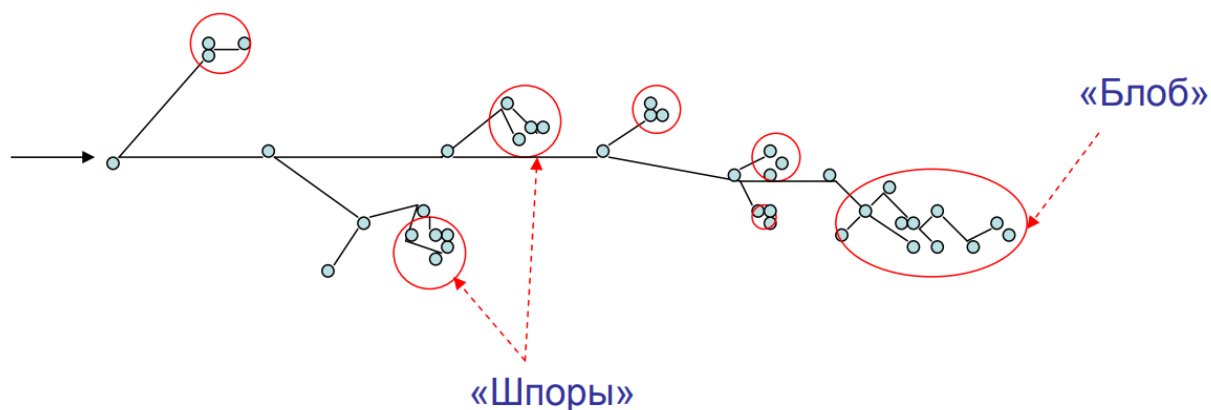


Рисунок 1.12 – Трек ускоренного электрона или гамма-кванта. «Шпоры» ($r = 1 - 5$ нм, $N = 2 - 5$ пар ионов) «Блобы» ($r = 5 - 20$ нм, $N = 5 - 50$) [40].

Одним из основных источников радикалов при радиолизе являются ионно-молекулярные реакции. Молекулярные катионы обладают большой реакционной способностью, что связано с наличием у них электрического заряда и неспаренного электрона. В облучаемых органических соединениях стабилизируются преимущественно радикалы, образующиеся при отрыве атома водорода от молекулы. Атомы водорода, отрывающиеся от молекул углеводородов, могут обладать некой кинетической энергией, что позволяет им покинуть трек и вступить в реакцию с молекулами углеводорода [41].

Атом водорода является простейшим и, вероятно, наиболее распространенным радиационно-индуцированным промежуточным продуктом, который может быть получен из многих видов различных молекул, как органических, так и неорганических. Атомы водорода, образующиеся в результате диссоциации возбужденных молекул, могут обладать значительной кинетической энергией для выхода из матричного каркаса даже в твердых телах. По этой причине образование атомов водорода часто преобладает над разрывом скелетной связи с образованием тяжелых радикальных фрагментов в твердой фазе. Результаты исследований радиолиза различных соединений в аргоновой матрице показывают, что около 99% атомов водорода оказываются захваченными в октаэдрических междоузлиях. Кроме того, известно, что движение такого водорода может быть термически активировано уже при 40К [41].

1.3. Превращение органических веществ под действием механических напряжений

Механическое воздействие на вещество может вызвать изменения его структуры, связанные, во-первых, с разрывом и образованием валентных связей и деформацией валентных углов, а во-вторых, с разрушением и возникновением более слабых межмолекулярных взаимодействий (разупорядочение, аморфизация кристаллической структуры, конформационные превращения, полиморфные переходы) [42-44].

При превращении органических веществ под действием механических напряжений протекают процессы двух типов. К первому типу относятся конформационные превращения, разупорядочение и аморфизация кристаллической структуры, обусловленные разрывом межмолекулярных связей. Ко второму типу относятся механохимические реакции, инициируемые деформацией валентных связей и углов (разрыв валентных связей, реакции окисления и гидролиза).

При механических воздействиях происходит разрыв внутри и межмолекулярных связей. В органических соединениях, высоко- и низкомолекулярных, имеются 2 типа связей: прочные межатомные (ковалентные) связи внутри молекул и относительно слабые (ван дер Ваальсовы, водородные) межмолекулярные. Под действием механических напряжений в первую очередь должны рваться более слабые межмолекулярные связи, что приводит к разупорядочению, разрыхлению структуры веществ. Кристаллические вещества под действием механических напряжений претерпевают аморфизацию и полиморфные переходы, могут наблюдаться конформационные превращения [42].

Продукты разрыва валентных связей - свободные радикалы – были зарегистрированы методом ЭПР при механической деструкции многих полимеров и некоторых низкомолекулярных веществ. Установлено, что

происходит разрыв ковалентных связей главных полимерных цепей и сшивок (или мостиков).

При механической обработке полимеров в мельнице скорость накопления радикалов (dR/dt) в начале процесса постоянна, а затем постепенно снижается и приближается к нулю, в результате чего концентрация макрорадикалов достигает предельного значения. Кинетика накопления радикалов описывается уравнением:

$$\frac{dR}{dt} = W_d - W_r \quad (1.10)$$

где W_d – скорость деструкции связей, равна $k_d[M]$; W_r – скорость гибели радикалов при их взаимодействии друг с другом, равная $k_r[R]^2$; $[M]$ – концентрация связей, которые могут быть разорваны; $[R]$ – концентрация макрорадикалов; k_d и k_r – эффективные константы скоростей реакций в твердой фазе.

В начале механического измельчения, когда $W_d \gg W_r$, $(dR/dt)_0 \approx W_d$, т.е. скорость деструкции при постоянной интенсивности подвода механической энергии зависит лишь от природы полимера.

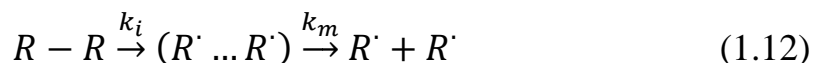
Скорость механической деструкции и, следовательно, образования свободных радикалов снижается при уменьшении молекулярной массы полимера. Величина предельной степени полимеризации n_{lim} , ниже которой механическая деструкция ковалентных связей прекращается, и происходит лишь разрыв слабых межмолекулярных связей, зависит от химического строения полимера, от соотношения прочностей валентных и межмолекулярных связей и ее можно приблизительно оценить из выражения:

$$U = n_{lim} U_{coh} \quad (1.11)$$

где U – прочность разрываемой валентной связи, U_{coh} – энергия когезии мономерного звена. Выражение (1.14) не учитывает структурной неоднородности реального полимерного материала и градиента напряжений.

Свободные радикалы образуются при действии высокого давления в сочетании с деформацией сдвига на некоторые низкомолекулярные органические соединения.

Механическая деструкция в твердой фазе может быть представлена как последовательность следующих стадий



а эффективная константа скорости деструкции k_d как

$$k_d = \frac{k_m k_i v}{k_m + k_i} \quad (1.13)$$

Первая стадия – реакция, характеризуемая константой скорости k_i и приводящая к образованию радикалов ($R \cdot \dots R \cdot$), находящихся в элементарном объёме v . Константа k_m характеризует процесс выхода радикалов из клетки. В предразрывном состоянии молекула растянута, а после разрыва связи происходит удаление радикалов друг от друга и их выход из элементарного объёма. Лимитирующей стадией реакции деструкции является разрыв связи, а не выход радикалов из клетки ($k_i \ll k_m$).

Возникшие при механической деструкции свободные радикалы вступают в обычные свободно радикальные реакции рекомбинации, распада, присоединения и замещения. Различают реакции, протекающие в поле механических напряжений и после окончания его действия. В первом случае наиболее вероятно участие в реакциях механоактивированных реагирующих частиц. Кроме того, механические воздействия вызывают пластическое деформирование материала и перемещение частиц. Во втором случае роль механических воздействий сводится главным образом к иницированию радикалов, а дальнейшие свободно радикальные процессы подчиняются присущим им закономерностям. Практически все механохимические свободно радикальные реакции, описанные к настоящему времени, относятся к реакциям в твердой фазе, и при их рассмотрении следует учитывать кинетические особенности протекания таких реакций [42].

1.4. ЭПР как метод изучения радикалов в твердотельных углеводородах

Образование и превращение радикалов, образующихся под действием излучения, исследуются при условиях их стабилизации, например, в твердой фазе или (и) при пониженной температуре. Чаще всего используется температура жидкого азота 77 К.

Спектры ЭПР облученных углеводов являются сложными многокомпонентными сигналами, трудно поддающимися непосредственной интерпретации. Это связано со сложным химическим строением и одновременным возникновением радикалов близкой структуры. Поэтому для расшифровки такого спектра необходимо выделить отдельные компоненты спектра, принадлежащие индивидуальным радикалам и установить строение этих радикалов.

Для анализа радикалов используют различные матрицы и агрегатные состояния вещества, приводящие к изменению условий стабилизации радикалов и времени их жизни; подавление сигналов фоточувствительных радикалов под действием света (фотоотжиг) и термочувствительных радикалов при повышении температуры (термоотжиг), а также уменьшение интенсивности сигналов отдельных радикалов за счет их насыщения при варьировании мощности СВЧ. Применение одного из этих приемов или их комбинации, а также, привлечение дополнительной информации, например, рентгеноструктурных данных, в ряде случаев дает возможность интерпретировать сложные спектры или из многокомпонентного спектра получить сигналы отдельных радикалов, строение которых может быть установлено.

Очень важную роль для получения максимальной информации из спектров ЭПР играет правильный выбор агрегатного состояния облучаемого образца и подходящей матрицы. Так, при исследовании первичных процессов прямого действия радиации, когда облучению подвергаются сухие

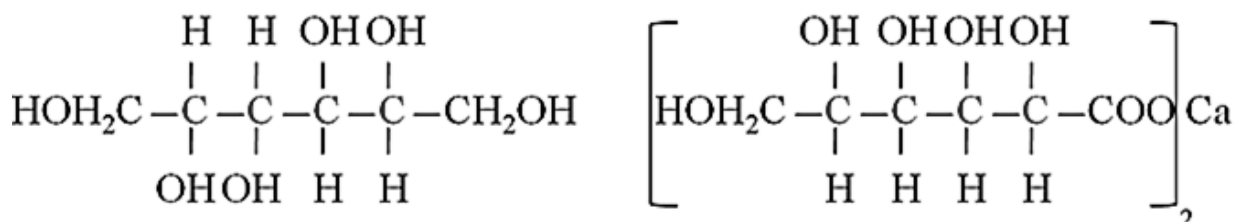
(чистые) вещества, наиболее разрешенные спектры получаются, как правило, при использовании монокристаллов. Однако, монокристаллы получены лишь для небольшого числа веществ, поэтому, исследуются обычно поликристаллические образцы, хотя степень разрешения СТС в большинстве случаев хуже, чем для монокристаллов.

Упростить вид спектра, избирательно идентифицировать радикалы определенной структуры, а также установить структуру некоторых радикалов способствует фотоотжиг, основанный на использовании оптических свойств радикалов, а именно их фоточувствительности при различных длинах волн.

Дополнительную информацию для расшифровки спектра ЭПР можно получить, анализируя сигнал ЭПР при различных температурах. При изменении температуры могут происходить изменение конформации радикала, а также его химические превращения.

В зависимости от своего строения свободные радикалы по-разному ведут себя при изменении величин уровня мощности СВЧ. Так, амплитуда сигнала ЭПР некоторых радикалов при увеличении мощности СВЧ сначала увеличивается, достигая максимума, а затем быстро уменьшается (эффект насыщения). Использование этого эффекта дает возможность подавить сигналы насыщающихся радикалов, улучшив при этом возможность расшифровки спектров тех радикалов, сигналы которых не изменяются при варьировании уровня мощности СВЧ. Этот прием может оказать существенную помощь при расшифровке многокомпонентных спектров ЭПР сложных веществ [8].

Среди углеводов, наиболее близкими по строению к солям глюконовой кислоты являются многоатомные спирты – полиолы (рис. 1.13).



Маннит (полиол)

Глюконат кальция

Рисунок 1.13 – Химическая структура маннита и глюконата кальция.

Исследование первичных стадий процесса радиолитического разложения полиолов было проведено с помощью метода ЭПР еще в 70-х годах академиком Кочетковым Н.К. с соавторами [8-11]. Было установлено, что при действии радиации основным процессом во многих углеводах является разрыв С-Н связей, приводящий к возникновению радикалов, свободная валентность в которых локализована на атомах углерода. В различных полиолах, облученных гамма-квантами при 77К, наблюдались четыре типа сигналов ЭПР (рис.1.14, дублет триплетов, дублет дублетов, триплет и дублет), обусловленных сверхтонким взаимодействием благодаря наличию протонов в ближайшем окружении.

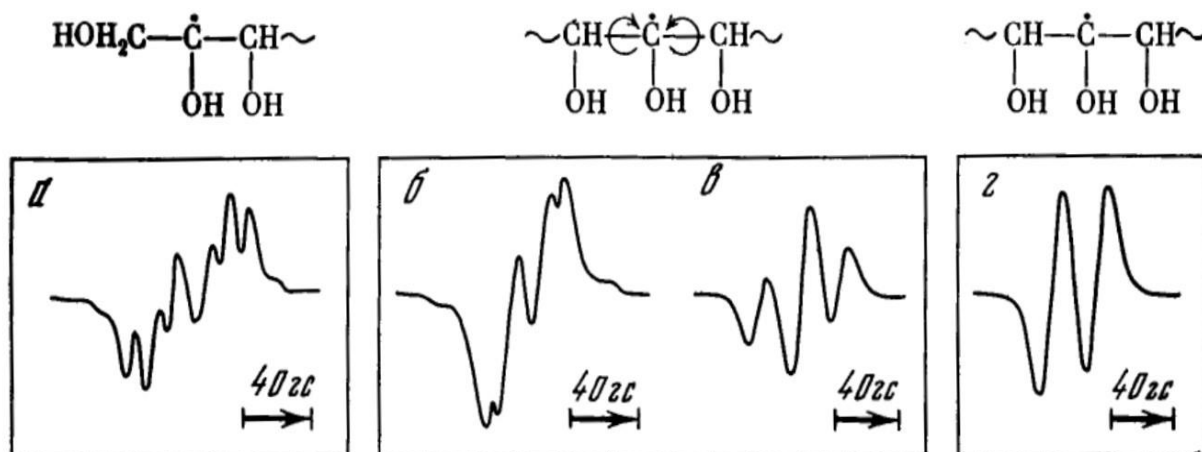


Рисунок 1.14 – Спектры ЭПР и структура первичных радикалов γ -облученных полиолов при 77° К. а) дублет триплетов, б) дублет дублетов, в) триплет, г) дублет [8].

В спектрах не было обнаружено расщепления, характерного для углеводных радикалов с α -протонами. Поэтому наблюдаемые сигналы были

отнесены к радикалам, образовавшимся в результате отрыва атома водорода от вторичных атомов углерода. Радикал с дублет-триплетной СТВ связан с атомом углерода, локализованным рядом с концевым атомом углерода. Остальные три типа сигналов приписываются радикалам одинакового строения, в которых неспаренный электрон локализован на центральных атомах углерода (С3 или С4). Дублетная СТС приписывается полиолам с плоской углеродной цепью, а триплетная и дублет-дублетная – полиолам со скрученной конформацией. При нагреве до 300 К происходит превращение дублетов и дублета дублетов в триплет, что связывается со скручиванием углеродного скелета связи С3-С4 при повышении температуры. Таким образом, структура сигнала в ЭПР спектрах полиолов непосредственно обусловлена конформацией молекулы.

Одной из современных работ в этой области является работа [18] по изучению структуры и конформации радикалов, полученных рентгеновским облучением трех полиморфных форм D-маннита, с использованием ЭПР-спектроскопии. Во всех случаях первичные виды радикалов были идентифицированы как парамагнитные центры, возникающие в результате абсорбции водорода из положений 3 или 4 молекулы маннита. Было обнаружено, что молекулярная упаковка в кристаллах различных полиморфных модификаций оказывает заметное влияние на конформации радикалов, наблюдаемых после облучения при комнатной температуре, и дегидратации первичных радикалов, возникающих при 400 К. Радикалы, захваченные устойчивыми модификациями (β - и δ -формы), оказались очень стабильными при комнатной температуре. Относительно высокие радикальные выходы и стабильность радикалов свидетельствуют о том, что D-маннит можно использовать в качестве дозиметра ЭПР или маркера облучения. В частности, было показано, что облучение некоторых медицинских композиций, содержащих маннит, до типичных доз стерилизации (10-25 кГр), привело к накоплению стабильных радикалов,

легко обнаруживаемых с помощью ЭПР-спектроскопии. Эти радикалы могут служить «маркерами» облучения соответствующих образцов [18].

Существует несколько работ по изучению глюконатов парамагнитных металлов методом ЭПР [45, 46]. В синтезированных глюконатах кальция, натрия, магния и цинка заметного сигнала ЭПР не наблюдалось. Спектр ЭПР от глюконата марганца состоит из синглета с шириной линии около 700 Э, что авторы связывают с неразрешенной сверхтонкой структурой. Отсутствие сигнала ЭПР от глюконата кобальта объясняется тем, что ион кобальта находится в октаэдрическом окружении с большим значением параметров тонкой структуры и обладает быстрой спин-решеточной релаксацией.

Работ по конформационному анализу облученных гамма квантами солей глюконовой кислоты в твердом состоянии с использованием ЭПР-спектроскопии до настоящего времени в печати не найдено. В то же время в результате исследований механоактивированного глюконата кальция было выдвинуто предположение, что повышение терапевтической эффективности препарата связано с изменением стереохимического строения молекулы глюконата кальция, причем без образования новых химических соединений [33].

1.4.1. Анализ g-тензора

В работе [41] показано, что радикалы, локализованные на атомах С- и О- легко отличить друг от друга по значениям их g-тензоров. В качестве типичного примера g-тензора для С-центрированного радикала без спиновой делокализации на кислороде можно взять радикал малоновой кислоты, для которого значения $g_x=2,0026$, $g_y=2,0033$ и $g_z=2,0035$ были получены методом ЭПР [47]. Наименьшее главное значение, почти совпадающее со значением свободного электрона g_e , указывает направление орбитали неспаренного электрона. Для остальных главных величин ожидаются и наблюдаются лишь небольшие положительные сдвиги $\Delta g=0,0010-0,0020$ [48]. Для чистых

алкильных и гидроксилкильных радикалов с высокой спиновой плотностью в С- центре радикала ожидаются аналогичные g-тензоры.

С другой стороны, алкоксильные радикалы, полученные отщеплением водорода от ОН-группы сахара, имеют свою спиновую плотность, в основном локализованную на атоме кислорода. Они демонстрируют более выраженную анизотропию g-фактора в основном из-за гораздо большей константы спин-орбитального взаимодействия кислорода по сравнению с углеродом [49]. Их легко распознать в спектрах ЭПР, зависящих от угла, поскольку их переходы сильно перемещаются с ориентацией магнитного поля. Для алкоксирадикалов сообщалось о $1,970 < g_x < 2,0023$, $2,005 < g_y < 2,009$ и $2,021 < g_z < 2,11$ [49–53]. Оять же, наименьшее значение g-фактора (ближайшее к g_e) указывает направление орбитали неспаренного электрона, а наибольшее значение g-фактора находится вдоль связи С–О.

Сообщалось, что для С-центрированных радикалов наблюдаются значительные отличия g-фактора (и анизотропию) от чисто спинового значения, чем для простых алкильных и гидроксилкильных радикалов. Отклонение g-фактора от спинового значения объясняется делокализацией спина на кислороде [41].

1.4.2. Анализ тензоров СТВ

В данном разделе рассматривается полуэмпирическая теория о возможности получения информации из тензоров сверхтонкого взаимодействия в углеродцентрированных радикалах с плоской структурой связей [41]. На рисунке 1.15 показан гипотетический фрагмент гидроксилкильного радикала, который может быть получен после облучения углевода, в котором определена номенклатура протонных соединений. Протон, связанный непосредственно с атомом углерода, несущим основную спиновую плотность (C_α), называется α -протоном,

протон, связанный с соседним с ним атомом углерода (C_β), называется β -протоном и т.д.

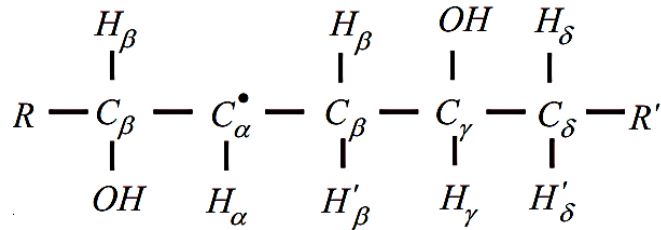


Рисунок 1.15 – Чистый гидроксильный радикал, который можно ожидать в облученных углеводах [54].

Тензоры СТВ α -протонов характеризуются отрицательной изотропной величиной A_{iso}^α (из-за спиновой поляризации) и сильной анизотропией с характерным ромбическим рисунком: [54]

$$\vec{A}_{aniso}^\alpha = \begin{pmatrix} -a^\alpha & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & +a^\alpha \end{pmatrix} \quad (1.14)$$

где положительное главное значение находится вдоль оси связи $H_\alpha - C_\alpha$, а главное значение 0 указывает направление, параллельное орбитали $2p_z$ неспаренного электрона углерода. Было обнаружено, что как A_{iso}^α , так и a^α пропорциональны спиновой плотности ρ^π атома C_α ,

$$A_{iso}^\alpha = \rho^\pi Q_{iso}^\alpha \quad a^\alpha = \rho^\pi Q_{aniso}^\alpha \quad (1.15)$$

Эти зависимости известны как соотношения МакКоннелла [55] и Горди-Бернхарда [56] соответственно. Обычные значения $Q_{iso}^\alpha = 72$ МГц, $Q_{aniso}^\alpha = 38,7$ МГц, а измерив СТВ α -протона, можно оценить спиновую плотность на C_α .

Изотропная часть СТВ β -протона вследствие гиперсопряжения описывается соотношением Хеллера-МакКоннелла [57]

$$A_{iso}^\beta = \rho^\pi (B_0 + B_2 \cos^2 \theta) \quad (1.16)$$

где θ — двугранный угол между p_z осью орбитали неспаренного электрона и связью $C_\beta - H_\beta$. B_0 и B_2 — эмпирические константы. Часто полагают, что B_0 близка к 0 МГц, а для алкильных, гидроксильных и

алкоксирадикалов обычно принимают типичные значения $B_2 \sim 126$, ~ 73 и ~ 336 МГц [58, 59]. На основе оценок спиновой плотности соотношение (1.16) регулярно используется для оценки значений двугранных углов β -протонов. Изотропные СТВ для протонов в позициях γ , δ и т. д. в целом значительно меньше ожидаемых для β -протонов. Для всех этих протонных связей в анизотропном СТВ преобладает вклад точечного диполя, и поэтому оно по существу является аксиальным вокруг оси Н-С $_{\alpha}$ [60].

$$\vec{A}_{aniso}^{\beta,\gamma,\delta} = \begin{pmatrix} -b & 0 & 0 \\ 0 & +b & 0 \\ 0 & 0 & +2b \end{pmatrix} \quad (1.17)$$

где, в единицах частоты (МГц)

$$b = \frac{\mu_0}{4\pi h} \frac{(g_{e\mu B})(g_{N\mu N})}{R^3} \rho^{\pi} \quad (1.18)$$

где μ_0 — вакуумная проницаемость, R — расстояние между углеродом С $_{\alpha}$ и взаимодействующим Н. Для β -протонов отклонение от этих осевых формул может быть значительным и часто обнаруживается заметная ромбичность (главные значения в уравнении (1.17) равны $-b-d$, $-b+d$ и $2b$). Для более удаленных протонов, связанных с атомом углерода, аппроксимация точечного диполя работает достаточно хорошо и позволяет оценить расстояния и направления Н – С $_{\alpha}$ [61]. Сравнение этих расстояний и направлений со значениями для неповрежденной молекулы в неповрежденной решетке, а также числа наблюдаемых взаимодействий α - и β -типа обычно сильно ограничивает число возможных мест расположения радикального центра. Интересно также отметить, что тензоры СТВ гидроксильных β -протонов обычно имеют большую анизотропную и меньшую изотропную часть, чем тензоры С-связанных протонов в аналогичном положении [62]. Исследования на кристаллах, выращенных из растворов D $_2$ O, в которых обменные протоны, связанные с кислородом, заменены дейтерием, являются, конечно, наиболее эффективным способом отличить взаимодействия гидроксила от взаимодействий протонов, связанных с углеродом.

Изотопное замещение ^{13}C также является очень мощным, но дорогостоящим инструментом идентификации центра спиновой плотности радикалов. Выращивание монокристаллов со 100%-ным обогащением ^{13}C для угловозависимых исследований ЭПР и ENDOR вряд ли возможно, но для систем, в которых радикалы тщательно охарактеризованы на кристаллах с естественным изотопным распределением углерода, ЭПР измерения (по возможности дополненный анализа спектра порошка ENDOR) могут дать однозначную информацию [63, 64].

Глава 2. ТЕХНИКА И МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

2.1. Объекты исследования

В качестве исходного материала были выбраны образцы моногидрата глюконата кальция и глюконата натрия производства фирмы Sigma Aldrich высокой степени очистки (>98%).

Глюконат кальция ($C_{12}H_{22}CaO_{14} \cdot H_2O$, рис.2.1) представляет собой поликристаллический порошок белого цвета без запаха и вкуса. Кальция глюконат растворяется в холодной воде достаточно медленно, в кипящей — быстро. Практически нерастворим в этаноле и эфире. Молекулярная масса 430,373 г/моль. Содержание кальция в КГ — 8,9 % (что меньше, чем в большинстве применяемых в медицине других солей кальция) [68, 69].

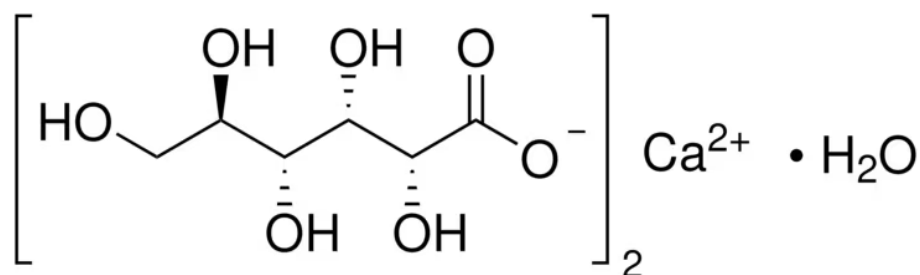


Рисунок 2.1 – Химическая структура моногидрата глюконата кальция [70].

Исследовались 4 группы образцов КГ:

- 1) исходные,
- 2) подвергнутые механоактивации,
- 3) облученные гамма-квантами,
- 4) последовательно подвергнутые механоактивации и облучению.

Для сравнения также были проведены серии экспериментов с использованием спрессованного в виде таблетки препарата глюконата кальция Тюменского фармацевтического завода.

В отличие от образцов глюконата кальция производства Sigma Aldrich, спрессованные образцы содержат ряд эксципиентов [71] (вспомогательных

веществ), добавляемых с целью стабилизации препарата, повышения механической прочности (уплотнения), улучшения смачиваемости и растворимости, противодействия адгезии, облегчения перорального приема и т.д. В данном случае, к таким веществам относятся: крахмал $(C_6H_{10}O_5)_n$, тальк $Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$, кальция стеарат $(C_{36}H_{70}O_4Ca)$. При этом общая доля вспомогательных веществ, используемых для улучшения физико-химических свойств, не превышает 10% массы препарата.

Помимо кальциевой соли глюконовой кислоты и ее механоактивированной формы, был исследован глюконат натрия $(C_6H_{11}NaO_7)$, рис. 2.2.). Глюконат натрия образует бесцветные кристаллы. Растворяется в воде и этаноле. Молярная масса 218,14 г/моль.

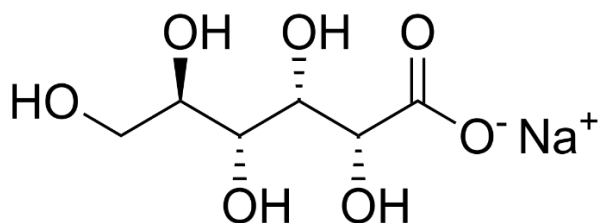


Рисунок 2.2 – Химическая структура глюконата натрия [72].

Глюконат натрия был исследован как в исходном состоянии, так и в облученном γ -квантами.

2.2. Используемая экспериментальная техника

2.2.1. Техника и методика облучения

Так как исходный КГ не имеет ЭПР сигнала, то для получения информации о системе, в нее вносились искусственные дефекты, имеющие парамагнитные свойства. С этой целью в нашей работе использовалось ионизирующее излучение.

Для облучения использовался гамма-терапевтический аппарата Рокус-М медицинского назначения. Его активным элементом является радионуклидный источник ^{60}Co , схема распада представлена на рисунке 2.3. Период полураспада составляет более пяти лет. Дочерний нуклид является стабильным. Средняя энергия гамма квантов ^{60}Co – 1,25 МэВ. Данный аппарат был адаптирован для облучения исследуемых образцов, в частности было подобрано расстояние от объекта до источника, время облучения, определена мощность дозы, подобран оптимальный диапазон доз.

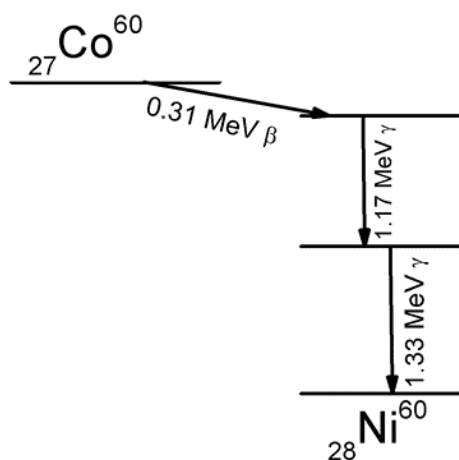


Рисунок 2.3 – Схема распада ^{60}Co .

Терапевтический гамма-аппарат Рокус-М состоит из штатива (1), укрепленной на нем радиационной головки (гантри аппарата (2)) с источником ионизирующего излучения в защитном свинцовом кожухе, стола для размещения пациентов (3), а также каретки для блоков (4), как показано на рисунке 2.4.

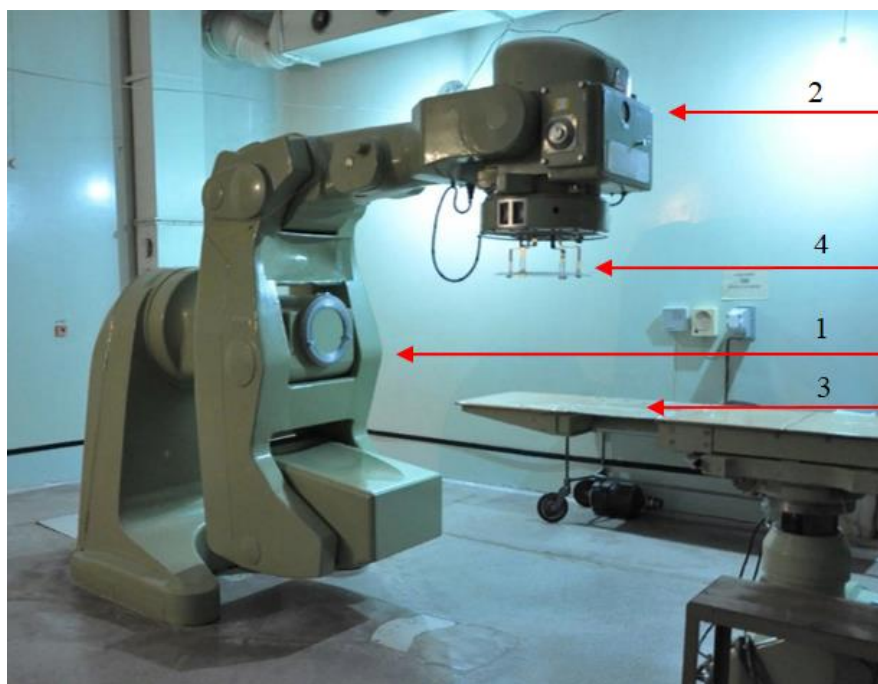


Рисунок 2.4 – Гамма-терапевтический аппарат Рокус-М: 1) штатив, 2) гантри, 3) стол для пациентов, 4) каретка для блоков.

Для формирования контура мишени используются свинцовые блоки, располагающиеся на подставке – каретке (рис.2.4. (4)), на которой располагались исходные образцы глюконата кальция. Для равномерного распределения поглощенной дозы образцы насыпались тонким слоем (5мм) в специальные кюветы.

Определение поглощенной дозы осуществлялось при помощи клинического дозиметра Dose1 (рис. 2.5, а) совместно с ионизационной камерой фермеровского типа FC65-G IBA (рис. 2.5, б) [73]. Ионизационная камера подсоединялась свободным концом к коаксиальному кабелю, который в свою очередь подключался к электрометру через разъем находящийся на задней панели прибора. Коаксиальный кабель в данном случае выполнял функцию удлинителя. Ионизационная камера располагалась в каньоне аппарата, в центре поля облучения, на специализированной каретке. Расстояние от источника до ионизационной камеры составило 50см, размер поля облучения 20x20 см. Перед началом измерений на электрометре устанавливались поправки на температуру и давление. На ионизационную

камеру подавалось высокое напряжение -300В (базовое значение для FC-65G). Производилось измерение величины фонового излучения для последующей корректировки. Измерение поглощенной дозы электрометром осуществлялось одновременно с запуском процесса облучения. Время измерения составило 2 минуты. Мощность дозы рассчитывалась на основе полученных значений как отношение поглощенной дозы ко времени измерения. Мощность дозы вычислялась при каждом новом облучении, и составила в среднем 2 Гр/мин.

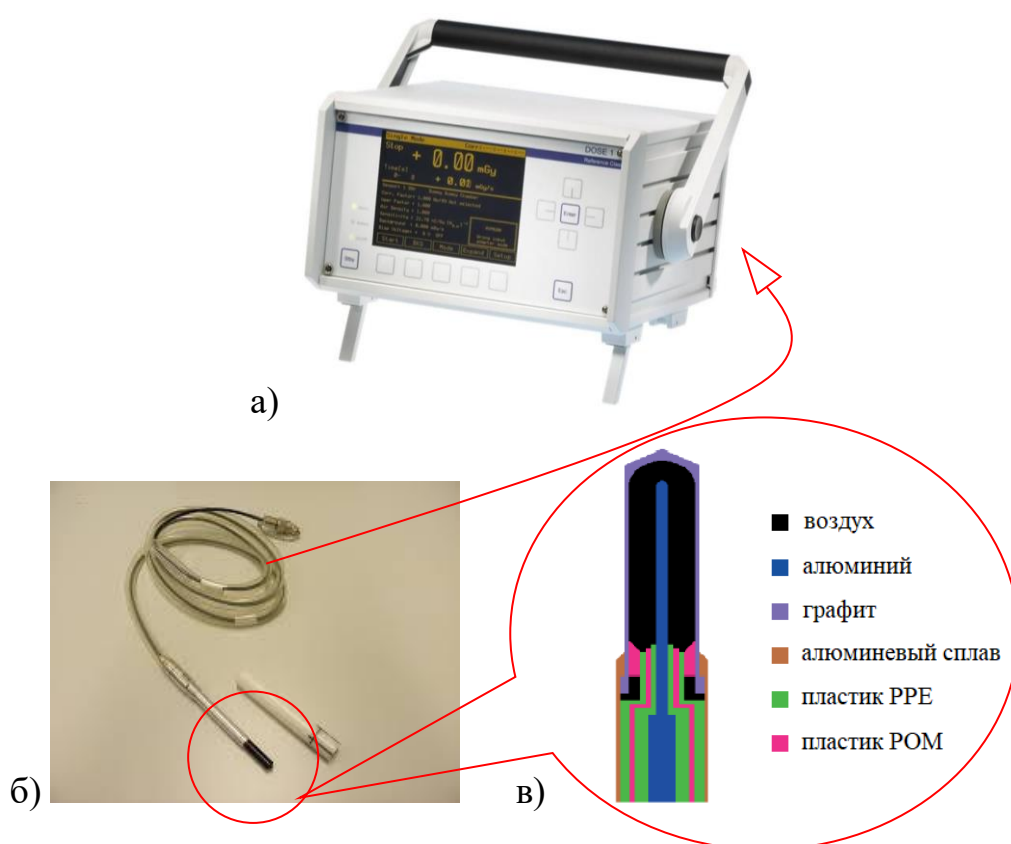


Рисунок 2.5. – а) Электрометр Dose1 [74], б) ионизационная камера FC-65G ИВА типа Фармер [73], в) ионизационная камера FC-65G в поперечном сечении [75].

Выбор доз облучения был обусловлен, с одной стороны, необходимостью получения достаточно сильного сигнала ЭПР, с другой – отсутствием заметной деструкции материала под действием радиации. Итоговые дозы облучения составили 400, 600, 800 и 1000 Гр. Описанная выше методика облучения апробирована в работе [A1].

2.2.2. Механоактивация

Механоактивация образцов производилась на планетарно-шаровой мельнице марки Pulverizette7 (рис. 2.6) в Ижевском Физико-техническом институте Удмуртского ФИЦ УрО РАН. Для исследований были выбраны образцы чистого лабораторного глюконата кальция производства Sigma Aldrich, а также спрессованного в виде таблетки глюконата кальция Тюменского фармацевтического завода.

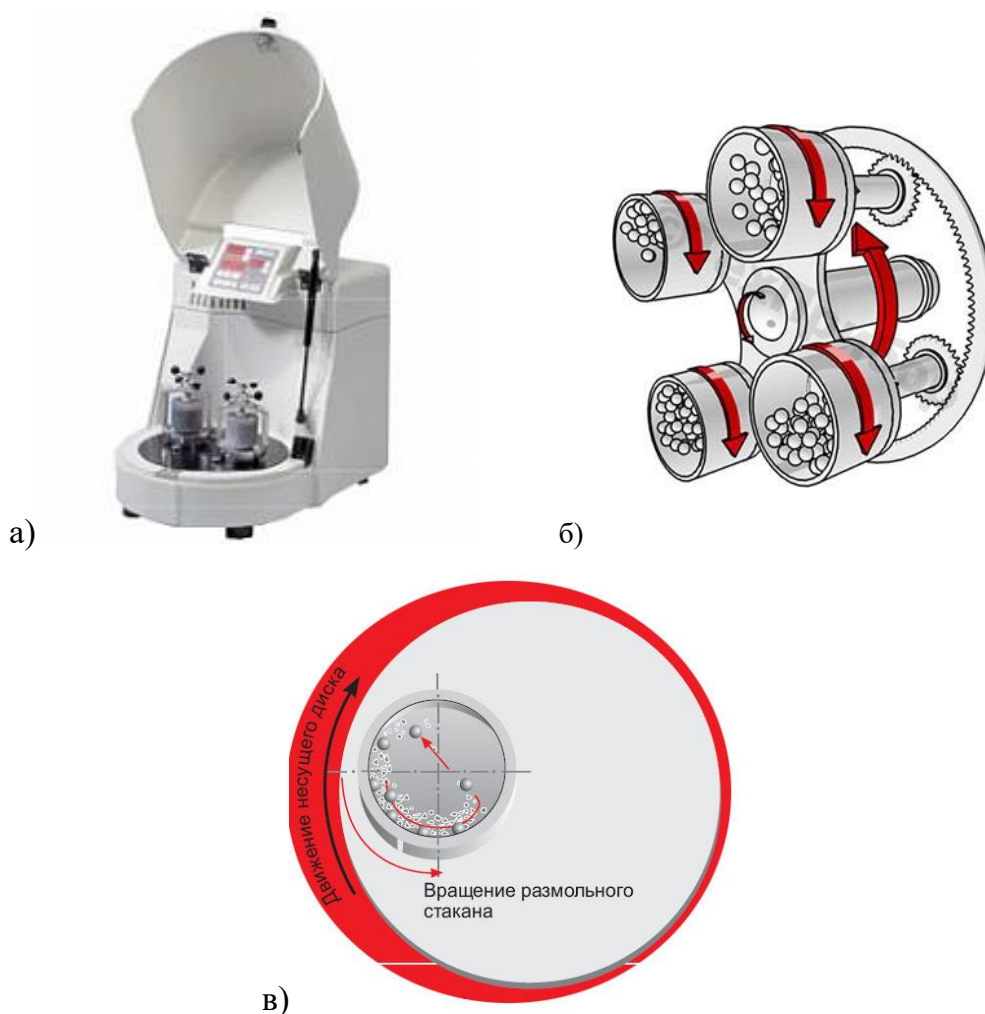


Рисунок 2.6 – Планетарно-шаровая мельница Pulverizette-7: а) общий вид установки, б) направление движения размольных стаканов и несущего диска, в) направление движения в плоскости [76].

В отличие от шаровых лабораторных мельниц, в которых механоактивация происходит вследствие истирания материала за счет

движения шаров вдоль стенки, планетарно-шаровые мельницы имеют несколько иной принцип измельчения. Основным механизмом механоактивации в данной мельнице заключается не столько за счет истирания образца, сколько вследствие высокоэнергетичных ударов размольных шаров. Для получения такого эффекта используется 2 вида вращения: 1) стаканы вращаются вокруг своей оси, 2) размольные стаканы с измельчаемым материалом и шарами находятся на вращающемся в противоположную сторону планетарном диске. Начиная с определенной скорости, центробежная сила приводит к отделению измельчаемого материала и шаров от внутренней стенки размольного стакана. Размольные шары пересекают стакан по диагонали с максимальной скоростью и измельчают материал как дроблением о противоположную стенку стакана, так и столкновением шаров друг с другом [76].

Время механоактивации составило 120 минут, поскольку такая обработка приводит к максимально интенсивному сигналу ЭПР.

2.2.3. Методика исследований методами радиоспектроскопии

После облучения образцы помещали в кварцевые ампулы с внешним диаметром 5 мм (для X-диапазона), 2 мм (для Q-диапазона), 0.5 мм (для W-диапазона). Спектры ЭПР регистрировались при комнатной температуре на спектрометрах Bruker EMX Plus в X-диапазоне (9,3 ГГц), Bruker Eleksys E580 в Q-диапазоне (34 ГГц) при различных мощностях в стационарном режиме. Спектры в W-диапазоне регистрировались при температуре 90К на спектрометре Eleksys E680 (94ГГц) в импульсном режиме.

Использовались следующие параметры регистрации спектров ЭПР в X-диапазоне: мощность 0,1 мВт; амплитуда модуляции 0,5 Гс; частота модуляции 100 кГц. Используемая в работе микроволновая мощность 0,1 мВт значительно ниже эффектов насыщения.

Спектры ЯМР были зарегистрированы на спектрометре Avance 400 фирмы Bruker при комнатной температуре Волковым М.Ю. Данный спектрометр позволяет проводить ЯМР исследования большого числа элементов ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{29}Si , ^{31}P , ^{77}Se , ^{195}Pt и др. в широком диапазоне температур. Рабочая частота спектрометра варьируется в диапазоне от 18 МГц (^{109}Ag) до 400 МГц (^1H). Для ядер ^{13}C резонанс наблюдается на частоте 100 МГц. Принципиальная схема установки представлена на рисунке 2.8. В установке используются сверхпроводящие магниты с неизменным полем 9,395 Тл. Сверхпроводящий магнит откачивается до высокого вакуума, охлаждается до температуры 4 К и заряжается электрическим током. Спектр формируется в результате Фурье-преобразования интерферограммы (FIDa).

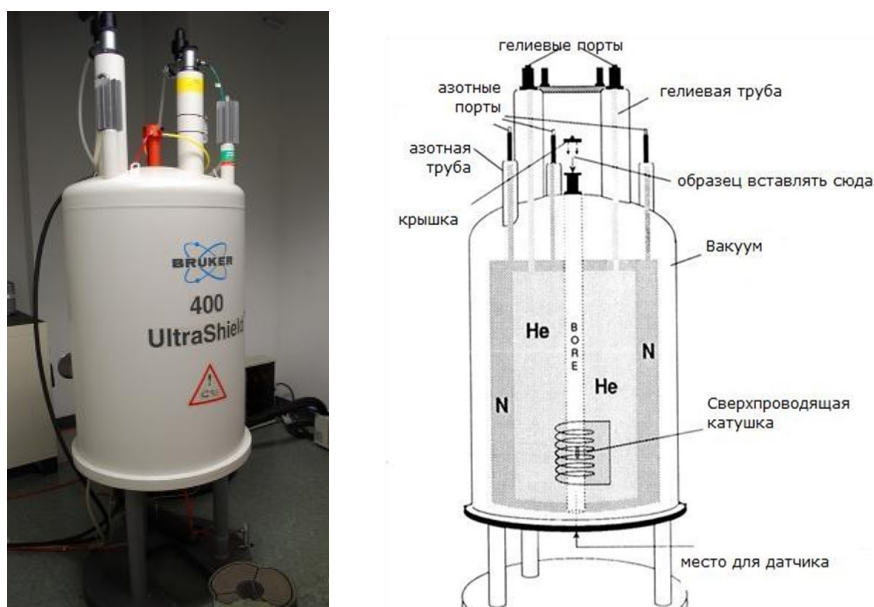


Рисунок 2.8 – ЯМР спектрометр Bruker Avance 400 (слева) и схема установки (справа).

Для проведения исследования использовались образцы чистого лабораторного глюконата кальция производства Sigma Aldrich, а также образцы, облученные дозой 1000 Гр. Регистрация спектров ЯМР проводилась для ядер ^{13}C . Измерения проводились при комнатной температуре. ^{13}C ЯМР исследования твердых образцов глюконата кальция проводились в режиме кросс-поляризации с вращением под магическим углом. Растворы глюконата кальция приготовлены в дейтерированной воде в концентрации 10

ммоль/литр. Подготовленные образцы помещались в ампулу диаметром 5мм. Несущая частота для ядер ^{13}C составляла 100 МГц, длительность 90-градусного импульса - 7,5 мкс, ширина спектров ^{13}C - 22 кГц, количество сканирований - 4096.

2.2.4. ИК спектроскопия

Регистрация ИК спектров пропускания проводилась с разрешением $0,5\text{ см}^{-1}$ на ИК Фурье-спектрометре Escalibur (Varian Inc., рис. 2.9), в Ижевском Физико-техническом институте Удмуртского ФИЦ УрО РАН. В качестве образцов были использованы порошки глюконата кальция, облученные дозами 400, 600, 800 и 1000 Гр, а также исходные, подготовленные в виде спрессованных таблеток образцов с бромистым калием KBr (1.7/100 мг).



Рисунок 2.9 –ИК Фурье-спектрометре Escalibur (Varian Inc.)

2.3. Методика моделирования спектров и квантово-химических расчетов

Моделирование производилось с использованием программного модуля EasySpin MatLab. С помощью этого модуля существенно облегчается обработка полученных данных, спектроскопической информации и расчет энергетической структуры всевозможных парамагнитных комплексов. Твердотельные спектры ЭПР порошков и монокристаллов вычисляются с помощью функции EasySpin Pepper [77].

В представленном исследовании использовался метод минимизации Нелдера - Мида (метод деформируемого многогранника и симплекс-метод), представляющий собой метод безусловной оптимизации функции от нескольких переменных, не использующий производной (точнее — градиентов) функции, а поэтому легко применим к негладким и/или зашумлённым функциям. Целевой функцией при этом была сумма среднеквадратичных отклонений экспериментальных спектров от модельных, рассчитанных для диапазонов: X- и Q- и W. Суть метода заключается в последовательном перемещении и деформировании симплекса (n-мерный тетраэдр) вокруг точки экстремума. Метод находит локальный экстремум, для поиска глобального экстремума, можно пробовать выбирать другой начальный симплекс [78].

Расшифровка ЭПР спектров, полученных для одного и того же образца в разных диапазонах, была проведена с одним набором параметров компонент спектров ЭПР: g-факторов, интенсивностей, параметров СТВ. Ширины линий компонент для разных диапазонов варьировались отдельно.

В первой части исследования моделирование производилось в приближении изотропных g-фактора и параметров СТВ. Для снятия таких ограничений и получения более точной информации о системе были проведены квантово-химические расчеты. Расчеты методами квантовой химии были выполнены с использованием программного пакета ORCA [79]. В данной работе мы использовали метод теории функционала плотности

(DFT) [80-82], а именно неограниченный метод Кона-Шема. Для оптимизации геометрии использовался метод B3LYP/TZVP. Для расчёта параметров спектра ЭПР применялся базис EPR-II, EPR-III, IGLO [83]. Полученные значения параметров были в дальнейшем использованы в качестве начального приближения для симуляции экспериментальных спектров ЭПР.

Для построения моделей молекул глюконатов и предварительной геометрической оптимизации использовалась программа Avogadro [84]. Удобно то, что программа позволяет зафиксировать положение определенных атомов. Использование внутренней системы координат позволяет фиксировать торсионные и валентные углы, а также является удобным для задания условий оптимизации. Кроме того, с помощью программы Avogadro формировались входные файлы для квантово-химических расчетов в ORCA.

Глава 3. ИССЛЕДОВАНИЕ ГАММА-ОБЛУЧЕННЫХ СОЛЕЙ ГЛЮКОНОВОЙ КИСЛОТЫ МЕТОДАМИ МАГНИТНОЙ РАДИОСПЕКТРОСКОПИИ

В данной главе представлены результаты применения метода ЭПР спектроскопии для определения конформации глюконата кальция. Поскольку для исходного $\text{CaGluc}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ сигнала ЭПР не наблюдается, было предложено ввести в образец искусственные дефекты (в качестве аналога метода спиновых меток) для получения информации о системе. В данной работе для создания искусственных дефектов использовалось ионизирующее излучение. В качестве вспомогательных методов, в работе представлены исследования с помощью спектроскопии ЯМР и ИК (разделы 3.1, 3.2). В разделе 3.3 представлены исследования структуры глюконата кальция в первом приближении с изотропными СТВ и g-факторами. Далее, в разделе 3.4 предлагается более точная методика анализа магнитно-резонансных параметров образующихся радикалов, с использованием методов квантовой химии. Также в данной главе представлены исследования глюконата натрия (раздел 3.5). Результаты, представленные в данной главе опубликованы в работах [A2] и [A3].

3.1. ЯМР исследование гамма-облученного глюконата кальция

Как известно, высокодозное облучение γ -квантами может приводить к различным процессам, в том числе к деструкции молекулы. Следовательно, для того чтобы корректно подобрать рабочий диапазон доз облучения, необходимо проверить отсутствие таких процессов при облучении различными дозами. С этой целью были проведены ЯМР исследования. Таким образом, выбор доз облучения диктовался, с одной стороны, отсутствием заметного разрушения углеродного скелета под действием излучения, а с другой - необходимостью получения достаточно мощного

сигнала ЭПР. Были проведены исследования образцов как в твёрдом состоянии, так и в растворах в дейтерированной воде.

^{13}C ЯМР исследования твердотельных образцов глюконата кальция проводились в режиме кросс-поляризации с вращением под магическим углом. Спектр твердотельного образца глюконата кальция, облученного 1000Гр, в точности соответствует спектру исходного образца (рис. 3.1.а)).

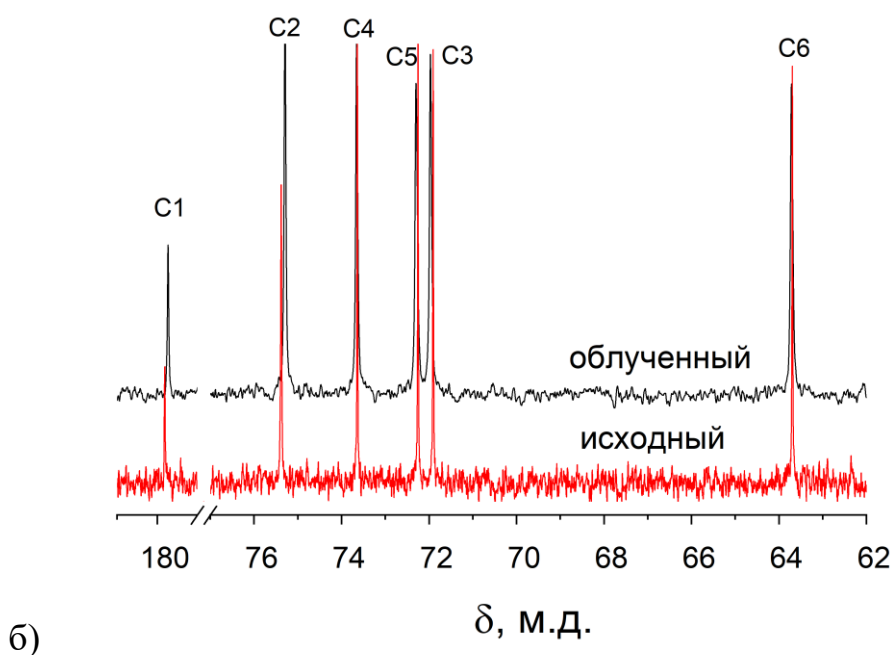
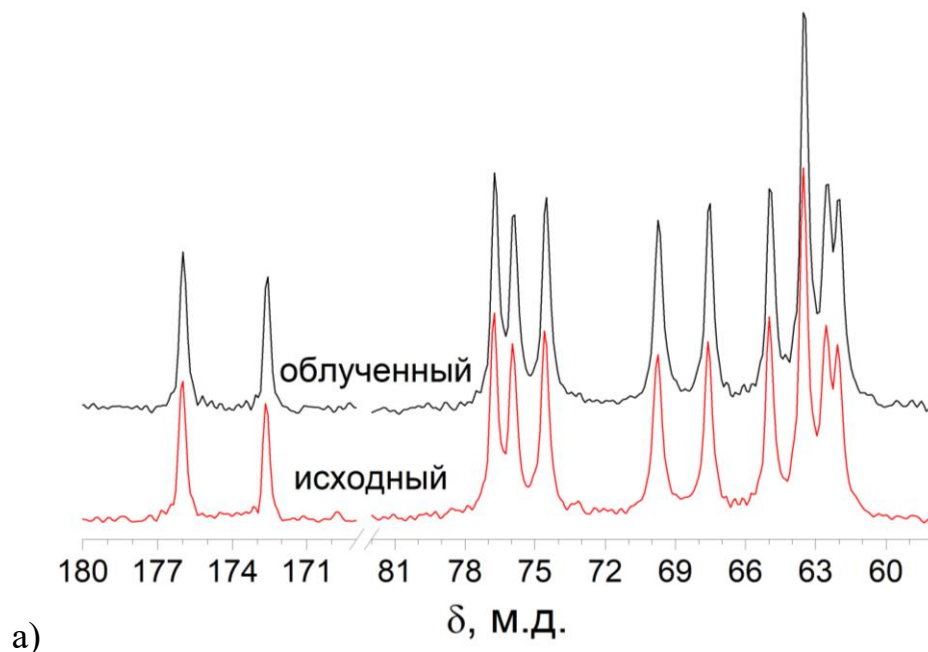


Рисунок 3.1 – ^{13}C ЯМР спектр глюконата кальция, облученного 1000Гр и исходного (а) твердофазные образцы, б) растворы).

^{13}C ЯМР спектры растворов исходного глюконата кальция и облученного дозой 1000 Гр представлены на рис. 3.1.б). Наблюдаемые химические сдвиги представлены в таблице 3.1.

Таблица 3.1 – Химические сдвиги для ядер ^{13}C ЯМР растворов глюконата кальция.

Образцы КГ	Химические сдвиги, м.д.					
	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Исходный КГ	179,8	75,4	71,9	73,6	72,2	63,6
Облученный КГ	179,7	75,3	71,9	73,3	72,3	63,6
Литературные данные [85]	178,4	73,8	70,7	72,3	70,9	62,4

Наблюдаемые сдвиги линий как в сторону слабых, так и в сторону сильных полей незначительны и находятся в рамках погрешности эксперимента. На спектре отсутствуют новые линии, что в рамках чувствительности метода свидетельствует о целостности углеродного скелета молекулы. Наблюдаемые химические сдвиги сигналов хорошо согласуются с литературными данными [85]. Это позволяет предполагать, что облучение гамма-квантами вплоть до 1000Гр не приводит к существенной деструкции молекулы.

3.2. Исследования глюконата кальция методом ИК спектроскопии

Данные ИК спектроскопии свидетельствуют о наличии в молекулах образца тех или иных функциональных групп, что может быть использовано для установления структур изучаемых соединений. В связи с тем, что облучение может приводить к деструкции и образованию продуктов радиолиза, было проведено исследование образцов с помощью ИК спектроскопии в режиме пропускания.

На рисунке 3.2. показаны ИК спектры пропускания глюконата кальция, облученного дозами 400Гр и 1000Гр, а также исходного образца. Представленные спектры глюконата кальция соответствуют имеющимся на сегодняшний день литературным данным [86, 87].

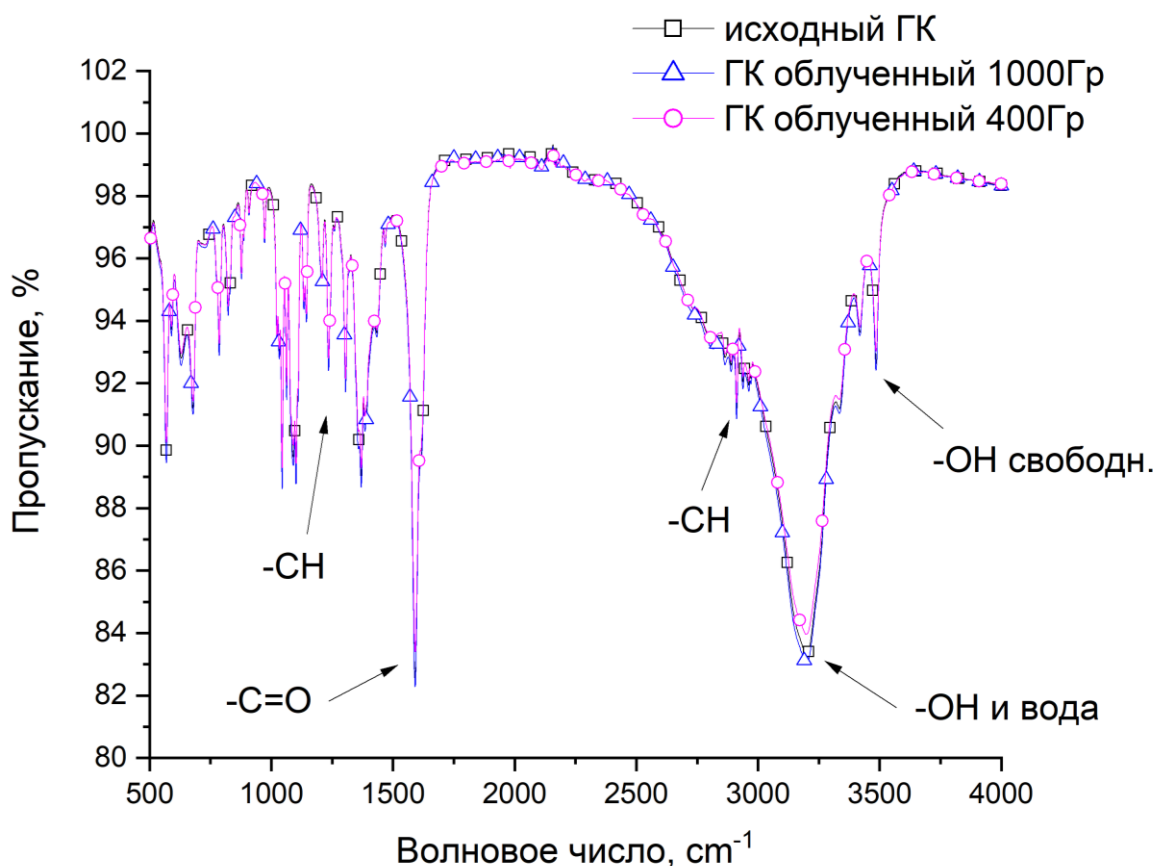


Рисунок 3.2. ИК спектр пропускания глюконата кальция исходного, облученного 400 Гр и 1000Гр.

Как упоминалось выше, основным процессом при облучении полиолов (близких по строению к солям глюконовой кислоты соединений) является разрыв связи С-Н. В связи с этим, ожидалось изменения в различных областях спектра, в частности около 1200 см^{-1} и 2900 см^{-1} отвечающих за валентные колебания -СН группы. Такие изменения действительно наблюдались, однако, отмеченные отклонения незначительны и не превышают 1% (рис. 3.2.1-3.2.2).

Таким образом, чувствительность метода не позволяет достоверно выявить различия в структурах исходного и облученных образцов.

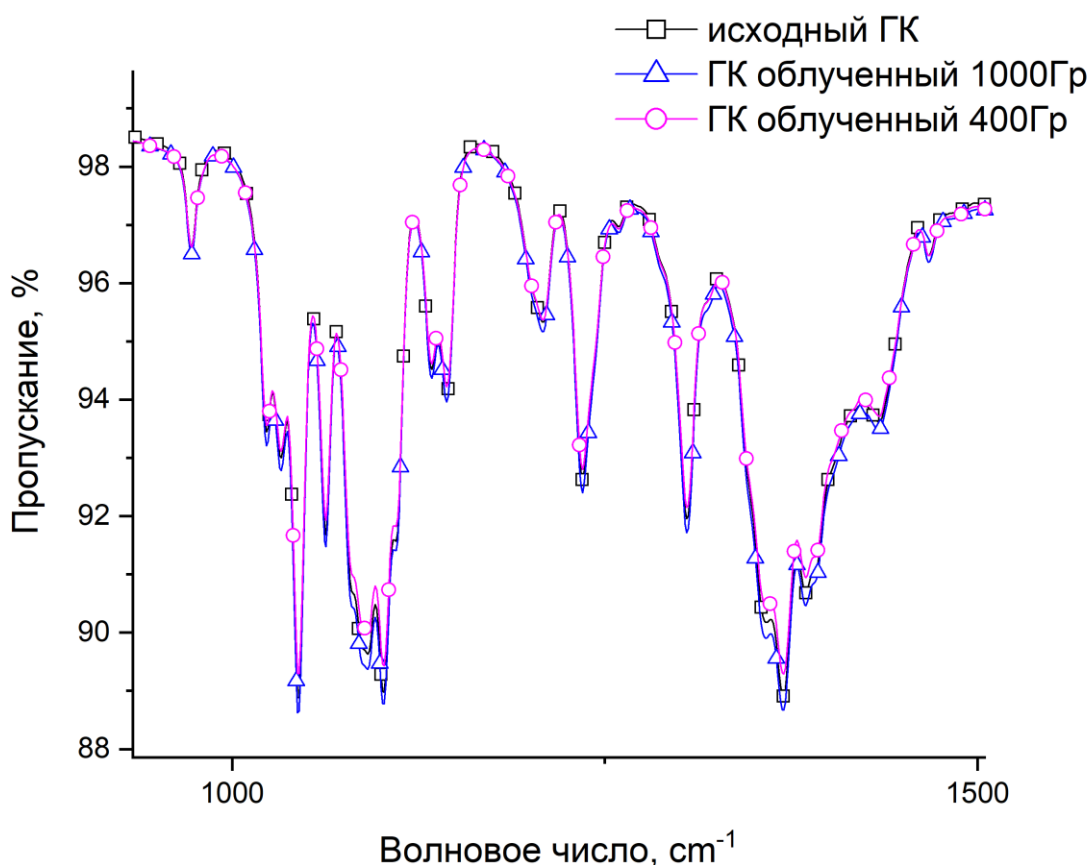


Рисунок 3.2.1 ИК спектр пропускания глюконата кальция исходного, облученного 400 Гр и 1000Гр, увеличена область $1000\text{-}1500\text{ см}^{-1}$.

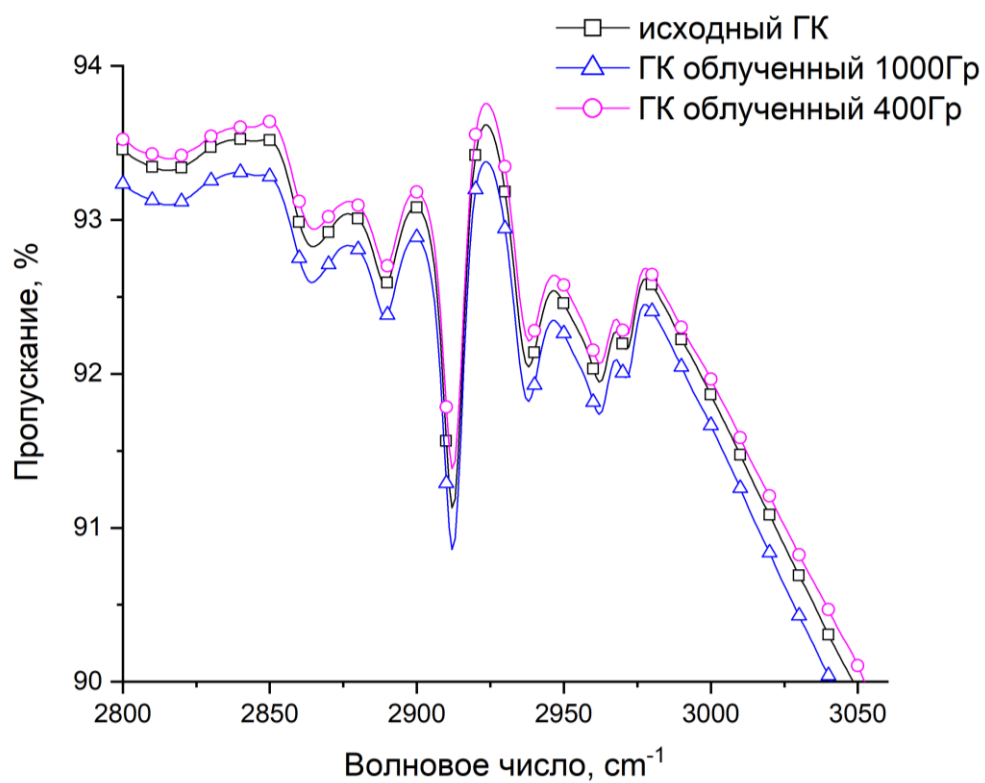


Рисунок 3.2.2 ИК спектр пропускания глюконата кальция исходного, облученного 400 Гр и 1000Гр, увеличена область 2800-3050 cm^{-1} .

923.3. ЭПР исследование гамма-облученного глюконата кальция в X- и Q- диапазонах

Исследования методом ЭПР показывают, что при облучении глюконата кальция γ -квантами возникают парамагнитные центры, устойчивые при комнатной температуре. Экспериментальные спектры ЭПР глюконата кальция, облученного дозой 400 Гр и 1000 Гр, зарегистрированные в X-диапазоне, представлены на рис. 3.3.

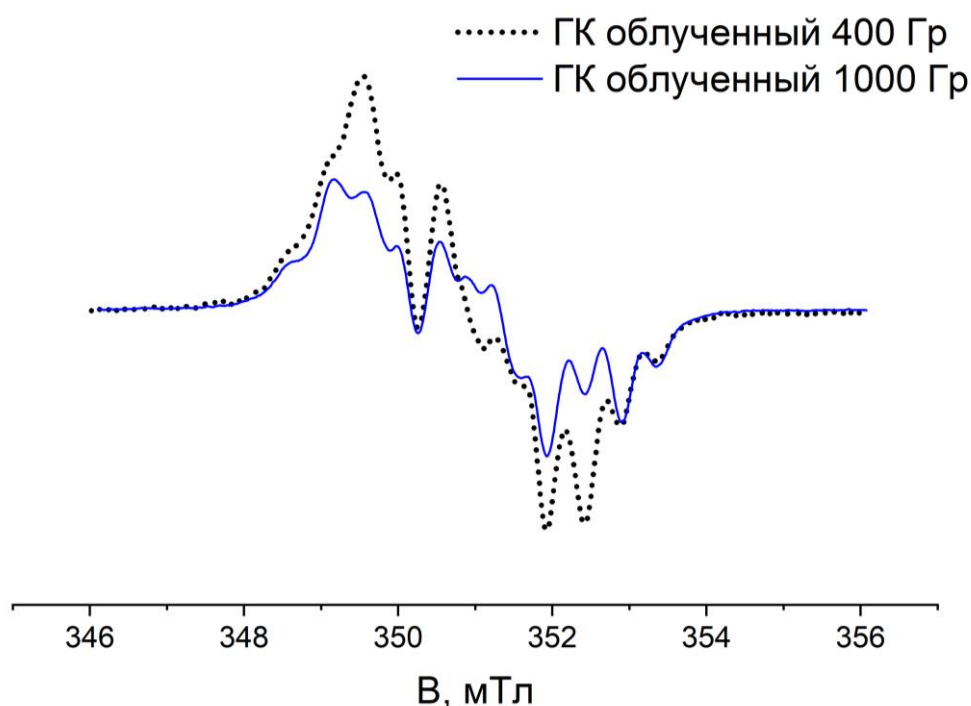


Рисунок 3.3 – Спектры ЭПР $\text{CaGluc}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ в X-диапазонах, доза облучения 400 Гр и 1000 Гр, зарегистрированные при комнатной температуре.

Спиновый Гамильтониан имеет вид:

$$\hat{H} = \mu_B \vec{B} g \hat{S} + \sum_{i=1}^{N_n} \hat{S} A_i \hat{I}_i \quad (2.1)$$

где μ_B – магнетон Бора, \hat{S} – оператор спина электрона, \vec{B} – вектор магнитного поля, \hat{I}_i – оператор ядерного спина, A_i – константа сверхтонкой связи для i -го ядра, N_n – число ядер.

ЭПР-спектры глюконата кальция, облученного гамма-квантами, имеет вид, типичный для органических радикалов. Спектры являются

многокомпонентными с явно выраженной сверхтонкой структурой, на что указывают пики в обоих диапазонах с одинаковым расстоянием между ними ~ 1.1 мТ (рис. 3.6.А, Б). Общая ширина спектров в X- и Q- диапазонах составляет примерно 6 мТ. Это указывает на то, что основным вкладом в суммарную ширину спектров является сверхтонкое расщепление.

При облучении высокоэнергетическими квантами протяженных органических молекул, которыми являются глюконаты, очевидно образование парамагнитных центров на разных атомах молекулы. Также следует ожидать, что концентрация этих парамагнитных центров будет различной и зависеть от дозы облучения. Такая зависимость обнаруживается в исследуемых нами спектрах: форма спектра зависит от дозы облучения. Это дает возможность произвести предварительную деконволюцию сигналов путем вычитания спектров, полученных для образцов с разными дозами облучения. Результат вычитания был проанализирован при помощи программы EasySpin. Наиболее информативным оказалось сравнение спектров образцов облученных дозами от 400 Гр до 1000 Гр (рис.3.4 - рис.3.5).

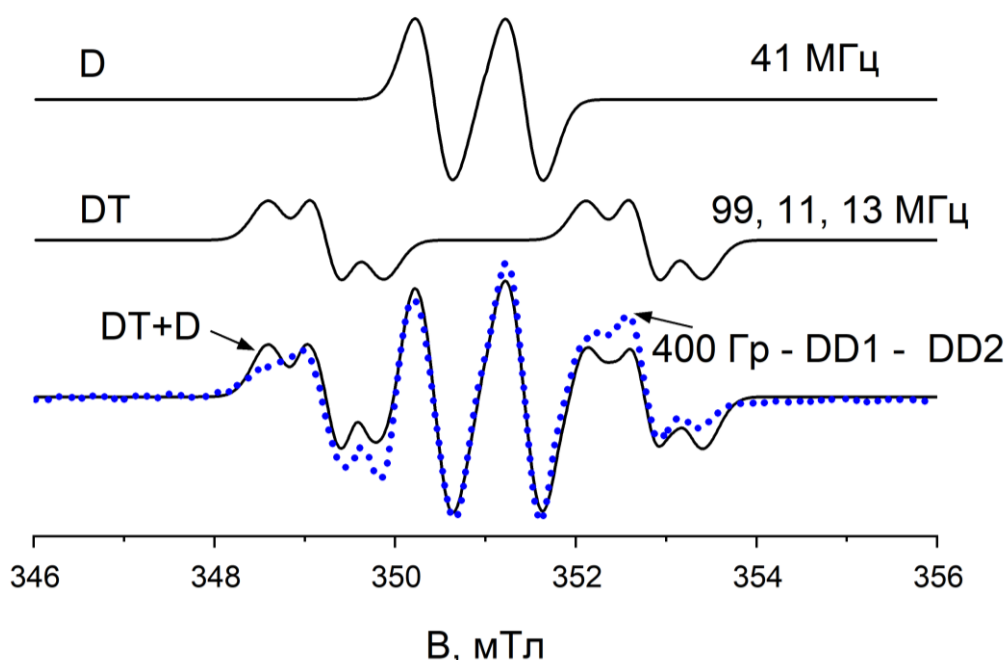


Рисунок 3.4 – Разность спектров КГ облученного 1000Гр и 400Гр и результат разложения на две компоненты.

В частности, удалось установить, что разность спектров образцов, облученных с дозами 400 и 1000Гр, соответствует дублету дублетов 1 ($A_1=28\text{МГц}$, $A_2=20\text{ МГц}$) и дублету дублетов 2 ($A_1=24\text{МГц}$, $A_2=48\text{ МГц}$).

При вычете из экспериментального спектра КГ, облученного с дозой 400Гр, компонентов, полученных в предыдущем шаге, удалось выделить оставшуюся линию, состоящую из дублета ($A=28\text{ МГц}$) и дублета триплетов ($A_1=98\text{МГц}$, $A_2=13\text{МГц}$, $A_3=13\text{ МГц}$).

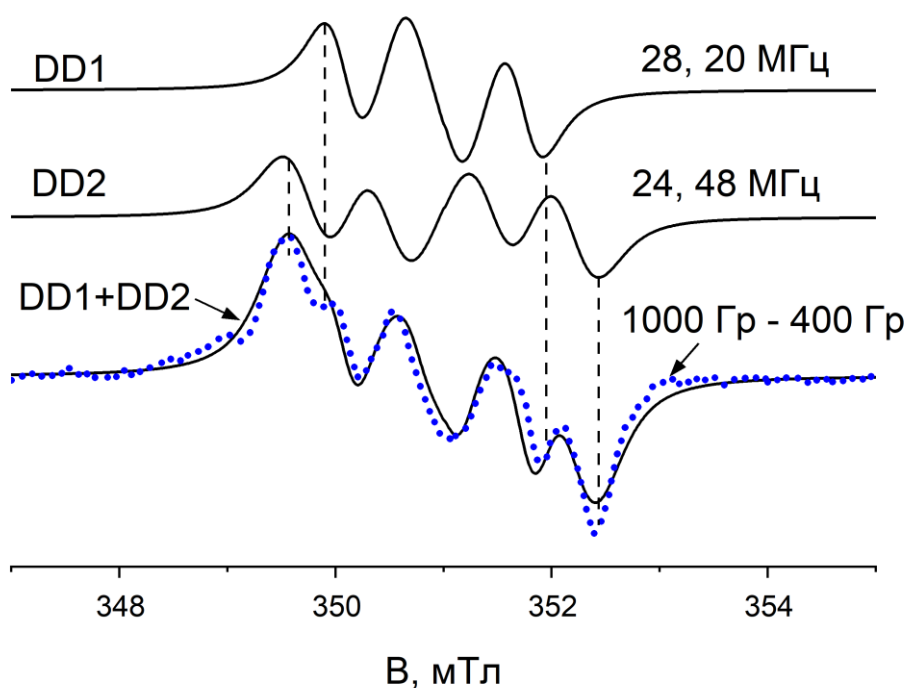


Рисунок 3.5 – Разность экспериментального спектра от образца чистого КГ (Sigma Aldrich) облученного 400Гр и триплет + дублет дублетов (компоненты 1 и 2); результат разложения разности на две компоненты (3 (дублет) и 4 (дублет триплетов)).

Существенную помощь в расшифровке многокомпонентных спектров ЭПР может оказать то, что в зависимости от своего строения свободные радикалы по-разному ведут себя при изменении уровня мощности СВЧ. Благоприятным для такого метода определения компонент является случай, когда насыщение сигнала от различных радикалов происходит при различных мощностях. Спектры ЭПР облученного глюконата кальция зависят от подводимой мощности СВЧ. Некоторые компоненты, в частности,

дублет дублетов с компонентами 28 МГц и 20 МГц удается выделить вычитанием спектров, измеренных при различных мощностях. Однако полного насыщения каких-либо компонент, по-видимому, не происходит – наблюдаемая разница спектров мала. В свою очередь, это указывает на близкую природу исследуемых радикалов.

Результат предварительного разложения спектров ЭПР, зарегистрированных от глюконата кальция, облученного γ -квантами дозой 400 Грей, представлен на рис. 3.6 (сплошная линия) и рис. 3.7. Параметры компонент сведены в таблицу 3.2.

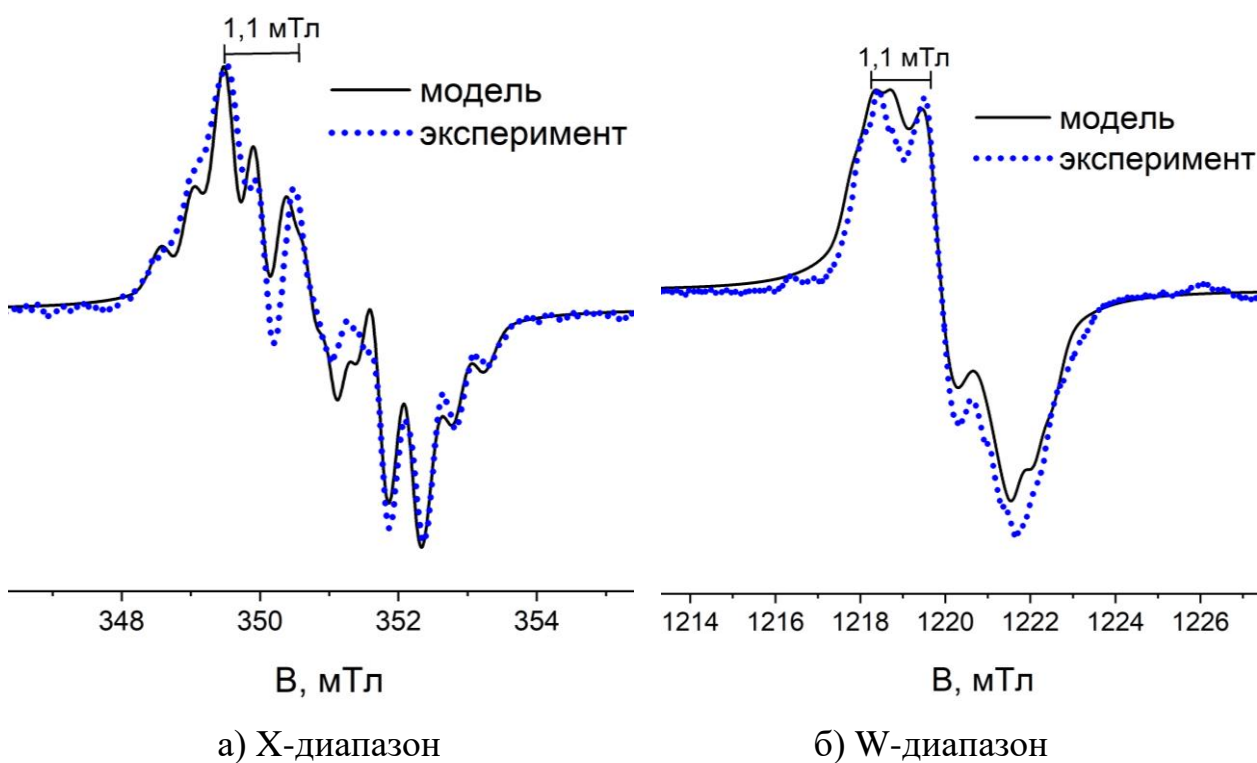


Рисунок 3.6. – Спектры ЭПР глюконата кальция, облученного γ - квантами с дозой 400 Гр: экспериментальный и модельный (EasySpin).

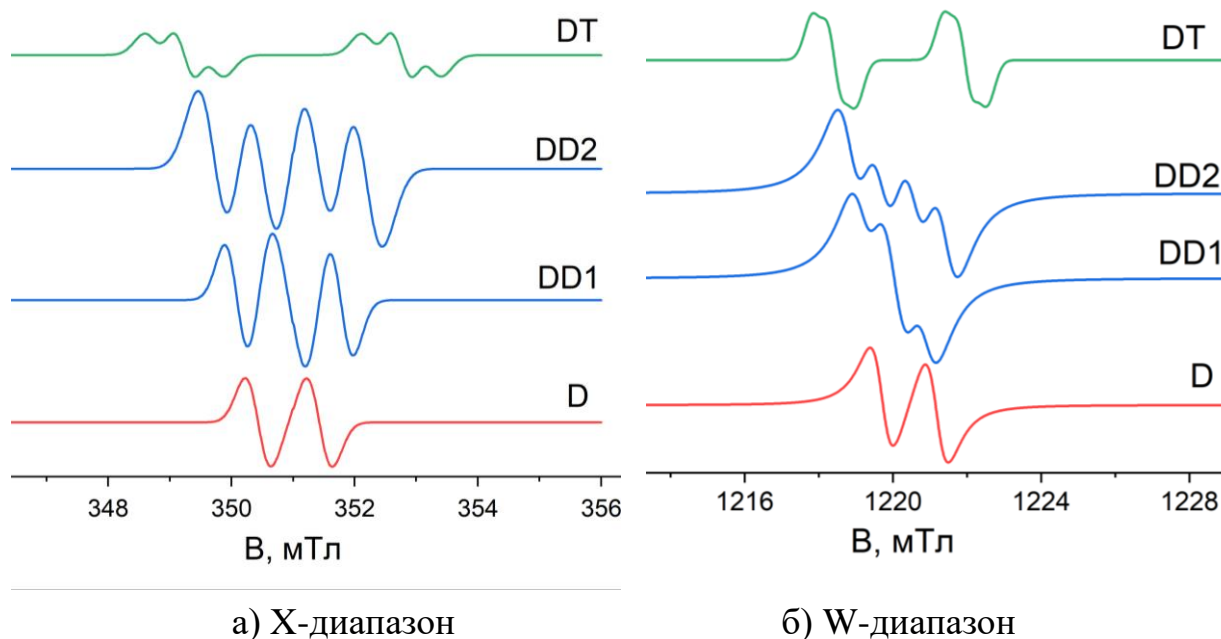


Рисунок 3.7 – Компоненты модельных спектров: 1) дублет триплетов (DT), 2) триплет (DD1), 3) дублет дублетов (DD2), 4) дублет (DT).

Таким образом, в качестве составляющих полного спектра ЭПР глюконата кальция использовались спектры радикалов с дублет триплетной, дублет дублетной, триплетной и дублетной структурами (рис.3.7). Похожий набор компонент в спектрах ЭПР наблюдался в близких по строению к солям глюконовой кислоты поликристаллических ациклических полиолах, облученных γ -квантами [8]. В частности, упоминалось о соединениях с шестью атомами в углеродной цепи: D-ксилите, D-рибите, D-сорбите, D-дульците, D-манните. Наблюдаемые сигналы были отнесены к радикалам, образовавшимся в результате отрыва атома водорода от вторичных атомов углерода, а сверхтонкое расщепление обусловлено взаимодействием с β -протонами.

При действии радиации на углеводы, основным процессом является разрыв C-H связей, приводящий к возникновению π -радикалов, локализованных на атомах углерода. В этом случае возможно применение формулы Мак-Конелла [18, 88], которое позволяет приблизительно оценить торсионные углы. А именно, существует корреляция между константой СТВ

β - протона в π - электронных радикалах и торсионным углом между связью С-Н и осью орбитали неспаренного электрона.

$$A(\theta) = B\rho \cos^2 \theta \quad (3.1)$$

Здесь θ - торсионный угол между направлением С-Н связи и осью неспаренного электрона, A – константа сверхтонкого взаимодействия, B – константа порядка 4.4 – 5 мТ для радикалов на атомах углерода, ρ - спиновая плотность p- орбитали на атоме углерода. Следуя работе по исследованию методом ЭПР d-маннитола [18], мы приняли для наших расчетов $B\rho = 3.6$ мТ.

Используя полученные нами ранее параметры констант сверхтонкого взаимодействия (таблица 3.2), можно получить значения торсионных углов, характеризующих конформацию молекулы. Результаты углов представлены в таблице 3.3.

Таблица 3.2. Параметры компонент модельных спектров, полученные в результате подгонки к экспериментальным данным, измеренным в X- и Q-диапазонах.

	g-фактор	ширина, мТл		Интенсивность		A, МГц		
		X - диапазон	Q - диапазон	I	I, %			
DT	2.0035	0.410	0.556	0.00094	4	99.3	10.9	12.6
DD1	2.0037	0.681	1.342	0.01160	47	27.9	19.9	
DD2	2.0036	0.681	1.364	0.00898	37	23.8	48.2	
D	2.0031	0.919	1.134	0.00284	12	41.3		

Таблица 3.3. Значения торсионных углов, соответствующие константам СТВ согласно соотношению Мак-Конелла.

	DT	DD1	DD2	D
A, МГц	99.3, 10.9, 12.6	27.9, 19.9	23.8, 48.2	41.3
Торсионные углы, θ , °	7, 71, 69	58, 64	61, 46	50
Конформация	транс-гош	гош-гош	гош-гош	гош
Возможные позиции радикала	C5	C3	C3	C2

Известно, что мультиплетность сигналов зависит от числа соседних протонов, взаимодействующих с рассматриваемым протоном. В связи с этим, согласно форме линий, компоненты спектра были соотнесены с возможным положением радикала в углеродной цепочке глюконата кальция. Сверхтонкое расщепление, обусловленное взаимодействием с двумя эквивалентными протонами и одним неэквивалентным, характеризуется образованием дублет триплетной формы линии. Так, радикал с дублет триплетной СТС связывается с атомом углерода, локализованным рядом с концевым (C5). Дублет наблюдается при взаимодействии с одним протоном, поэтому ему соответствует единственно возможное положение на C2. Остальные сигналы характеризуются сверхтонким расщеплением, обусловленным двумя протонами, и могут быть приписаны радикалам, локализованным на C3 и C4. Для определения положения оставшихся сигналов была построена проекция Ньюмана (рис.3.8).

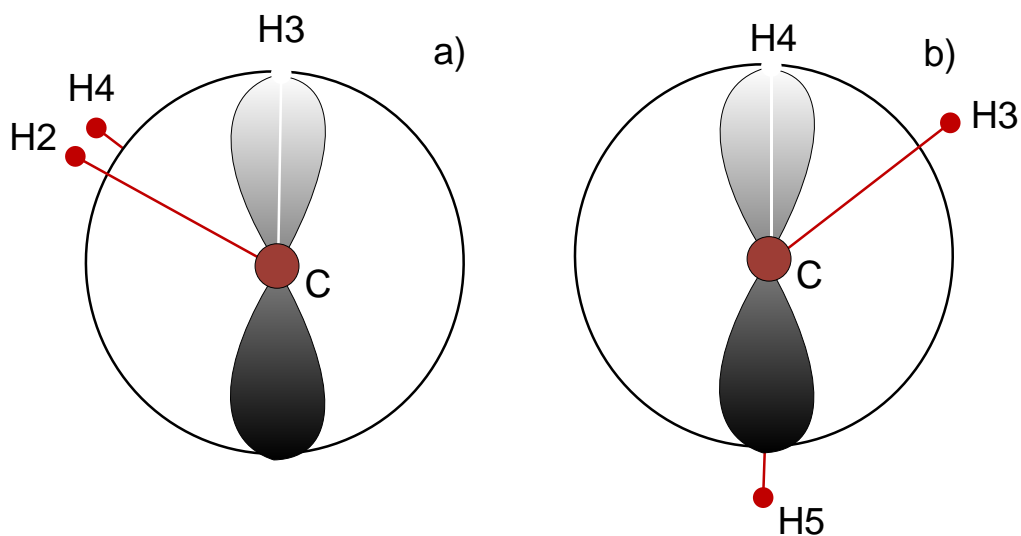


Рисунок 3.8 – Совмещенная для трех атомов углерода проекция Ньюмана для глюконата кальция: а) для атомов C2-C3-C4 – радикал на C3; б) для атомов C3-C4-C5 – радикал на C4.

Проекция Ньюмана позволяет визуализировать молекулу вдоль оси C-C. На рисунке 3.8. представлена проекция для трех атомов углерода: передний углерод представлен красной точкой, центральный углерод обозначен кругом, дальний атом углерода закрыт центральным. Красными

линиями обозначены связи углеродов с заместителями (соответствующими переднему и заднему углеродам), белой линией представлен предполагаемый радикал на центральном атоме. Это позволяет определить, что радикалу на С4 должна соответствовать транс-гош конформация ($\approx 180^\circ$). Однако, исходя из экспериментальных данных, полученным торсионным углом соответствует гош-гош конформация ($\approx 60^\circ$), как в случае дублета дублетов 1, так и в случае дублета дублетов 2. Исходя из этого, можно сделать вывод, что оставшимся компонентам соответствует положение С3.

3.4. Квантово-химические расчеты в исследовании конформации глюконата кальция

Приведенный выше метод ограничивается упрощающими предположениями, в частности, об изотропности g-фактора и константы СТВ. В этом отношении более привлекательным является метод расчета параметров ЭПР – спектра (СТВ и g-фактора) с использованием квантово-химических методов.

В свою очередь, такой подход был дополнительно простимулирован появлением нескольких недавних работ по исследованию глюконата кальция [24, 89]. Авторы провели независимые исследования кристаллической структуры монокристаллов КГ методом рентгеновской дифракции, в том числе с применением синхротронного излучения. Что сделало возможным использование квантово-химических расчетов.

Модель молекулы $\text{CaGluc}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (рис.3.9) была построена на основании данных рентгеновской дифракции монокристаллического глюконата кальция [24] с использованием специально адаптированной версии программы Avogadro. Использовалась внутренняя система координат, удобная для задания условий оптимизации. Поскольку предполагается, что облучение γ -квантами приводит к разрыву связи С-Н, атомы водорода в структуре

молекулы глюконата кальция, связанные непосредственно с атомом углерода, удалялись. Квантово-химический расчет проводился для каждого случая.

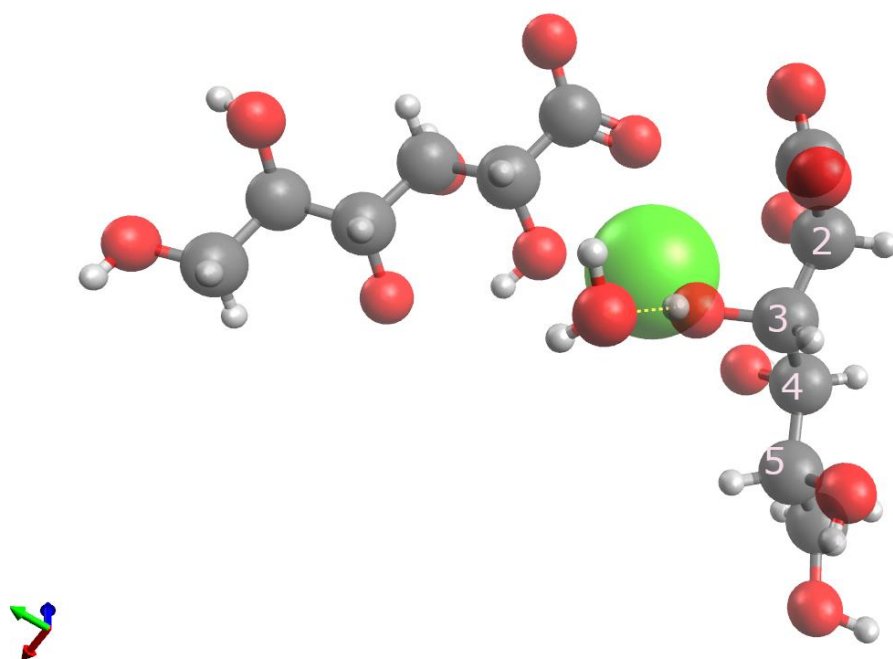


Рисунок 3.9 – Сегмент кристаллической структуры глюконата кальция ($\text{CaGluc}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) по данным [24]

Поскольку разрыв связи С-Н, происходящий в результате γ -облучения, приводит к небольшому изменению положения соответствующего атома углерода, для каждого случая проводилась геометрическая оптимизация. При этом, учитывались изменения только в первой координационной сфере. При расчете константы СТВ учитывались изотропный и анизотропный вклады всех протонов. Так как рассматривается молекула КГ, находящаяся в составе кристаллической структуры, координаты атомов, находящихся за пределами второй координационной сферы соответствующего атома углерода, фиксировались. Оптимизация геометрии молекулы проводилась в два этапа. На первом предварительном этапе, геометрия оптимизировалась средствами программы Авогадро (для оптимизации используются универсальные силовые поля). На втором этапе оптимизация осуществлялась с помощью квантово-химических расчетов в программе ORCA. Для оптимизации геометрии использовался метод B3LYP/TZVP. Для расчёта параметров

спектра ЭПР применялся базис EPR-II, EPR-III, IGLO. Была использована методика расчета с использованием теории функционала плотности (DFT), а именно неограниченный метод Кона-Шема. Полученные значения параметров (см. таблица 3) были в дальнейшем использованы в качестве начального приближения для симуляции экспериментальных спектров ЭПР.

Следует отметить, что спектры ЭПР глюконата кальция в Q-диапазоне являются менее разрешенным, чем в X-диапазоне. Гораздо более информативны спектры в W-диапазоне (рис. 3.10, б); в таких спектрах полностью разрешены линии, которые накладываются друг на друга в X- и Q-диапазонах. Величины и анизотропия A и g-тензоров для исследуемых солей глюконовой кислоты оказались такими что: во-первых, в X-диапазоне форма спектра зависит, практически, только от A-тензоров, а отличие g-тензоров для различных компонент, а также анизотропия, по существу, не сказываются на форме спектра; во-вторых, в W-диапазоне форма спектра определяется анизотропией g-фактора, а влияние СТВ практически полностью нивелируется. Такое сочетание параметров облегчает однозначную расшифровку спектров.

Таким образом, полученные в результате квантово-химического расчета тензоры СТВ и g-фактора использовались для разложения экспериментальных спектров ЭПР с использованием функции Reprep программы EasySpin. Моделирование осуществлялось одновременно для X- и W- диапазонов с одним набором g-факторов и констант сверхтонкого взаимодействия. Блок-схема разработанной методики исследования солей глюконовой кислоты представлена в приложении 1. Результат моделирования представлен на рис. 3.10.

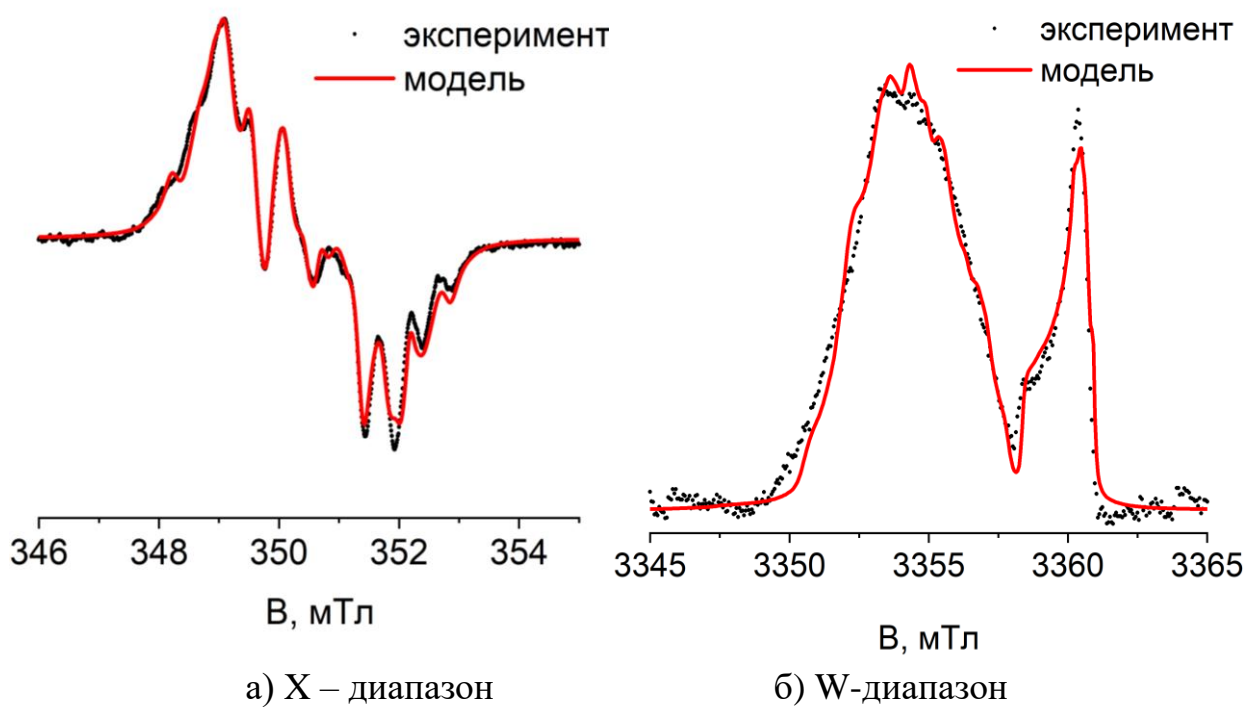


Рисунок 3.10 – ЭПР спектр КГ, облученного дозой 400, и соответствующий модельный (красная линия) в X- W- диапазонах.

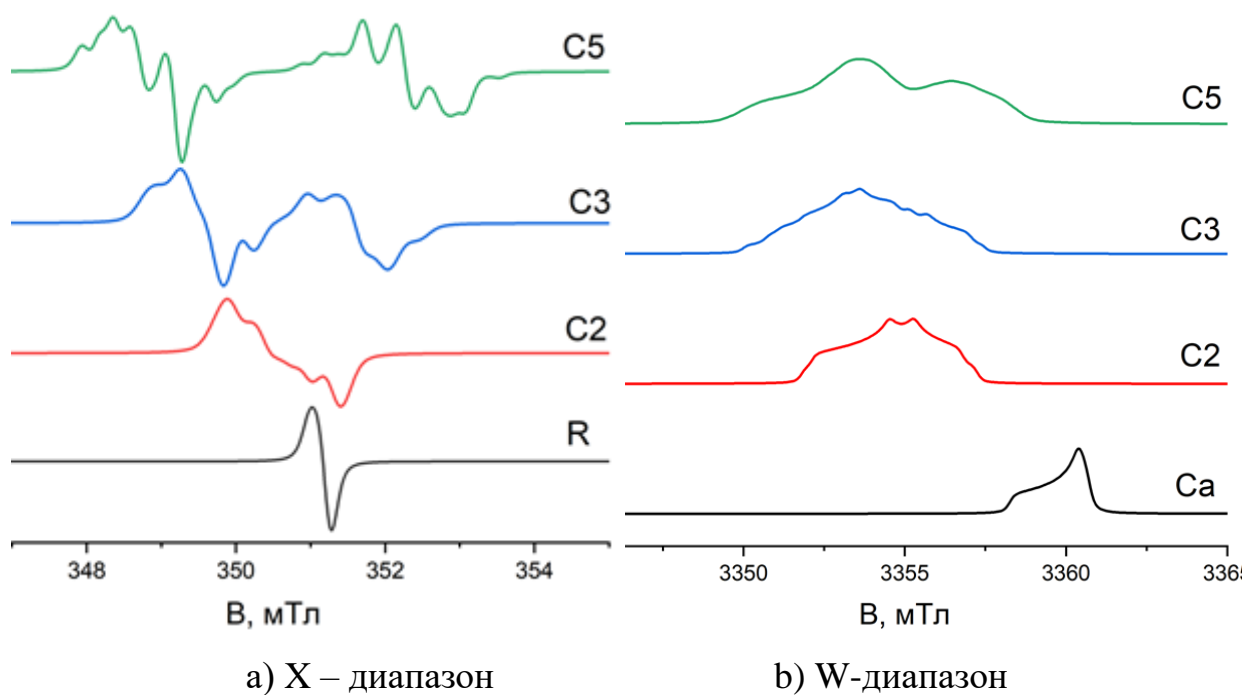


Рисунок 3.11 – Компоненты модельного ЭПР спектра КГ, облученного дозой 400, полученные с помощью квантово-химического расчета в ORCA с подгонкой в EasySpin.

В качестве составляющих полного ЭПР спектра использовались спектры радикалов, расположенных на атомах C2, C3 и C5 глюконата кальция (рис. 3.11). Рассчитанные значения сверхтонкого расщепления радикала на атоме C4 были намного больше полученных значений в эксперименте. Это позволило сделать вывод, что в наших образцах такого радикала нет. Такой же вывод был сделан ранее на основании отсутствия соответствующих торсионных углов в результате интерпретации экспериментальных спектров.

Теоретически рассчитанные спектры радикалов, локализованных на атомах C2, C3, C5 достаточно точно описывают левую часть спектра облученного глюконата кальция в W-диапазоне. Однако, в данном спектре имеется интенсивный сигнал в области высоких полей (около 3360 мТл). У данной линии практически отсутствует СТС, что свидетельствует о том, что данный радикал не может быть локализован на атомах углерода. Расчеты, проведенные с помощью методов квантовой химии для кислород-центрированных радикалов, входящих в структуру глюконата кальция, дают значения g- тензоров, существенно отличающихся от наблюдаемых на эксперименте. Назовем данный радикал R.

Точная идентификация природы радикала R находится за рамками настоящей работы. Можно предположить разрыв небольшого количества связей C-C с образованием радикалов CO_2^- . Образование таких радикалов при радиолизе солей кальция описано в литературе, их магнитные параметры близки к наблюдаемым в наших экспериментах [90, 91]. Еще одна возможность заключается в образовании радикала при котором максимум электронной плотности неспаренного электрона локализован на атоме кальция. Следует заметить, что в литературе мы не нашли данных об образовании таких радикалов при радиолизе соединений кальция. Однако, проведенные расчеты магнитных параметров Ca локализованного радикала методами квантовой химии демонстрируют хорошее совпадение с экспериментом. Для случая, когда была сохранена обычная ионная связь

атома кальция с кислородом, находящимся на характерном расстоянии 2.484 Å, рассчитанный ЭПР спектр в миллиметровом диапазоне с большой точностью совпадает с экспериментальным.

Таким образом, установлено что ЭПР-спектр облученного глюконата кальция состоит из компонент, соответствующих радикалам, локализованных на C2, C3, C5 атомах в глюконате кальция (рис. 3.11) и радикала R. Причем, значительный вклад дают спектры радикалов, локализованных на атоме углерода C3, что обусловлено относительно большими торсионными напряжениями, присутствующими на этом атоме в кристаллическом состоянии CaGluc2 · H₂O. Результаты расчетов представлены в таблицах 3.4 – 3.5.

Как видно из таблицы 3.4, различие в величинах А-тензора доходит до 11 МГц. Это обусловлено по большей части диполь-дипольной компонентой СТВ тензора, в связи с тем, что квантово-химические расчеты проводилось без учета окружения молекулы. Отклонения в изотропной части гораздо меньше - в среднем около 5 МГц. Разница в торсионных углах, рассчитанных по изотропной части СТВ, в среднем составляют около 3 градусов.

Таблица 3.4. Компоненты А-тензора (в МГц), рассчитанные методом квантовой химии (ORCA) и их значения, определенные в результате моделирования (EasySpin) и подгонки к экспериментальным спектрам ЭПР. В скобках указано изменение величин в результате подгонки (разница между расчетами на ORCA и EasySpin).

	А – тензор		Изотропная часть		Торсионный угол	
	ORCA	EasySpin	ORCA	EasySpin	ORCA	EasySpin
C2	4 21 32	-7(11) 16(5) 34(2)	19	15 (4)	64	68 (4)
C3	29 73 65	26(3) 64(9) 62(3)	56	51 (5)	44	47 (3)
	-17 22 12	-15(2) 19(3)	5	7 (2)	78	75 (3)

		17(5)				
C5	85 98 83	94(9) 107(9) 78(5)	89	93 (4)	25	22 (3)
	15 11 18	14(1) 12 (1) 14(4)	15	13 (2)	67	69 (2)
	3 28 -10	9(6) 29(1) -2(8)	7	12 (5)	76	70 (6)

Таблица 3.5. Компоненты g-тензора, рассчитанные методом квантовой химии (ORCA) и их значения, определенные в результате моделирования (EasySpin) и подгонки к экспериментальным спектрам ЭПР. В скобках указано изменение величин в результате подгонки (разница между расчетами на ORCA и EasySpin).

	ORCA	EasySpin	Разница, *10 ⁻⁴
Ca	2.00085 2.00092 2.00238	2.00085 2.00092 2.00220	0 0 2
C2	2.0023 2.0037 2.0047	2.0026 2.0044 2.006	3 7 13
C3	2.0022 2.0028 2.0038	2.0028 2.0047 2.0059	6 19 21
C5	2.0022 2.0028 2.0036	2.0034 2.0042 2.0058	12 14 22

Таким образом, X- и W- диапазоны оказались наиболее подходящими для определения компонент составляющих спектр, а также значений g- и A-тензоров рассматриваемых соединений. А именно, g-фактор по существу однозначно определяет форму спектра в W- диапазоне, а тензор СТВ форму спектра в X-диапазоне. ЭПР-спектр в Q-диапазоне оказывается слаборазрешенным, и недостаточен для определения параметров спектров.

Как упоминалось ранее, с помощью соотношения Мак-Конелла можно рассчитать торсионные углы между осью радикала (p-орбиталью на которой

локализован неспаренный электрон) и направлениями связей С-Н на соседних атомах углерода. Однако здесь следует отметить, что для вычисления соответствующих торсионных углов в этом случае соотношение Мак-Конелла в его простой форме неприменимо.

Причина этого в следующем. Когда атом водорода, связанный с атомом углерода, удаляется, происходит переход от sp^3 -гибридизации к sp^2 . Образуется π -радикал. Однако, поскольку молекула окружена другими молекулами глюконата кальция, сохраняется определенная степень тетраэдричности связей атома углерода, на котором концентрируется радикал. То есть эти связи не лежат в одной плоскости и ось π -радикала не перпендикулярна связям С-С. В результате зависимость изотропного СТВ от торсионного угла между радикальной осью и направлением связи С-Н оказывается несколько более сложной, чем простая функция типа $\cos^2\theta$.

С другой стороны, зависимость изотропного СТВ от торсионного угла может быть рассчитана с помощью программного пакета ORCA. Результат такого расчета для радикала на С5 показан на рис. 3.12.

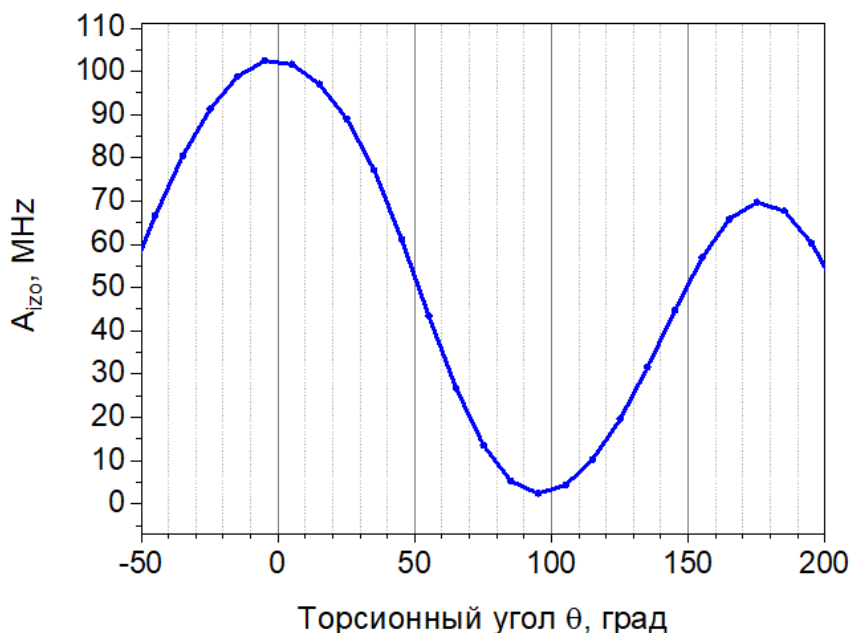


Рисунок 3.12 – Зависимость изотропного значения СТВ от торсионного угла между осью радикала и направлением связи С-Н.

Используя эту зависимость, можно оценить значения торсионных углов между осью π -радикала и связью С-Н. Результат такой оценки представлен в таблице 3.5. Кроме того, было проведено сравнение полученных торсионных углов с данными рентгеновской дифракции (таблица 3.6). Отклонения не превышают 10° .

Таблица 3.6. Значения торсионных углов по данным РСА и, соответствующие константам СТВ согласно соотношению Мак-Конелла.

	Торсионный угол, θ (град)		
	C5	C3	C2
Расчет	22, 69, 70	47, 75	68
Данные РСА [24]	17, 64, 73	56, 74	62

3.5. Исследование глюконата натрия

Облученные образцы глюконата натрия также демонстрируют интенсивный спектр ЭПР при комнатной температуре. Стоит отметить, что спектры облученного глюконата натрия кардинально отличаются от спектров облученного глюконата кальция (рис. 3.6). Исследования методом ЭПР показали, что при облучении глюконата натрия гамма-квантами в образцах возникают парамагнитные центры, стабильные при комнатной температуре. Как и в случае глюконата кальция, интересным с точки зрения ЭПР-дозиметрии представляется исследование дозовой зависимости формы ЭПР-спектра. Однако, в данном случае не наблюдается существенного изменения формы спектра при изменении дозы облучения (рис. 3.13).

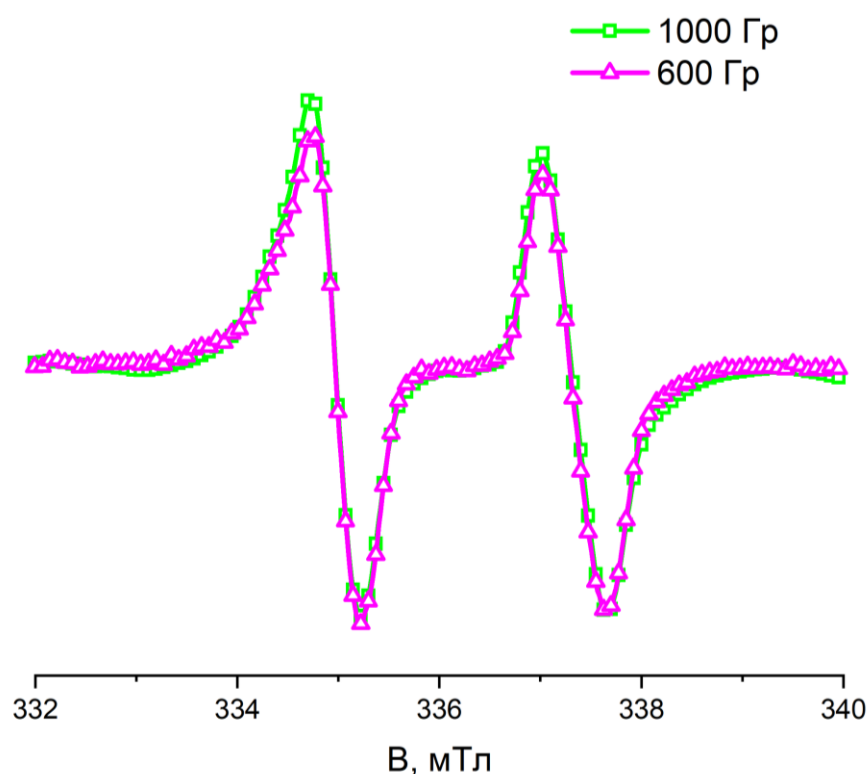
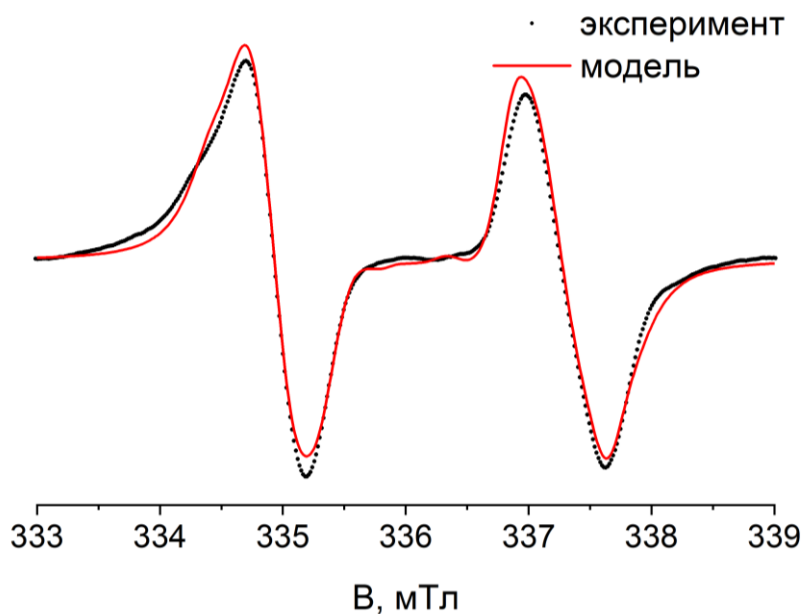


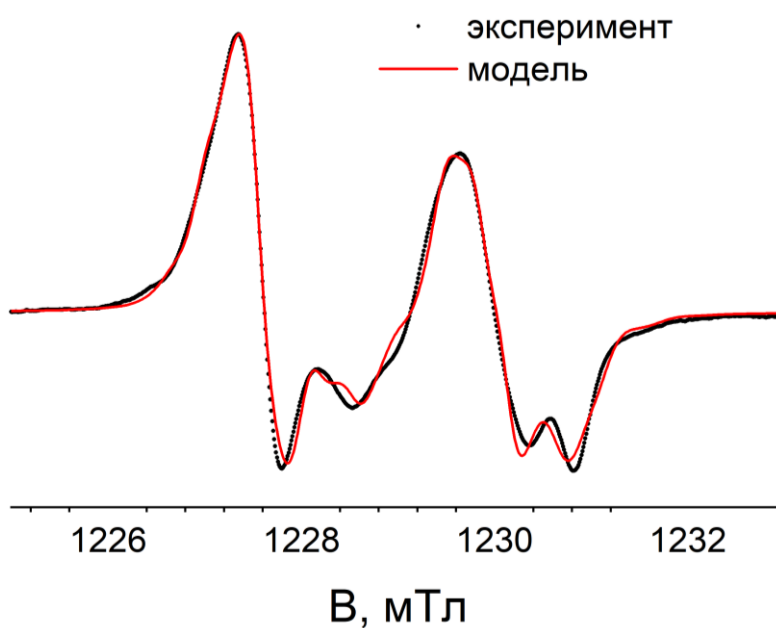
Рисунок 3.13 – Зависимость формы ЭПР спектра глюконата кальция в X- диапазоне от дозы облучения.

Экспериментальные спектры ЭПР глюконата натрия, облученного γ -квантами с дозой 1000 Гр, зарегистрированные в X- и W-диапазонах, представлены на рис. 3.14. Для анализа спектров ЭПР глюконата натрия был

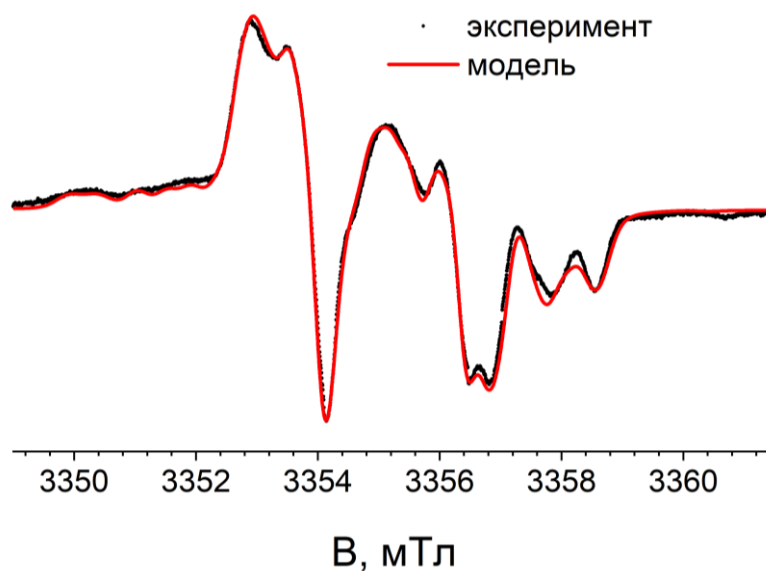
использован тот же подход что и для анализа спектров глюконата кальция (см. приложение 1). В исследовании использовался метод расчета, представленный в предыдущем разделе. В качестве исходных данных для квантово-химических расчетов были использованы данные рентгеновской дифракции [35]. Моделирование осуществлялось одновременно для X- Q- и W- диапазонов с одним набором g-факторов и тензоров сверхтонкого взаимодействия. Результат моделирования показан на рис. 3.15.



а) X диапазон



б) Q-диапазон



в) W-диапазон

Рисунок – 3.14. ЭПР спектры глюконата натрия, облученного дозой 1000 Гр (эксперимент) и результат квантово-химического расчета на ORCA с подгонкой в EasySpin (модель).

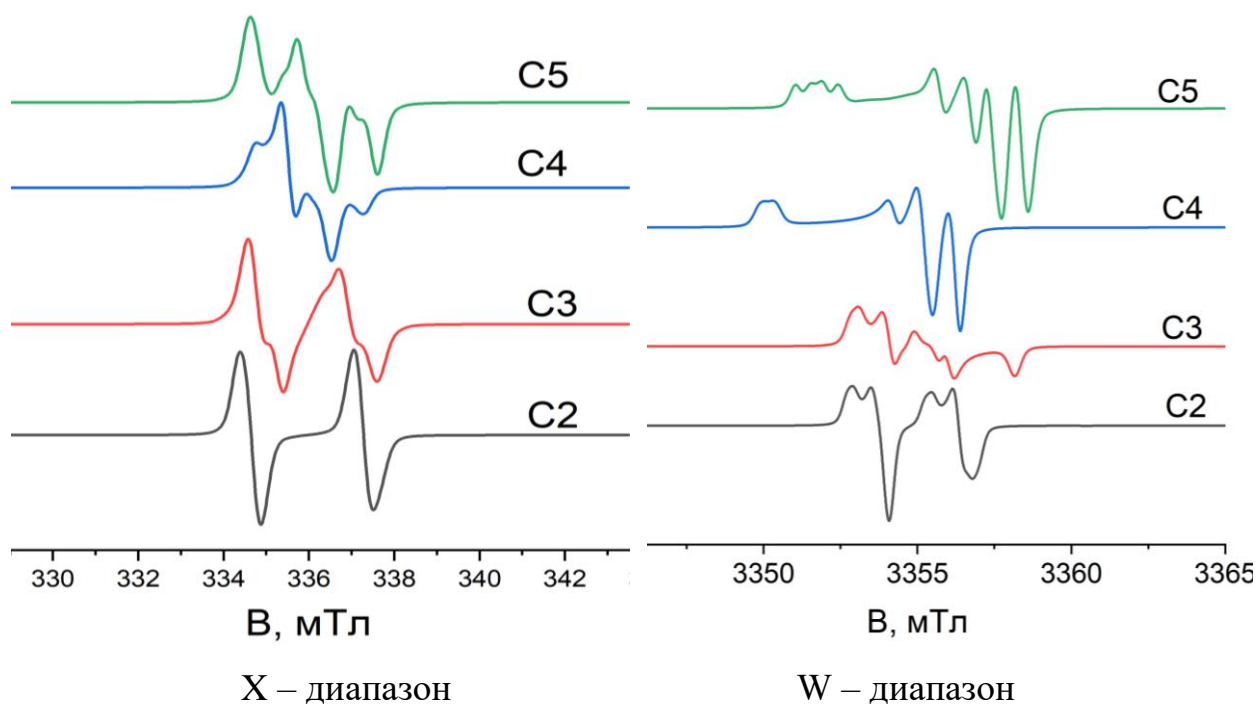


Рисунок – 3.15. Компоненты модельного ЭПР спектра в глюконате натрия, полученные с помощью квантово-химического расчета в ORCA с подгонкой в EasySpin.

В качестве составляющих полного спектра ЭПР использовались спектры радикалов, локализованных на атомах C2, C3, C4 и C5 глюконата натрия (рис. 3.15).

Интересно, что в отличие от глюконата кальция, в ЭПР спектрах γ -облученного глюконата натрия обнаружена компонента, соответствующая радикалу на C4 атоме углерода. Следует отметить, что в случае глюконата натрия магниторезонансные параметры, рассчитанные с помощью методов квантовой химии, оказались очень близки к экспериментальным (таблицы 3.7, 3.8). Линия, соответствующая радикалу R, в ЭПР спектрах глюконата натрия отсутствует.

Таблица 3.7. Компоненты g-тензора, рассчитанные методом квантовой химии (ORCA) и их значения, определенные в результате моделирования (EasySpin) и подгонки к экспериментальным спектрам ЭПР. В скобках указано изменение величин в результате подгонки (разница между расчетами на ORCA и EasySpin).

	ORCA			EasySpin			Разница, *10 ⁻⁴
C2	2.0035	2.0034	2.0041	2.0033	2.0034	2.0041	2 0 0
C3	2.0023	2.0037	2.0045	2.0024	2.0035	2.0042	1 2 3
C4	2.0022	2.0032	2.0055	2.0029	2.0034	2.0064	7 2 9
C5	2.0022	2.0028	2.0053	2.0019	2.0023	2.0055	3 5 2

Таблица 3.8. Компоненты A-тензора (в МГц), рассчитанные методом квантовой химии (ORCA) и их значения, определенные в результате моделирования (EasySpin) и подгонки к экспериментальным спектрам ЭПР. В скобках указано изменение величин в результате подгонки (разница между расчетами на ORCA и EasySpin).

	A – тензор			Изотропная часть		Торсионный угол	
	ORCA	EasySpin		ORCA	EasySpin	ORCA	EasySpin
C2	66 68 79	62	73 88	71	74 (3)	33	31 (2)

C3	45 51 87 -6 3 21	42 43 85 -7 -2 17	61 6	57 (4) 3 (3)	39 76	41 (2) 80 (4)
C4	3 -7 16 20 23 -3	2 -5 30 26 36 3	4 13	9 (5) 22 (9)	79 67	73 (6) 62 (5)
C5	12 27 49 20 17 23 5 2 12	9 22 52 28 22 27 2 -3 9	29 20 6	28 (1) 26 (6) 3 (3)	58 64 76	58 (0) 59 (5) 80 (4)

Для всех обнаруженных радикалов было построено распределение спиновой плотности с одинаковой изолинией поверхности (рис.3.16). Исходя из этих рисунков видно, что спиновая плотность локализована на радикалах.

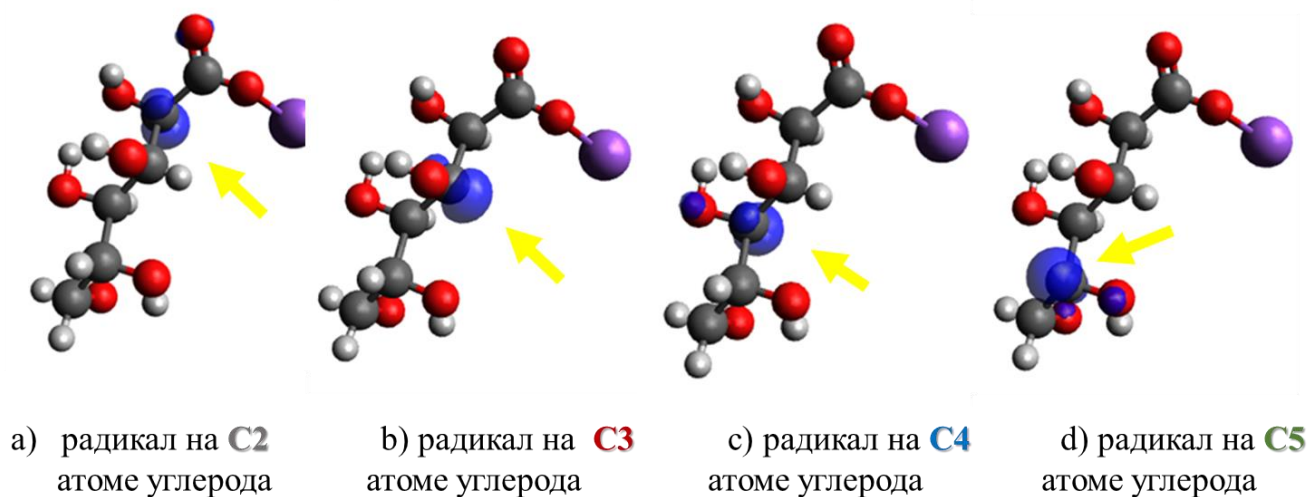


Рисунок 3.16 – Распределение спиновой плотности радикалов на разных атомах углерода в глюконате натрия.

Выводы по 3 главе

ЭПР спектры радикалов, образующихся при облучении солей глюконовой кислоты, корректно описываются при учете анизотропии тензоров СТВ и g-фактора.

Все компоненты ЭПР спектров облученного NaGluc обусловлены π -радикалами на атомах углерода. Радикалы присутствуют на всех атомах углерода, кроме концевых (C2, C3, C4, C5).

Компоненты ЭПР спектров облученного CaGluc₂ · H₂O обусловлены π -радикалами, локализованными на C2, C3, C5 атомах и радикалом R. Основной вклад в ЭПР спектр облученного CaGluc₂ · H₂O дают радикалы, расположенные на атоме углерода C3, что обусловлено относительно большими торсионными напряжениями, присутствующими на этом атоме в кристаллическом состоянии CaGluc₂ · H₂O.

Глава 4. ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНОАКТИВИРОВАННОГО ГАММА-ОБЛУЧЕННОГО ГЛЮКОНАТА КАЛЬЦИЯ МЕТОДОМ ЭПР

В данной главе описаны результаты ЭПР исследования механоактивированного глюконата кальция высокой степени очистки. Приведены сравнения с облученными образцами, а также подвергнутым обоим типам воздействия. Выдвинуты предположения о происходящих структурных изменениях в молекуле глюконата кальция после механоактивации. Результаты, представленные в данной главе опубликованы в работе [4].

4.1. ЭПР исследование механоактивированного глюконата кальция

ЭПР спектры механоактивированного глюконата кальция показаны на рис.4.1. В спектре W-диапазона наблюдается узкая одиночная линия очень похожая по форме и положению на спектр радикала R в облученном глюконате кальция (рис.4.2). Спектр SA MA в X-диапазоне значительно уже спектра облученного глюконата кальция и не демонстрирует ярко выраженной сверхтонкой структуры.

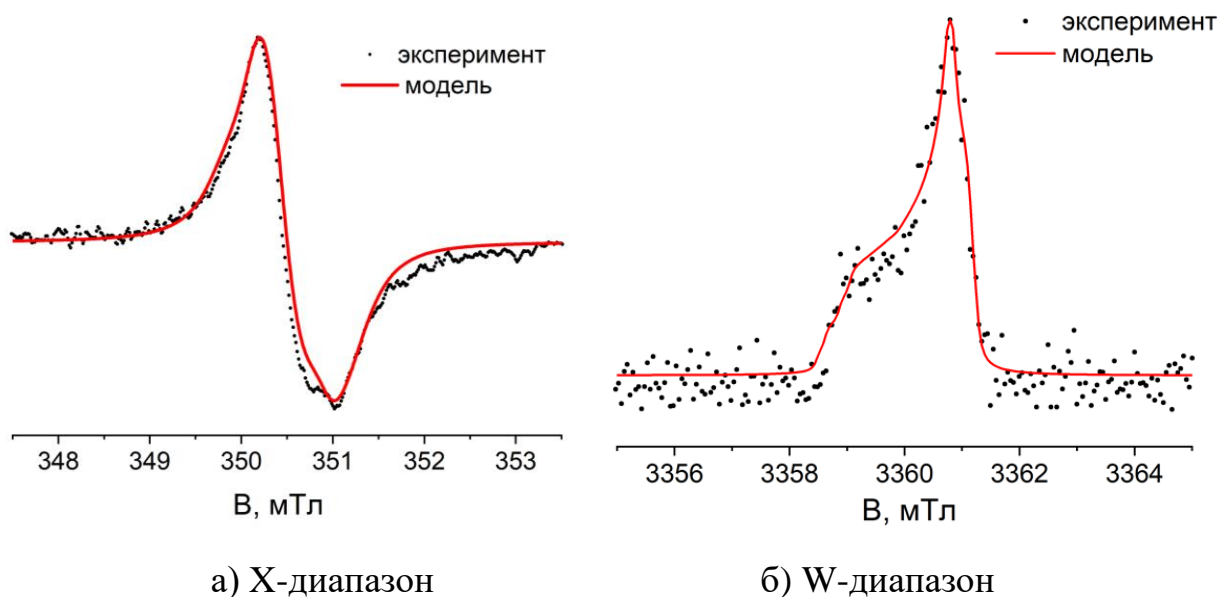


Рисунок 4.1 – ЭПР спектры механоактивированного глюконата кальция (эксперимент) и результат квантово-химического расчета на ORCA с подгонкой в EasySpin (модель).

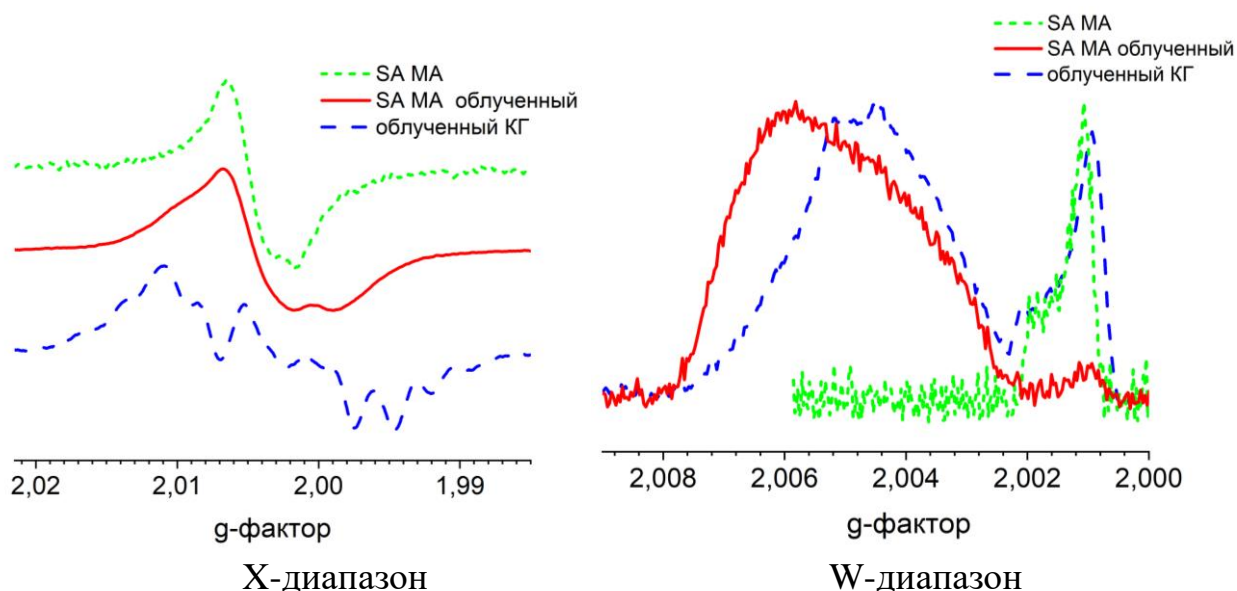


Рисунок 4.2– ЭПР спектры механоактивированного глюконата кальция (SA MA), облученного глюконата кальция и механоактивированного глюконата кальция, подвергнутого облучению.

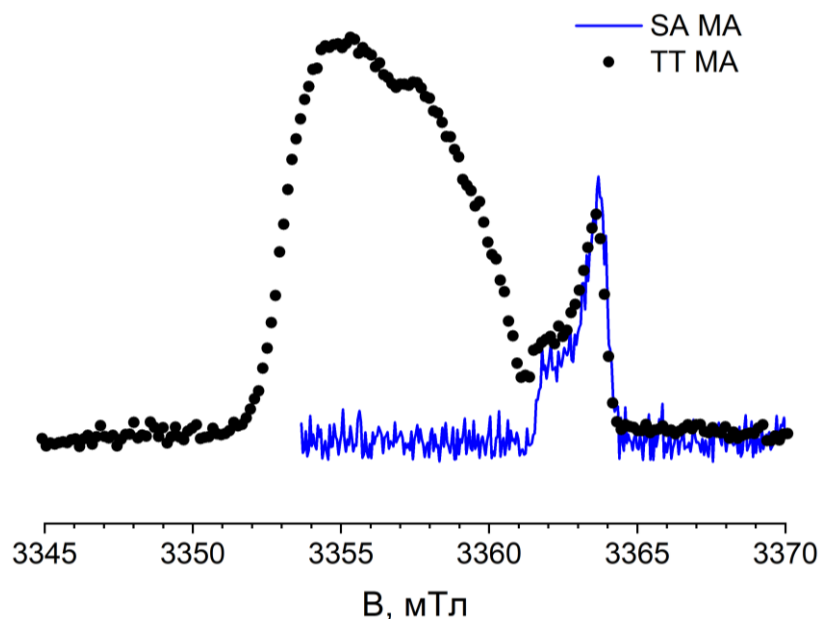


Рисунок 4.3 – ЭПР спектр механоактивированного глюконата кальция высокой степени очистки SA MA и TT MA [93] в W-диапазоне.

Интересно сравнить спектры механоактивированного глюконата кальция (Рис. 4.2. – SA MA) с ЭПР спектрами механоактивированного официального глюконата кальция (Тюменского химико-фармацевтического завода, в котором присутствуют эксципиенты (добавки), см. рис. 4.2. - TT MA [92]). Механоактивация официального КГ приводит к образованию как

радикалов R, так и радикалов на атомах углерода. Эксципиенты в данном случае играют роль ингибитора реакций рекомбинации для радикалов [92 – 94]. Отсюда следует вывод о том, что по-видимому, углеродные радикалы образуются и при механоактивации лабораторного КГ. Однако скорость реакций рекомбинации таких радикалов оказывается вполне достаточной для их полного исчезновения уже в процессе обработки в планетарно-шаровой мельнице. Таким образом, можно предполагать, что образование радикала R при механоактивации может происходить по тому же механизму что и при облучении образца глюконата кальция.

4.2. ЭПР исследование глюконата кальция механоактивированного и облученного

Как видно из рис. 4.3, в спектре механоактивированного КГ высокой степени очистки (SA MA) углеродные радикалы не наблюдаются. Для получения информации о структурных изменениях анионов глюконовой кислоты было проведено облучение SA MA в том же режиме, в котором облучался исходный образец КГ. ЭПР - спектры SA MA, облученного дозой 400Гр, показаны на рисунке 4.4.

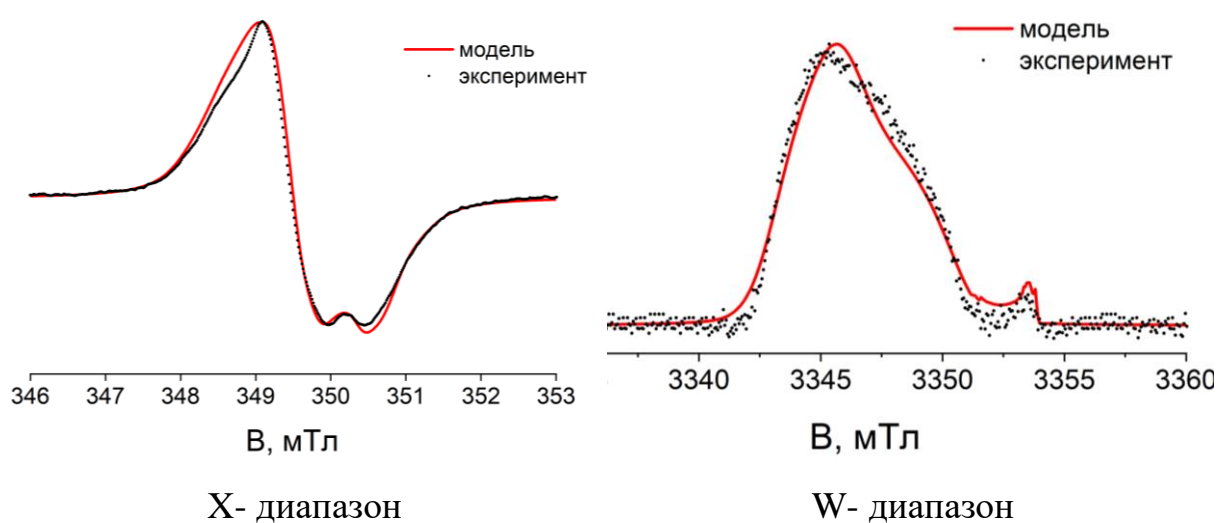


Рисунок 4.4 – ЭПР спектры механоактивированного глюконата кальция, подвергнутого облучению 400Гр.

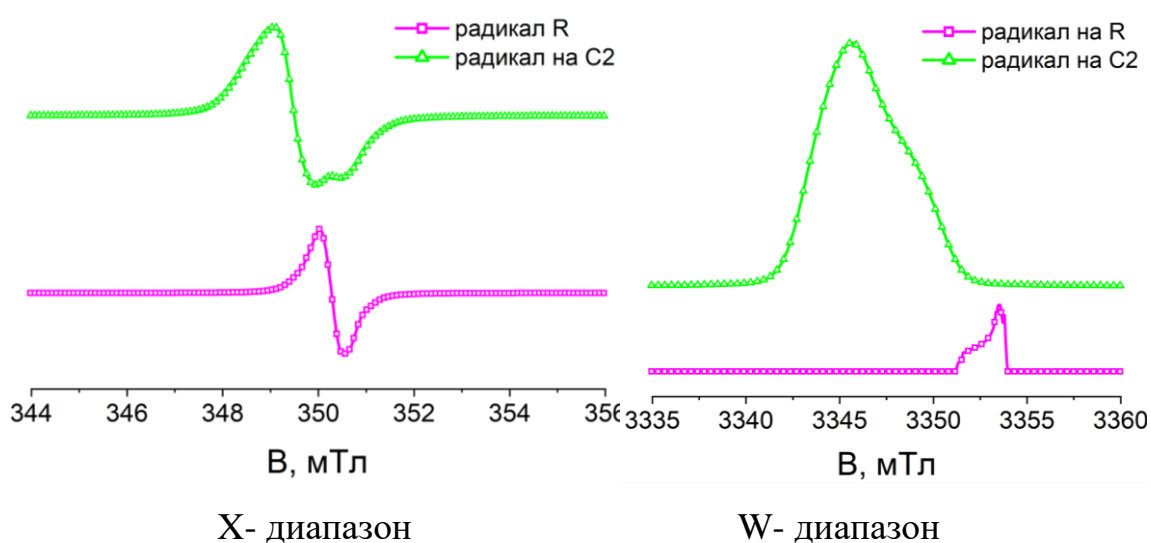
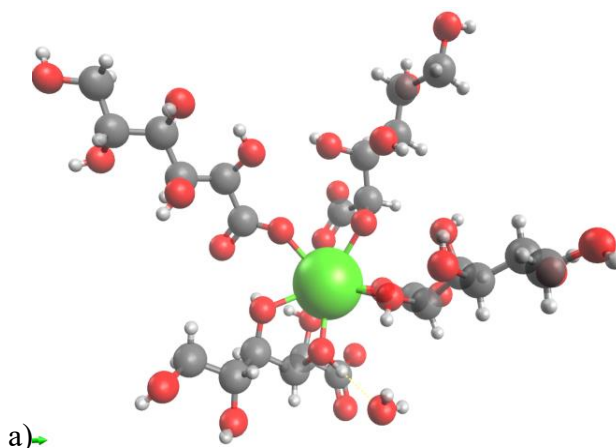
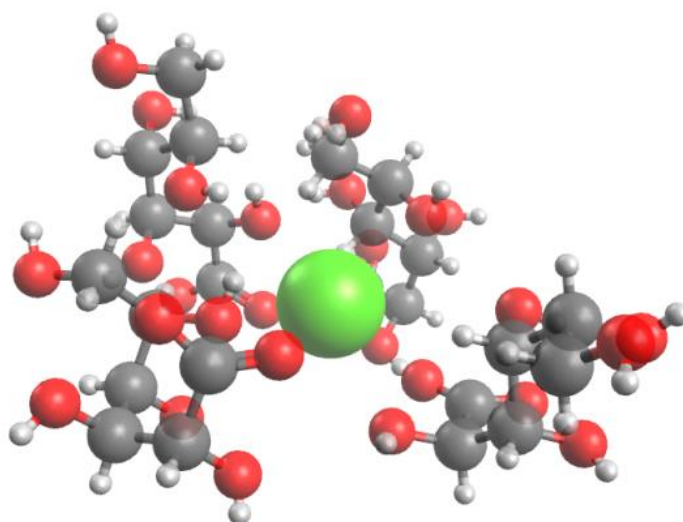


Рисунок 4.5 – Компоненты модельного спектра механоактивированного глюконата кальция, подвергнутого облучению 400Гр.

Видно, что при облучении образца SA MA наблюдаются стабильные радикалы на атомах углерода. Однако, спектр X-диапазона значительно уже по сравнению со спектром облученного немеханоактивированного образца. Анализ спектров ЭПР X- и W- диапазонов с использованием методов квантовой химии показал, что углерод-центрированные радикалы в данном случае локализованы в основном на C2 атомах. Тензор сверхтонкого взаимодействия $A = [6.8 \ 3.0 \ 35.1]$, изотропная часть которого составляет 15 МГц. Согласно соотношению Мак-Конелла, такому значению СТВ соответствует торсионный угол 68 градусов. Таким образом, данный торсионный угол при механоактивации не изменяется (см. таблица 3.4). На основании данного наблюдения можно сделать вывод, что часть аниона глюконовой кислоты вблизи атома кальция не изменяет своей структуры при механоактивации. К сожалению отсутствие стабильных радикалов локализованных на других атомах углерода не позволило нам рассчитать торсионные углы для фрагмента C3-C5. Однако, можно предположить, что невозможность стабилизации радикалов на атомах углерода C3-C5 может быть связана с изменением геометрии молекулы. Известно, что в глюконовой кислоте в результате поворота по оси C2-C3 на 120° осуществляется переход из линейной в изогнутую конформацию (1P в 3G+) [85]. Предположительно, при механоактивации глюконата кальция происходит именно такой процесс, благодаря чему накапливаются радикалы только на атомах C2 поскольку центральная часть молекулы «закрыта» изогнутыми анионами глюконовой кислоты (рис.4.6, б)).





б)

Рис. 4.6. а) Фрагмент структуры кристаллического КГ по данным рентгеноструктурного анализа [24]; б) - та же структура при повороте углов Н2 - С2 - С3 - Н3 на 120 градусов (приложение 2).

Модель молекулы механоактивированного глюконата кальция представлена на рис. 4.6, б). Координаты молекулы приведены в приложении 2).

Выводы по 4 главе

Было показано, что часть аниона глюконовой кислоты вблизи атома кальция сохраняет свою геометрию при механохимической обработке, в то время как фрагмент аниона глюконовой кислоты C3-C5 переходит в изогнутую конформацию. Построена модель молекулы механоактивированного глюконата кальция на основании предположения о переходе линейной конформации в изогнутую.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Определена молекулярная структура солей глюконовой кислоты в условиях γ -облучения на основе данных ЭПР-спектроскопии X-, Q- и W-диапазонов с привлечением также методов квантовой химии. Показано, что образуются стабильные углерод-центрированные радикалы, локализованные на атомах C2, C3, C4, C5. Определены параметры тензоров сверхтонкой структуры и g-тензоров данных радикалов.

2. На основании полученных магнитных параметров рассчитаны торсионные углы между p-орбиталями атомов углерода, на которых локализованы неспаренные электроны и направлениями связей C-H ближайших β -протонов. Установлено, что найденная структура глюконатов кальция и натрия близка к данным рентгеноструктурного анализа.

3. Анализ ^{13}C ЯМР и ИК спектров исходного и облученного глюконата кальция показал, что доза облучения 1000Гр не приводит к существенной деструкции молекулы.

4. Показано, что форма спектров ЭПР облученного глюконата кальция изменяется в зависимости от дозы облучения в интервале от 400 Гр до 1000Гр. В отличие от этого, спектры ЭПР облученного глюконата натрия дозовую зависимость не демонстрируют.

5. На основе данных ЭПР-спектроскопии установлена структура молекул в механоактивированном аморфном глюконате кальция. Показано, что часть молекулы, близкая к атому металла, при механохимической обработке сохраняет свою геометрию, в то время как фрагмент аниона глюконовой кислоты C3-C5 переходит в изогнутую конформацию.

ПУБЛИКАЦИИ АВТОРА ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных журналах:

[A1] The influence of gamma rays radiation on optically Induced luminescence of copper-containing potassium-lithium-borate glass / P.S. Shirshnev, V. A. Spiridonov, D. I. Panov, E. V. Shirshneva-Vaschenko, **A. R. Gafarova**, R. M. Eremina, A. E. Romanov, V. E. Bougrov // Materials Physics and Mechanics. – 2019. Vol.42. P. 198-203.

[A2] Study of Conformation of γ -Irradiated Calcium Gluconate by EPR / **A. R. Gafarova**, G. G. Gumarov, M. M. Bakirov, R. B. Zaripov, V. Yu. Petukhov. // Applied Magnetic Resonance. – 2021. – Vol.52. P. 571–580.

[A3] Quantum-Chemical Calculations in Studying the Conformation of γ -Irradiated Calcium Gluconate / **A. R. Gafarova**, G. G. Gumarov, M. M. Bakirov, M. Yu. Volkov, R. B. Zaripov, V. Yu. Petukhov // Applied Magnetic Resonance. – 2021. – Vol.52. P. 1739–1748.

[A4] Многочастотное ЭПР исследование радикалов, образующихся под действием γ -облучения и механоактивации в глюконате кальция / **А.Р. Гафарова**, Г.Г. Гумаров, Р.Б. Зарипов, Д.С. Рыбин, Г.Н. Коныгин // Химическая физика и мезоскопия. – 2024. – Vol.3. Принята в печать

Тезисы докладов и труды научных конференций:

[A5] Гафарова А.Р., Гоенко И.А., Гумаров Г.Г., Петухов В.Ю. Исследование конформации γ -облученного глюконата кальция методом ЭПР // Сборник материалов конференции «Материалы и технологии 21 века», Казань. – 2018. – С.22.

[A6] Гафарова А.Р. Конформационный анализ γ -облученного глюконата кальция методом ЭПР // Сборник материалов конференции «Молодежь и инновации Татарстана», Казань. – 2018. – С.21-22.

[A7] Gafarova A. R., Gumarov G. G., Goenko I. A., Bakirov M. M., Zaripov R. B., Petukhov V. Yu. Study of γ -Irradiated Calcium Gluconate by X- and Q-EPR

//Abstracts of the international conference «Modern development of magnetic resonance», Kazan. – 2018. – P.129.

[A8] Gafarova A. R., Gumarov G. G., Bakirov M. M., Petukhov V. Yu. EPR Study of γ -Irradiated Magnesium and Zinc Gluconates //Abstracts of the international conference «Magnetic Resonance — Current State and Future Perspectives», Kazan. – 2019. – P.111.

[A9] Gafarova A. R., Gumarov G. G., Bakirov M. M., Petukhov V. Yu. Study of Radiation Induced Radicals in Sodium Gluconate //Abstracts of the international conference «Magnetic Resonance — Current State and Future Perspectives», Kazan. – 2019. – P.112.

[A10] Gafarova A. R., Gumarov G. G., Bakirov M. M., Petukhov V. Yu. Identification of the Radiation-Induced Radicals in Calcium Gluconate // Abstracts of the international conference «Modern development of magnetic resonance», Kazan. – 2020. – P.112.

[A11] Gafarova A. R., Gumarov G. G., Bakirov M. M., Petukhov V. Yu. EPR study and DFT-Assisted identification of radicals in γ -irradiated calcium gluconate // Abstracts of the 18th International School-Conference «Spinus-2021», Saint-Petersburg. – 2021. – P. 199.

[A12] Gafarova A. R., Gumarov G. G., Zaripov R.B., Bakirov M. M., Petukhov V. Yu. DFT-Assisted study of torsion angles in γ -Irradiated Calcium Gluconate // Abstracts of the international conference «Modern development of magnetic resonance», Kazan. – 2021. – P.179.

[A13] Gafarova A.R., Gumarov G.G., Zaripov R.B., Bakirov M.M. Multifrequency EPR study and DFT-assisted identification of radicals in γ -irradiated sodium gluconate // Abstracts of the 19th International School-Conference «Spinus-2022», Saint-Petersburg. – 2022. – P. 202.

[A14] Gafarova A.R., Gumarov G.G., Zaripov R.B., Rybin D.S., Konygin G.N. W-band EPR investigation of mechanoactivated and γ -irradiated calcium gluconate // Abstracts of the international conference «Modern development of magnetic resonance», Kazan. – 2022. – P. 146.

[A15] Gafarova A.R., Gumarov G.G., Zaripov R.B., Rybin D.S., Konygin G.N. EPR study of mechanically activated calcium gluconate monohydrate irradiated with gamma quanta // Abstracts of the 20th International School-Conference «Spinus-2023», Saint-Petersburg. – 2023. – P.176.

[A16] Gafarova A.R., Gumarov G.G., Zaripov R.B., Rybin D.S., Konygin G.N. Calcium free radical formation at irradiation and mechanoactivation of calcium gluconate // Abstracts of the international conference «Magnetic Resonance – Current State and Future Perspectives (EPR-80) », Kazan. – 2024.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Recent advances in the aqueous chemistry of the calcium(II)-gluconate system – Equilibria, structure and composition of the complexes forming in neutral and alkaline solutions / B. Kutus, X. Gaona, A. Pallagi, I. Pálinkó, M. Altmaier, P. Sipos // *Coord. Chem. Reviews.* – 2020. – Vol. 417. – 213337.
2. Натрия глюконат. Регистр лекарственных средств России / [Электронный ресурс] / Режим доступа: <https://www.rlsnet.ru/active-substance/natriya-glyukonat-3167>.
3. Механохимически индуцированные структурные превращения в глюконатах калия, натрия и кальция / Д.С. Рыбин, Г.Н. Коньгин, В.Е. Порсев, Е.П. Елсуков, М.А. Ерёмкина, Д.Р. Шарафутдинова, Г.Г. Гумаров, В.Ю. Петухов, О.И. Гнездилов, М.М. Ахметов, К.М. Салихов, В.В. Болдырев // *Химическая физика и мезоскопия.* – 2013. – Т. 15, №3. – С.429-440.
4. Rybin, D.S. Formation of nanostructures in mechanoactivated molecular crystals / D.S. Rybin, G.N. Konygin, I.P. Arsenyeva, D.R. Sharafutdinova // *Химическая физика и мезоскопия.* – 2018. – Т. 20, №4. – P.558-561.
5. Механоактивированный лекарственный препарат кальция глюконат: рентгеноструктурные, микроскопические рентгеноэлектронные исследования / Г.Н. Коньгин, Ф.З. Гильмутдинов, С.Г. Быстров [и др.] // *Химия в интересах устойчивого развития.* – 2005. – №13. – С.249-252.
6. Исследование механоактивированного глюконата кальция методами ЭПР и ИК-спектроскопии / Г.Г. Гумаров, Г.Н. Коньгин, В.Ю. Петухов [и др.] // *Альманах клинической медицины.* – Москва: МОНИКИ, 2008. – С.47-50.
7. Нанодисперсная аморфная форма кальция глюконата: биохимическая совместимость и терапевтическая эффективность при лечении заболеваний, связанных с обменом кальция в организме / Н.С.

Стрелков, Г.Н. Коньгин, Д.С. Рыбин [и др.] // Альманах клинической медицины. – Москва: МОНИКИ, 2008. – С.366-370.

8. Кочетков, Н. К. Радиационная химия углеводов / Н. К. Кочетков, Л. И. Кудряшов, М. А. Членов – М.: Наука, 1978. - 288 с.

9. Изучение γ -облученных при 77К замороженных водных растворов полиолов в интервале температур 77-400К методом ЭПР / И.В. Никитин, И.В. Мирошниченко, Л.Н. Кудряшов [и др.] // Доклады АН СССР – т. 207 №4 – 1972 – С. 871-873.

10. Строение первичных радикальных продуктов, образующихся при γ -облучении поликристаллических полиолов и моносахаридов / И.В. Никитин, И.В. Мирошниченко, Л.И. Кудряшов [и др.] // Доклады АН СССР – т. 204 №2 – 1972 – С.387-389.

11. Макаров, И.Е. Исследование методом ЭПР фотопревращений радикалов в многоатомных спиртах, γ -облученных при 77К / И.Е. Макаров, Н.Б. Ершов // Известия АН СССР – т.191, №3 – 1970 – С.530-535.

12. Antoni, F. Radiation Sterilization in Medicine - Present Applications and Future Prospects / F. Antoni, G. Kozinets, G. Koeteles // Atomic Energy Review. - 4(3). - 1966. - P.39-61.

13. Радиационная стерилизация в медицине / В.В. Бочкарев, В.И. Вашков, Е.П. Павлов [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. - № 8. - 1973. - С. 56.

14. Вашков, В. И. Средства и методы стерилизации, применяемые в медицине / В.И. Вашков. - М.: Медицина, 2020. - 368 с.

15. Радиационная стерилизация лекарственных средств / Бочкарев В.В., Павлов Е.П., Хрущев В.Г. [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. - № 7. - 1972. - С. 31.

16. Ермольева, З.В. Использование ионизирующих излучений для стерилизации лечебных препаратов / Ермольева З.В., Почапинский В.И. // Мед. пром-сть СССР. - №1. - 1961. - С. 33.

17. Туманян, М.А. Радиационная стерилизация / Туманян М.А., Каушанский Д.А. // Медицина. - 1974. - С. 7-64.
18. Sosulin, I.S. Radiation-induced radicals in different polymorphic modifications of d-mannitol: Structure, conformations and dosimetric implications / I.S. Sosulin, E. S. Shiryayeva, V.I. Feldman // Radiation Physics and Chemistry. - №117. - 2015. - P.178-183.
19. Kusakovskij, J. Fourth stable radical species in X-irradiated solid state sucrose/ J. Kusakovskij, I. Caretti, S. Van Doorslaer, F. Callens, H. Vrielinck // Phys. Chem. Chem. Phys. – 2016. – № 18. - P. 10983-10991.
20. Глюконат кальция. Государственный реестр лекарственных средств. [Электронный ресурс] / Режим доступа: <http://grls.rosminzdrav.ru/>
21. Calcium Gluconate Pediatric Safety Review. US Food and drug administration. [Электронный ресурс] / Режим доступа: <https://www.fda.gov/media/130821/download>
22. A kinetic study on crystallization of calcium gluconate in external loop airlift column and stirred tank for an immobilized glucose oxidase reaction with crystallization / J.Bao, K.koumatsu, Y.Arimatsu, [at al.] // Biochemical Engineering Journal – 15 – 2003 – P. 177-184.
23. Optimal operation of an integrated bioreaction-crystallization process for continuous production of calcium gluconate using loop airlift columns / J.Bao, K.koumatsu, M.Yoshimoto, [at al.] // Chemical Engineering Science – 56 – 2001 – P. 6165-6170.
24. Crystal and solution structures of calcium complexes relevant to problematic waste disposal: calcium gluconate and calcium isosaccharinate / V. Bugris, Cs. Dudas, B. Kutus, [at al.] // Acta Crystallographica - 74(6) - 2018 - P. 598-609.
25. Болдырев, В.В. Методы получения и модификации лекарственных препаратов, основанные на достижениях химии твёрдого тела / В.В. Болдырев // Бюллетень СО РАМН. – 2000. – №2 (96). – С.143-148.

26. Boldyrev, V.V. Mechanochemical modification and sythesis of drugs / V.V. Boldyrev // Journal of materials science. – 2004. – Vol. 39. – P.5117-5120.

27. Boldyrev, V.V. Mechanochemistry and mechanical activation of solids / V.V. Boldyrev // Russian Chemical Reviews. – 2006. – Vol. 75, Issue 3. – P.177-189.

28. Пат. 2268053 Российская Федерация, МПК А61К 33/06, А61Р 19/10. Способ лечения гипокальциемий, остеопорозов, переломов / Коньгин Г.Н., Стрелков Н.С., Тюлькин Е.П., Поздеев В.В., Максимов П.Н., Филиппов А.Н., Шишкин С.Б., Гильмутдинов Ф.З., Дорофеев Г.А., Елсуков Е.П.; заявитель и патентообладатель Коньгин Григорий Николаевич. – № 2004113712/14; заявл. 05.05.2004; опубл. 20.01.2006, Бюл. № 02. – 4 с.: ил.

29. Pat. US8877810B2 United States, Int.Cl. A61K 31/19, C07C 59/105. Method for producing mechanically activated amorphous and amorphocrystalline compounds of gluconic acid calcium salt / Konygin G.N., Strelkov N.S., Rybin D.S., Pozdeev V.V., Yelsukov E.P., Sharafutdinova D.R., Efremov Yu.Ya., Petukhov V.Yu., Gumarov G.G.: assignees Konygin G.N., Strelkov N.S., Rybin D.S. – Appl.No. 12/669907; filed 30.01.2008; pub. 29.01.2009. – 16 p.

30. Биоусвояемая форма кальция глюконата с уникальными терапевтическими свойствами в профилактике и комплексном лечении костных и стоматологических заболеваний, обусловленных нарушением кальциевого обмена в организме / Н.С. Стрелков, Г.Н. Коньгин, В.В. Поздеев [и др.] // Нанотехника. – 2007. – Т. 10. – С.69-72.

31. Rybin, D.S. Deformation-induced formation of nanostructures in molecular crystals / D.S. Rybin, G.N. Konygin, I.P. Arsentyeva, D.R. Sharafutdinova // Materials Today: Proceedings. - 12. - 2019. - P.97–101.

32. Образование парамагнитных центров при механохимической обработке глюконата кальция / Г.Г. Гумаров, В.Ю. Петухов, Г.Н. Коньгин, [и др.] // Журнал физической химии. – 2013. – Т. 87, №9. – С.1578-1581

33. Изучение состава и структуры глюконата кальция и его механоактивированной (нанодисперсной) формы / Д.Р. Шарафутдинова,

Ю.Я. Ефремов, И.Х. Ризванов [и др.] // Журнал структурной химии. – 2010. – Т.51. – С.145-147.

34. Zaripov, R.B. Application of ESSEM to study structure of free radicals / R.B. Zaripov, R.M. Aminova, K.M. Salikhov // Applied magnetic resonance. – 2009. – Vol. 35, Issue 2. – P.337-358.

35. Lis, T. Structure of sodium d-gluconate / T. Lis // Acta Cryst. – 1984. – Vol. 40. – P.376-378.

36. Ратнер, Т.Г. Клиническая дозиметрия. Физико-технические основы / Т.Г. Ратнер, И.М. Лебедеенко – М.: НИЯУ МИФИ, 2017. – 260с.

37. Khan, F. M. The Physics of Radiation Therapy / F.M. Khan - Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2003. - 598 p.

38. Черняев, А. П. Ионизирующие излучения / А. П. Черняев - 4-е изд. – М.: КДУ, Университетская книга, 2021. - 314 с.

39. Черняев, А. П. Взаимодействие ионизирующего излучения с веществом / А. П. Черняев – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2004. - 152 с.

40. Swallow, A.J. Radiation chemistry of organic compounds / A.J. Swallow. - Oxford: Pergamon press, 1960. - 408 p.

41. Lund, A. Applications of EPR in Radiation Research / A. Lund, M. Shiotani. - London: Springer, 2014. - 773 p.

42. Дубинская, А.М. Превращения органических веществ под действием механических напряжений / А.М. Дубинская // Успехи Химии. – 1999. – Т.68, №8. – С.708-724.

43. Dubinskaya, A.M. Transformations of organic compounds under the action of mechanical stress / A.M. Dubinskaya // Rus. Chem. Rev. – 1989. – Vol. 68, Issue 8. – P.637-652.

44. Аввакумов, Е. Г. Механические методы активации химических процессов / Е.Г. Аввакумов. – Новосибирск: Наука, 1986. – 305 с.

45. Interaction d-gluconic acid of divalent metal ions with in the solid phase and aqueous solution / G. M. Escandar, J. M. Peregrin, M. G. Sierra [at al.]. // Polyhedron. - Vol. 15, No. 13. - 1996. - P. 2251-2261.

46. Kripal, R. EPR and optical absorption studies of Cr³⁺ ions in d-gluconic acid monohydrate / R. Kripal, P. Singh, H. Govind // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. - V. 74. - 2009. - P.357-362.
47. McConnell, H.M. Radiation damage in organic crystals I. CH(COOH)₂ in malonic acid / H.M. McConnell, C. Heller, T. Cole, R.W. Fessenden // *J. Am. Chem. Soc.* - 82. - 1960. - P.766 - 775.
48. McConnell, H.M. Spectroscopic splitting factors in aromatic radicals / H.M. McConnell, R.E. Robertson // *J. Phys. Chem.* - 61. - 1957. - P. 1018.
49. Bernhard, W.A. Alkoxy radical, RCH₂O, as a free-radical product in X-irradiated single crystals of nucleosides and nucleotides / W.A. Bernhard, D.M. Close, J. Hüttermann, H. Zehner // *J. Chem. Phys.* - 67. - 1977. - P. 1211–1219.
50. Samskog, P.O. The Alkoxy radical RCHO formed in irradiated single-crystals of rhamnose / P.O. Samskog, A. Lund // *Chem. Phys. Lett.* - 75. - 1980. - P.525–527.
51. Lee, J.Y. ESR and ENDOR studies of DL-serine irradiated at 4.2 K. / J.Y. Lee, H.C. Box // *J. Chem. Phys.* - 59. - 1973. - P. 2509–2512.
52. Box, H.C. Primary radiation damage in thymidine / H.C. Box, E.E. Budzinski // *J. Chem. Phys.* - 62. - 1975. - P.197–199.
53. Locher, S.E. ESR-ENDOR studies of X-irradiated glucose-1-phosphate dipotassium salt. / S.E. Locher, H.C. Box // *J. Chem. Phys.* - 72. - 1980. - P. 828–832.
54. McConnell, H.M. Theory of anisotropic hyperfine interactions in Pi-electron radicals. / H.M. McConnell, J. Strathdee // *Mol. Phys.* - 2. - 1959. - P. 129–138.
55. McConnell, H.M. Theory of isotropic hyperfine interactions in Pi-electron radicals. / H.M. McConnell, D.B. Chesnut // *J. Chem. Phys.* - 28. - 1958. - P. 107–117.
56. Bernhard, W.A. The use of alpha hyperfine coupling tensors as a measure of unpaired spin density and free radical geometry / W.A. Bernhard // *J. Chem. Phys.* - 81. - 1984 - P. 5928–5936.

57. Heller, C. Radiation damage in organic crystals. 2. Electron spin resonance of $(\text{CO}_2 \text{ H})\text{CH}_2 \text{ CH}(\text{CO}_2 \text{ H})$ in beta-succinic acid. / C. Heller, H.M. McConnell // *J. Chem. Phys.* – 32 – 1960 – P.1535–1539.
58. Morton, J.R. Electron spin resonance of oriented radicals / J.R. Morton // *Chem. Rev.* – 64 – 1964 – P. 453–471.
59. Bernhard, W.A. ESR of X-irradiated single-crystals of 3'-cytidylic acid-hydrogen abstraction from C5' of sugar moiety / W.A. Bernhard, D.M. Close, K.R Mercer, J.C .Corelli // *Radiat. Res.* – 66 – 1976 – P.19–32.
60. Gerson, F. Electron paramagnetic resonance: Elementary theory and applications. / F. Gerson, J. A. Weil, J. R. Bolton J. E. Wertz. - New York: Wiley-interscience, 1994. - 568 p.
61. Vestad, T.A. Radiation-induced radicals in lithium formate monohydrate ($\text{LiHCO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$). EPR and ENDOR studies of X-irradiated crystal and polycrystalline samples. / T.A. Vestad, H. Gustafsson, A. Lund, E.O. Hole, E. Sagstuen // *Phys. Chem.* – 6 – 2004 – P.3017–3022.
62. Ko, C.L. Exchangeable proton couplings in free-radicals-radiation products of hydroxyproline HCl. / C.L. Ko, H.C. Box // *J. Chem. Phys.* – 68 – 1978 – P. 357–5362
63. Electron Magnetic Resonance and Density Functional Theory Study of Room Temperature X-Irradiated beta-D-Fructose Single Crystals / M. Tarpan, E. Pauwels, H. Vrielinck, M. Waroquier, F. Callens // *The Journal of Physical Chemistry* - 114(47) - 2010 - P. 12417-26.
64. Tarpan, M.A. Determination of the g tensors for the dominant stable radicals in X-irradiated beta-D-fructose single crystals. / M.A. Tarpan, H. Vrielinck, H. De Cooman, F. Callens // *J. Phys. Chem.* – A 113 – 2009 – P.7994–8000.
65. Paquet, E. Computational Methods for Ab Initio Molecular Dynamics / E. Paquet, H.L. Viktor // *Advances in Chemistry* – 2018 - P. 1-14.
66. Цирельсон, В. Г. Квантовая химия. Молекулы, молекулярные системы и твердые тела / В. Г. Цирельсон. - М.: Бином, 2009. - 552 с.

67. Расчетные методы конформационного анализа углеводов / А.Г. Гербст, А.А. Грачев, А.С. Шашков, Н.Э.Нифантьев // Биоорганическая химия. - т.33, №1. - 2007. - С. 28-43.
68. Гончаров, А.И. Справочник по химии /А.И. Гончаров, М.Ю. Корнилов – Киев: 1978. - 308 с.
69. Кульбах, В.О. Фармацевтическая химия / В.О. Кульбах. – Ленинградское отделение: Медицина, 1966. – 761 с.
70. Calcium gluconate monohydrate [Электронный ресурс] / Режим доступа: <https://www.sigmaaldrich.com/RU/en/product/sial/phr2670>
71. Большой словарь медицинских терминов / сост. В.Д. Федотов. – Москва: Центрполиграф, 2007. – 959 с.
72. Sodium gluconate [Электронный ресурс] / Режим доступа: <https://www.sigmaaldrich.com/RU/en/substance/sodiumgluconate21814527071>
73. FC65-G / FC65-P Ionization Chambers. IBA dosimetry. [Электронный ресурс] / Режим доступа: <https://www.iba-dosimetry.com/product/fc65-g-fc65-p-ionization-chambers>
74. Dose 1 / Dose 1 Reference Class Electrometer. IBA Dosimetry. [Электронный ресурс] / Режим доступа: <https://www.iba-dosimetry.com/product/dose-1>.
75. Corrigendum: Monte Carlo calculation of beam quality correction factors in proton beams using TOPAS/GEANT4/ К.S. Baumann, S.Каура, С. Bach, R. Engenhardt-Cabillic, K. Zink // Phys. Med. Biol. – 2020. – 65. – 119501
76. Planetary micro mill: Pulverizette 7. Fritsch. [Электронный ресурс] /Режим доступа: <https://www.fritsch-international.com/sample-preparation/milling/planetary-mills/details/product/pulverisette-7-classic-line/>
77. Stoll, S. EasySpin, a comprehensive software package for spectral simulation and analysis in EPR / S. Stoll, A. Schweiger // Journal of Magnetic Resonance. – 2006. – Vol. 178, Issue 1. – P.42–55.
78. Nelder, J.A. A simplex method for function minimization / J. A. Nelder, R. Mead // The Computer Journal. - 7(4) – 1965 - P.308-313.

79. Neese, F. The ORCA program system / F. Neese // Wiley Interdisciplinary Reviews. - 2(1). - 2011. - P. 73-78.
80. Nagy, A. Density functional. Theory and application to atoms and molecules / A. Nagy // Physics Reports. – 1998. – V. 298. – P.1-79.
81. Neese, F. Software update: the ORCA program system, version 4.0 / F. Neese // Wiley Interdisciplinary Reviews. - 8. - 2017. - P.e1327.
82. Tao, J. Climbing the Density Functional Ladder: Nonempirical Meta-Generalized Gradient Approximation Designed for Molecules and Solids / J. Tao, J. P. Perdew, V. N. Staroverov, G. E. Scuseria // Phys. Rev. Lett.. - 91. - 2003. - P. 146401.
83. Dunning, T.H. Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. I. The atoms boron through neon and hydrogen / T.H. Dunning // J. Chem. Phys. – 90 – 1989 – P.1007-1023.
84. Snyder, H. D. Computational Chemistry Activities with Avogadro and ORCA / H. D. Snyder, T. G. Kucukkal // J. Chem. Educ. - 98(4). - 2021. - C. 1335–1341.
85. Horton, D. Conformations of D-gluconic, D-mannonic, and D-galactonic acids in solution, as determined by n.m.r. spectroscopy / D. Horton, Z. Walaszek, I. Ekiel // Carbohydrate Research. – 1983. –Vol. 119. – P.263-268.
86. Labuschagne, F. J. W. J. Metal catalysed intumescence: characterisation of the thermal decomposition of calcium gluconate monohydrate / F.J.W.J. Labuschagne, W.W. Focke // Journal of materials science. – 2003. – Vol. 38, Issue 6. – P.1249-1254
87. Dechapinan S. Calcium from Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Shells: Properties and Function as Fortificant in Soy Milk / S. Dechapinan, K. Judprasong, N. Onnom, N. Tangsuphoo // Food and Applied Bioscience Journal. - № 5(3). - 2017. - P.176-195.
88. Бажин, Н. М. Сверхтонкая структура спектров ЭПР свободных радикалов: Курс лекций. Ч. 1 / Н. М. Бажин, Ю. Д. Цветков: НГУ, 1971. - 186 с.

89. Crystal structure and thermodynamic properties of the coordination compound calcium D-gluconate $\text{Ca}[\text{D-C}_6\text{H}_{11}\text{O}_7]_2(\text{s})$ / Y.Ying, G.C. Zhang, Y.P. Liu, Y.X. Kong, C.Sh. Zhou // *Journal of Molecular Structure*. - № 1225. - 2021. - P. 128818.

90. Rokhmistrov D.V. Study of structure of calcium phosphate materials by means of electron spin resonance / D.V. Rokhmistrov, O.T. Nikolov, O.A. Gorobchenko, K.I. Loza // *Applied Radiation and Isotopes*. – № 70. – 2012. – P. 2621-2626.

91. Radiation-Induced Stable Radicals in Calcium Phosphates: Results of Multifrequency EPR, EDNMR, ESEEM, and ENDOR Studies / F.F. Murzakhanov, P.O. Grishin, M.A. Goldberg, B.V. Yavkin, G.V. Mamin, S.B. Orlinskii, A.Y. Fedotov, N.V. Petrakova, Antuzevics, A.; Gafurov, M.R.; [et al.] // *Appl. Sci.* – №11 – 2021. – P.7727

92. The Structure of Radicals in Mechanically Activated Calcium Gluconate / M.M. Akhmetov, G.G. Gumarov, V.Yu. Petukhov, R.B. Zaripov, D.S. Rybin, G.N. Konygin / *Modern development of magnetic resonance: Abstracts of the international conference (Kazan, November 1-5, 2021)*. – Kazan, 2021. – P.155-156.

93. W-band EPR and Quantum-Chemical Calculation of Radicals in Calcium Gluconate / M.M. Akhmetov, G.G. Gumarov, R.B. Zaripov, D.S. Rybin, G.N. Konygin / *Modern development of magnetic resonance: Abstracts of the international conference – Kazan, 2022*. – P.131-132.

94. Исследование влияния эксципиентов на образование парамагнитных центров при механоактивации глюконата кальция / М.М. Ахметов, Г.Г. Гумаров, В.Ю. Петухов, Г.Н. Коныгин, Д.С. Рыбин, Е.П. Жеглов / *Сборник материалов III Евразийского конгресса по медицинской физике и инженерии, Москва, 21-25 июня 2010 г.* – М., 2010. – Т.3. – С.305-307.

БЛАГОДАРНОСТИ

В заключении автор работы выражает благодарность научному руководителю, заведующему лабораторией радиационной химии и радиобиологии, к.ф.-м.н. Гумарову Габдрауфу Габдрашитовичу за научное руководство и постановку задачи, а также первому научному руководителю д.ф.-м.н. Петухову Владимиру Юрьевичу.

Автор благодарит за помощь сотрудников лаборатории спиновой физики и спиновой химии КФТИ КазНЦ РАН Зарипова Р. Б., Волкова М. Ю., Бакирова М. М., за помощь в освоении экспериментальной техники электронного парамагнитного резонанса, проведения исследований методами магнитной радиоспектроскопии, а также за плодотворное обсуждение полученных результатов. Сотрудников ФТИ УдмФИЦ УрО РАН (г. Ижевск) к.ф.-м.н. Коньгина Г.Н. и к.ф.-м.н. Рыбина Д.С. за предоставленные образцы механоактивированного глюконата кальция, а также проведения исследований методом ИК-спектроскопии.

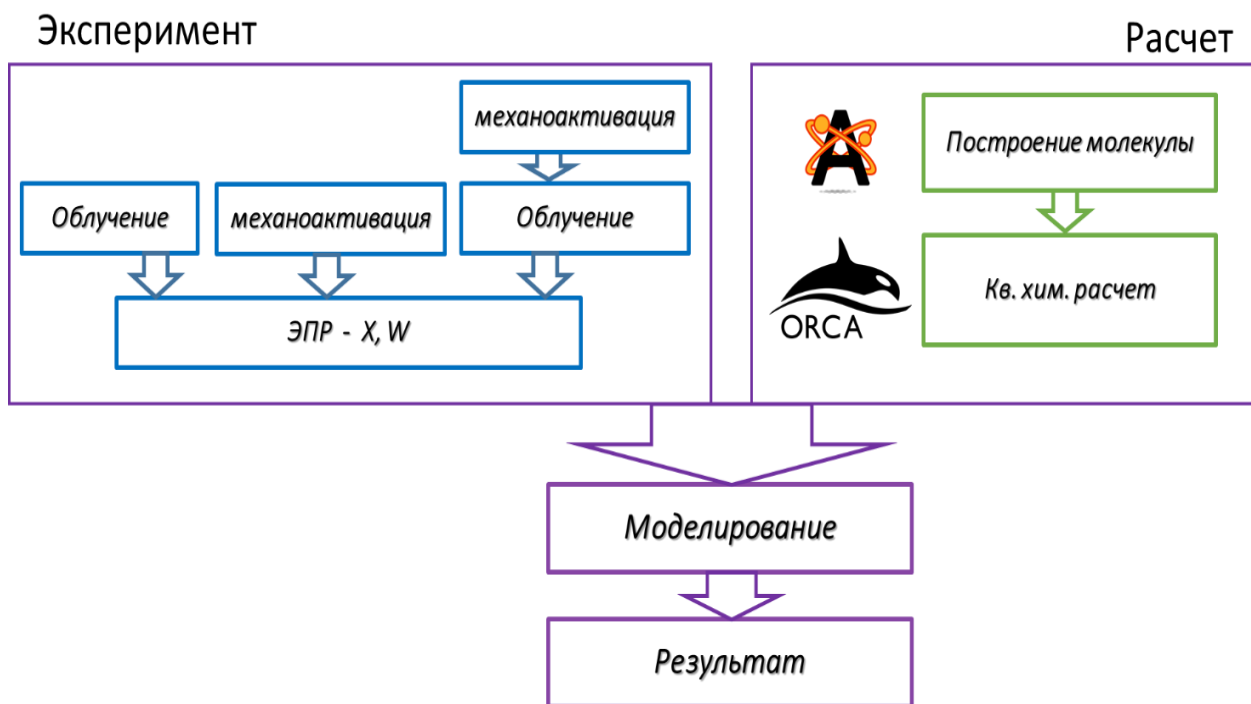
Всему коллективу лаборатории радиационной химии и радиобиологии КФТИ КазНЦ РАН за обсуждение полученных результатов и теплую дружескую атмосферу.

Особую признательность хочется выразить моей семье за поддержку во всех начинаниях и создание теплой, благоприятной атмосферы.

Работа частично поддержана грантом РФФИ № 20-33-90201.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Блок-схема методики исследования солей глюконовой кислоты



ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Ca	1.78767	3.28196	8.95873
O	-0.02181	4.93616	9.35625
O	-0.59233	7.07429	9.71899
O	2.05695	5.49371	7.97157
H	2.78547	5.74255	7.66316
O	2.71043	7.30829	10.06198
H	2.52370	7.78993	10.66511
O	4.17358	7.24187	7.76596
H	4.57757	7.27007	8.49378
O	2.70144	10.51207	8.36772
H	2.92642	11.16971	8.77521
O	5.33213	11.25778	7.43704
H	5.69176	11.48243	6.70747
C	0.13417	6.16887	9.19814
C	1.25749	6.62819	8.26609
H	0.84584	6.95187	7.41417
C	2.07964	7.76588	8.86335
H	1.47308	8.53030	9.08205
C	3.15899	8.24284	7.88929
H	2.72976	8.34869	6.99242
C	3.77482	9.59302	8.26805
H	4.24815	9.52072	9.14596
C	4.75732	9.97991	7.17496

H	5.47510	9.30021	7.12102
H	4.28902	10.00142	6.30310
O	-2.55720	3.64760	8.33958
O	-2.27865	3.43163	6.12369
O	-0.51749	2.02172	8.85690
H	-0.44299	1.36848	9.14654
O	0.86162	3.18627	6.73326
H	0.71147	3.76600	6.17001
O	1.95453	1.14183	7.78434
H	2.03373	0.54258	8.28661
O	1.06499	0.41977	4.33933
H	1.54376	0.42631	3.72311
O	3.45486	-1.04120	4.47751
H	3.10765	-1.78143	4.14135
C	-2.03319	3.13161	7.30825
C	-1.04264	1.97388	7.52127
H	-1.53805	1.11243	7.40948
C	0.10659	1.99927	6.51730
H	-0.25714	1.99392	5.58584
C	1.07432	0.82563	6.70356
H	0.55515	0.00147	6.92988
C	1.93278	0.55889	5.46936
H	2.55773	1.32558	5.32180
C	2.73077	-0.72273	5.66441
H	3.36243	-0.60887	6.41802

H	2.11588	-1.46577	5.88740
O	0.69852	5.12807	4.88637
H	1.48335	5.36702	5.02474
H	0.11410	5.73053	5.21236
Ca	5.14366	3.40009	10.58517
O	3.33418	1.74589	10.18765
O	2.76366	-0.39224	9.82491
O	5.41294	1.18834	11.57233
H	6.14146	0.93950	11.88074
O	6.06642	-0.62624	9.48192
H	5.87969	-1.10788	8.87879
O	7.52957	-0.55982	11.77794
H	7.93356	-0.58802	11.05012
O	6.05743	-3.83002	11.17618
H	6.28241	-4.48767	10.76869
O	8.68812	-4.57573	12.10686
H	9.04775	-4.80038	12.83643
C	3.49016	0.51318	10.34576
C	4.61348	0.05386	11.27781
H	4.20183	-0.26982	12.12973
C	5.43563	-1.08383	10.68055
H	4.82907	-1.84826	10.46185
C	6.51498	-1.56079	11.65461
H	6.08575	-1.66664	12.55148
C	7.13081	-2.91097	11.27585

H	7.60414	-2.83867	10.39794
C	8.11331	-3.29786	12.36894
H	8.83109	-2.61816	12.42288
H	7.64501	-3.31938	13.24080
O	0.79879	3.03445	11.20432
O	1.07734	3.25042	13.42021
O	2.83850	4.66033	10.68699
H	2.91300	5.31357	10.39736
O	4.21761	3.49578	12.81064
H	4.06746	2.91605	13.37389
O	5.31052	5.54022	11.75956
H	5.38972	6.13947	11.25729
O	4.42098	6.26228	15.20457
H	4.89974	6.25573	15.82079
O	6.81085	7.72325	15.06639
H	6.46364	8.46348	15.40255
C	1.32280	3.55044	12.23565
C	2.31335	4.70817	12.02262
H	1.81794	5.56962	12.13442
C	3.46258	4.68278	13.02660
H	3.09885	4.68813	13.95806
C	4.43031	5.85642	12.84034
H	3.91114	6.68058	12.61402
C	5.28877	6.12316	14.07454
H	5.91372	5.35646	14.22210

C	6.08676	7.40478	13.87949
H	6.71842	7.29092	13.12588
H	5.47187	8.14782	13.65650