



УДК 541.183

Хромато-масс-спектрометрическое исследование термодесорбции иммобилизованных биологически активных соединений

Полунин К.Е., Войтова В.М., Буряк А.К., Ульянов А.В., Полунина И.А.

УРАН Институт физической химии и электрохимии им. А.Н.Фрумкина РАН, Москва

Поступила в редакцию 17.07.2009 г.

Аннотация

Методами хромато-масс-спектрометрии и термодесорбционной масс-спектрометрии изучены процессы термодесорбции различных биологически активных соединений, иммобилизованных на поверхности дисперсных неорганических носителей. Исследован механизм и кинетика десорбции, деструкции и термоокислительного катализа биоактивных соединений, содержащих amino-, карбокси- и гидроксигруппы, ароматические и гетероциклические фрагменты.

Ключевые слова: хромато-масс-спектрометрия, термодесорбция, биологически активные вещества.

The thermal desorption of different biological active substances immobilized on the surfaces of inorganic salts and oxides (calcium hydroxyapatite, titania, alumina and silica) have been studied by GS-MS and TDMS (thermal desorption mass-spectrometry). It was investigated the processes of desorption, destruction and thermal oxidative catalysis of biological active substances containing amine-, carboxy- and hydroxy- groups, aromatic and heterocyclic fragments.

Key words: GS-MS, thermal desorption, biological active substances.

Введение

Комплексы биомолекул с ионами металлов, оксидами и солями являются действующим началом многих современных лекарственных препаратов [1-10]. Разнообразные минеральные пигменты и наполнители, стабилизаторы и загустители входят в Международную фармакопею и используются как вспомогательные вещества при изготовлении лекарственных форм, которые широко применяются в медицине, стоматологии, производстве косметических и фармацевтических препаратов [2]. В последнее время все больший интерес в фармакологии вызывают лекарства, иммобилизованные на носителях, и лекарства пролонгированного действия [4, 5]; развивается новая наука – биосенсорика, изучающая отклики молекул-зондов, закрепленных на неорганических частицах-маркерах при взаимодействии с молекулами-мишенями [7, 8].

Исследованию взаимодействия биомолекул с твердой фазой уделяется огромное внимание во всем мире в связи с большой практической значимостью этой

проблемы. В литературе накоплен богатый экспериментальный материал о физико-химических свойствах различных металлов, оксидов и солей, происходит постоянное развитие и углубление представлений о характере взаимодействия с ними модельных органических соединений. Особенную актуальность приобретают эти сведения в связи с развитием нанобиотехнологии [8], целью которой является получение новых функциональных материалов типа «неорганический наноблок – биомолекула» и применение биоконъюгатов в биоэлектронике и медицине, вирусологии и иммунологии. Однако исследований, посвященных изучению особенностей и закономерностей поведения реальных лекарственных соединений на межфазных поверхностях, очень мало: экспериментальные трудности при изучении полифункциональных молекул, способных мгновенно откликаться на изменение окружающей среды и внешние воздействия путем разнообразных обратимых и необратимых превращений, усугубляются недостаточной чувствительностью методов исследования поверхностных явлений и адсорбционно-десорбционных процессов. В этом плане огромное преимущество имеет метод хромато-масс-спектрометрии, который позволяет не только качественно и количественно оценить изменения, происходящие с биомолекулой в процессе иммобилизации на носителе, но и исследовать кинетику десорбции биопрепарата, идентифицировать продукты десорбции и деструкции, изучить возможность каталитических превращений, т.е. получить сведения, необходимые для получения лекарственных препаратов с заданными свойствами и дальнейшего прогнозирования их поведения в биологических средах [6, 7]. Кроме того, результаты исследования влияния влаги, температуры, света и радиации на стабильность и активность композита, полученные методом термодесорбционной масс-спектрометрии, позволяют сформулировать рекомендации по срокам и условиям хранения препаратов.

Целью данной работы являлось исследование методами хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) процессов термодесорбции различных биологически активных соединений, иммобилизованных на поверхности неорганических высокодисперсных носителей.

Эксперимент

В качестве матриц-носителей использованы гидроксипатит кальция, оксиды титана, кремния и алюминия, обладающие высокой термической и биологической устойчивостью, биосовместимостью и физиологической инертностью, микробиологической и радиационной устойчивостью [2, 3]. Гидроксипатит кальция был получен синтетическим путем [9]. Его удельная поверхность $12 \text{ м}^2/\text{г}$. Оксид титана, как и гидроксипатит кальция, широко применяются в качестве ортопедических имплантантов, наполнителей полимерных костных и стоматологических цементов. Они также используются как носители для антибиотиков и противовоспалительных лекарств [5, 8], что снижает токсичность антибиотиков, обеспечивает их пролонгированное действие, повышается стабильность и уменьшается вероятность образования резистентных форм микроорганизмов при взаимодействии с ферментами. Аэрогели оксидов титана, кремния и алюминия фирмы Degussa часто используются как вспомогательные вещества и пигменты при создании фармацевтических и косметических препаратов. Их удельная поверхность, определенная по низкотемпературной адсорбции азота (метод БЭТ), составляет 55, 300 и $100 \text{ м}^2/\text{г}$, соответственно.

Модифицирование порошков биологически активными соединениями осуществлялось из 1% растворов в органических растворителях (гексан, толуол, этилацетат, диэтиловый эфир) в расчете на монослойное покрытие. Модифицированные порошки высушивались на воздухе при 22°C. Спектры ТДМС регистрировались в интервале температур 30 – 800°C на масс-спектрометре Varian MAT-311A с пиролитической ячейкой и на хромато-масс-спектрометре JMS-D 300 (Jeol, Япония) с компьютером JMA-2000 и хроматографом HP 5890 (капиллярная колонка DB-5 размером 30 м × 0.53 м) в интервале 30 – 400°C. В качестве газ-носителя применялся гелий ($v = 5$ мл/мин). В обоих случаях энергия ионизирующих электронов составляла 70 эВ, ускоряющее напряжение – 3 эВ, температура ионизационной камеры – 150°C.

При термодесорбционных исследованиях образец массой 1–5 мг помещался в кварцевый капилляр (пиролизер), непосредственно присоединенный к ионному источнику хромато-масс-спектрометра. Пиролизер нагревался с линейной скоростью от 2 до 50°C в минуту. Время регистрации спектров составляло от 2 до 10 с в диапазонах массовых чисел 10 – 300 m/z или 40 – 800 m/z , где m/z (M/z) – отношение массы осколочных (молекулярных) ионов к их заряду. Идентификация соединений осуществлялась на основании закономерностей фрагментации органических соединений под электронным ударом [10, 11]. Полученные результаты были представлены в виде кривых полного ионного тока, масс-спектров всех продуктов термодесорбции и масс-хроматограмм по отдельным, характерным для исследуемого вещества ионам. Из кривой полного ионного тока были выделены кривые термодесорбции для основных фрагментных ионов различных веществ, присутствующих на поверхности, а также продуктов их взаимодействия и пиролиза. Расчеты энергий активации десорбции проводились по методикам, изложенным в [12, 13].

В качестве модельных биоактивных соединений использовались простейшие первичные амины, карбоновые кислоты, стильбены, гетероциклические соединения.

Обсуждение результатов

Исследование взаимодействий на границе раздела фаз проводится, как правило, с использованием комплекса различных физико-химических методов. Изучение процессов десорбции, деструкции и катализа биоактивных соединений, адсорбированных на поверхности твердой дисперсной фазы, удобно проводить с помощью методов хромато-масс-спектрометрии и термодесорбционной масс-спектрометрии. Это существенно расширяет возможности идентификации образующихся продуктов, позволяет детально исследовать механизмы и энергетику межмолекулярных взаимодействий на межфазных границах, устанавливать корреляции между квантово-химическими свойствами молекул и наблюдаемыми макроскопическими изменениями, получать информацию о свойствах модифицирующих слоев [12, 13].

Иммобилизация биосоединений на поверхности твердой дисперсной фазы может осуществляться путем адсорбции, химической сборки, механохимической прививки, а также путем прессования смешанных порошковых композиций в таблетки и нанесения пигментированных оболочек на основе оксидов титана, цинка или железа. Существуют многообразные формы адсорбционного взаимодействия органических соединений с поверхностью адсорбентов. В качестве предельных случаев рассматривают физическую и химическую адсорбцию. Физически

адсорбированные молекулы не теряют свою индивидуальность и могут десорбироваться в исходном виде. Хемосорбированные на поверхности молекулы теряют свою индивидуальность и могут десорбироваться только в виде продуктов реакции. Для иммобилизованных лекарственных препаратов физическая адсорбция предпочтительнее, т.к. образование новой химической связи может изменить биологическую активность действующего вещества. Однако даже в процессе физической адсорбции может измениться геометрическая конфигурация, оптическая активность, конформация биомолекулы. Поэтому необходимым условием создания иммобилизованных препаратов является сохранение биологической активности лекарства при его десорбции с поверхности.

Методами ИК-фурье-спектроскопии и хромато-масс-спектрометрии нами были исследованы на гидроксиапатите процессы адсорбции и десорбции терапевтических агентов, обладающих одновременно остеоиндуктивным и противовоспалительным действием – синтетического производного 1,3-тиазинона (4-хлоранилида 5,6-дигидро-2-метилимино-3-метил-1,3-тиазин-4-он-6-карбоновой кислоты) и лекарственного средства эстрола (диэтилстильбэстрола, или *транс*-4,4'-дигидрокси- α,α' -диэтилстильбена) с высокой эстрогенной активностью (рис. 1а).

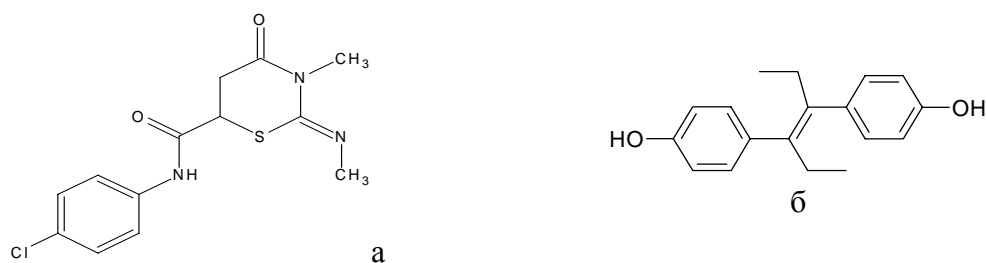


Рис. 1. Структура молекул 4-хлоранилида 5,6-дигидро-2-метилимино-3-метил-1,3-тиазин-4-он-6-карбоновой кислоты (а) и *транс*-4,4'-дигидрокси- α,α' -диэтилстильбена (б).

Методом ИК-фурье-спектроскопии в [9] наблюдалась некоторая деформация молекулы производного 1,3-тиазинона при его адсорбции на энергетически и геометрически неоднородной поверхности гидроксиапатита кальция, которая могла бы привести к перераспределению электронной плотности и сдвигу таутомерных равновесий, характерных для замещенного тиазинона, изменению функциональности молекулы, и в свою очередь, к нежелательному изменению терапевтического эффекта лекарственного соединения. Однако результаты исследования продуктов десорбции иммобилизованного лекарства, полученные методом хромато-масс-спектрометрии, подтвердили сохранение его первоначальной структуры и функциональности, что позволило рекомендовать препарат для дальнейших медико-биологических испытаний в качестве имплантационного материала комбинированного действия.

Аналогичные результаты, т.е. идентичность адсорбированной и десорбированной формы лекарства эстрола (диэтилстильбэстрола), были получены методом хромато-масс-спектрометрии при исследовании комплекса гидроксиапатит кальция – диэтилстильбэстрола (рис. 1б). При исследовании десорбции более простого аналога эстрола – *транс*-4-гидроксистильбена, оказалось, что около 3% *транс*-изомера этого соединения на поверхности гидроксиапатита превращается в *цис*-изомер. Таким образом, использование этого соединения в композитах нежелательно, т.к. в литературе имеются сведения о влиянии *цис*-изомеров стильбеноидов на рост раковых клеток [8].

Методом ИК-спектроскопии была изучена адсорбция гидрокси- и метоксипроизводных стильбена на оксидах кремния, титана и алюминия, и обнаружены разнообразные поверхностные структуры [14-15]. Сочетание термодесорбции с хромато-масс-спектрометрическим анализом продуктов десорбции позволило разделить полосы поглощения, принадлежащие обратимо и необратимо адсорбированным соединениям, а также исследовать кинетику разрушения адсорбционных слоев стильбеноидов на оксидах [16].

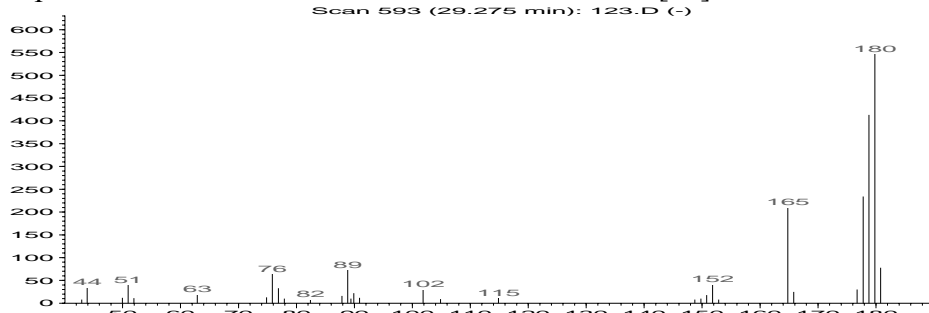


Рис. 2. Масс-спектр *транс*-стильбена, десорбированного с TiO_2 при 100°C .

На рис. 2 приведен масс-спектр продуктов термодесорбции с поверхности TiO_2 , модифицированного *транс*-стильбеном из *n*-гексана. Методом термодесорбционной масс-спектрометрии было показано, что при $100\text{--}300^\circ\text{C}$ с поверхности TiO_2 десорбируется только исходный стильбен в молекулярной форме (отношение массы молекулярного иона к заряду M/z 180). Масс-термограмма молекулярного иона стильбена, т.е. зависимость интенсивности его выделения от температуры десорбции, приведена на рис. 3. Она имеет вид почти гауссовой кривой с максимумом при 180°C . Методом характеристических точек были рассчитаны кинетические параметры процесса: энергия активации десорбции $E_A = 110$ кДж/моль и порядок реакции $n = 3$, что характерно для разрыва водородных и координационных связей.

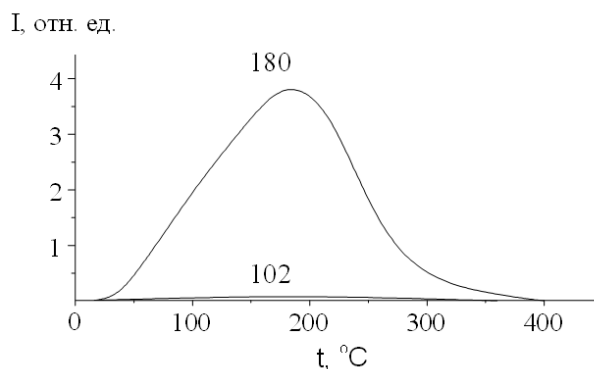


Рис. 3. Масс-термограмма молекулярного иона *транс*-стильбена M/z 180, десорбированного с поверхности TiO_2 ($v = 20^\circ\text{C}/\text{мин}$).

При температурах $100\text{--}350^\circ\text{C}$ *транс*-4-метоксистильбен десорбируется с TiO_2 в молекулярной форме, тогда как *транс*-4-гидроксистильбен прочно удерживается на поверхности.

Адсорбция биоактивных полигидроксистильбенов (*транс*-изомеров резвератрола и пицеатаннола) на поверхности аэросила протекает обратимо с образованием водородных связей, однако в продуктах десорбции методом хромато-масс-спектрометрии обнаруживаются следы *цис*-изомеров.

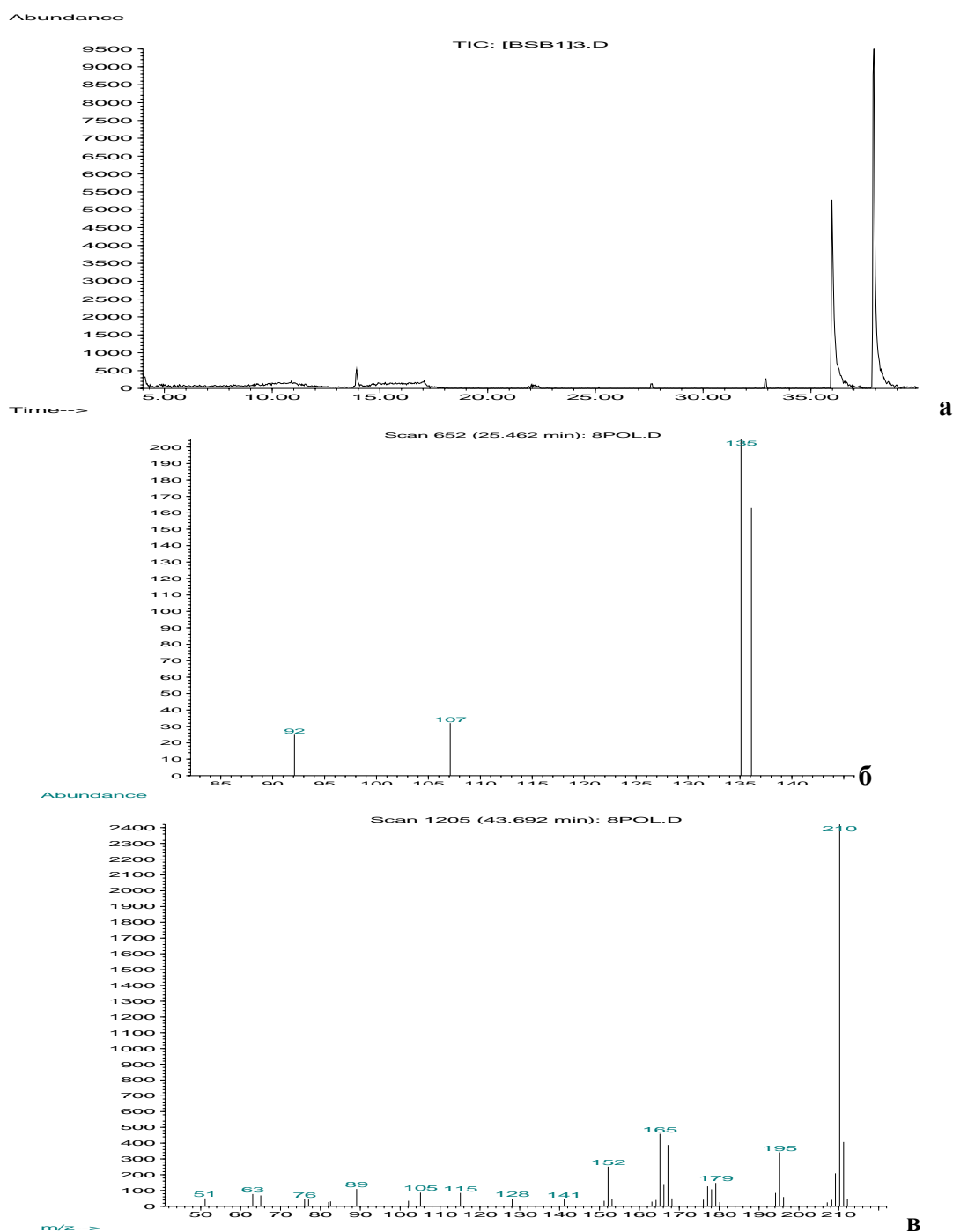


Рис. 4. Хроматограмма (а) и масс-спектры (б-в) продуктов десорбции эфиром с поверхности TiO_2 , модифицированного *транс*-4-метоксистильбеном (M/z 210), после облучения УФ-светом с $\lambda = 285\text{-}300$ нм.

Облучение видимым и УФ-светом биоактивных соединений часто вызывает их изомеризацию и стимулирует процессы интеграции и дезинтеграции. После действия света с $\lambda = 285\text{-}300$ нм на стильбеноиды, адсорбированные на TiO_2 , в составе продуктов десорбции *транс*-стильбена (M/z 180) появляется бензофенон (M/z 182, $E_A = 110$ кДж/моль, $n = 3$); *транс*-4-метоксистильбен с M/z 210 (рис. 4 в) частично превращается в *n*-метоксibenзальдегид с M/z 136 (рис. 4 б); а *транс*-4-гидроксистильбен, как и продукты его фотолиза, прочно удерживаются на поверхности вплоть до 400°C .

На рис. 5 приведены некоторые масс-спектры продуктов термодесорбции уксусной кислоты (M/z 60), иммобилизованной на поверхности TiO_2 . Полный масс-спектр продуктов десорбции, катализа и термоокисления кислоты намного сложнее.

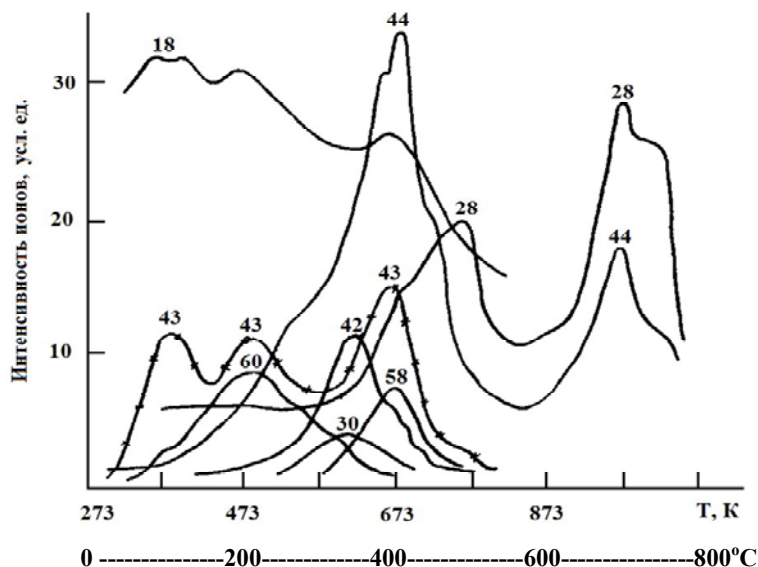


Рис. 5. Масс-термограмма продуктов десорбции с поверхности TiO_2 , модифицированного уксусной кислотой (цифры на масс-линиях – отношение массы ионов к их заряду M/z).

Основным продуктом десорбции с поверхности TiO_2 , модифицированного уксусной кислотой, в широком интервале температур является вода (M/z 18), на масс-линии которой фиксируется несколько пиков при 100, 200 и 400°C. В области 100 - 200°C наблюдается интенсивное выделение молекул уксусной кислоты (молекулярный и основной осколочный ионы $C_2H_4O_2$ с M/z 60 и CH_3CO с m/z 43, соответственно). Первый максимум выделения кислоты при 130°C приходится на десорбцию физически адсорбированных молекул, что подтверждается данными ИК-спектроскопии и значением кинетических параметров процесса [12]: энергии активации десорбции $E_A = 20$ кДж/моль и порядка реакции $n = 1$. Второй максимум при 200°C на термограмме десорбции уксусной кислоты, по данным ИК-спектроскопии, соответствует состоянию монослоя, когда физически адсорбированные молекулы кислоты практически полностью десорбированы и на поверхности присутствуют только хемосорбированные молекулы [17]. Поскольку при той же температуре наблюдается максимум на масс-термограмме десорбции воды с поверхности TiO_2 , можно предположить, что имеет место термогидролиз поверхностных ацетатов. Энергия активации десорбции уксусной кислоты в этой области составляет 45 кДж/моль, порядок реакции $n = 1$.

Ацетаты, образующие более прочные связи с поверхностью TiO_2 – бидентатные и хелатные формы – не подвержены гидролизу [17]. При повышении температуры до 300 - 450°C эти соединения подвергаются деструкции. Методом ТДМС идентифицированы такие продукты пиролиза, как формальдегид CH_2O (M/z 30, $T_{max} = 613$ К, $E_A = 120$ кДж/моль, $n = 2$); кетен CH_2CO (M/z 42, $T_{max} = 633$ К, $E_A = 125$ кДж/моль, $n = 2$) и ацетон CH_3COCH_3 (M/z 56, осколочный ион m/z 43, $T_{max} = 673$ К, $E_A = 140$ кДж/моль, $n = 2$). По-видимому, ацетон образуется при взаимодействии двух соседних поверхностных ацетатов. Высокие значения энергии активации выделения формальдегида, кетена и ацетона (120-140 кДж/моль) свидетельствуют о том, что в этой температурной области происходит деструкция, каталитическое

окисление и димеризация поверхностных соединений. Бидентатные и хелатные формы ацетатов удерживаются на поверхности TiO_2 вплоть до 450°C , что значительно выше температуры разложения чистой уксусной кислоты. При 500°C каталитические превращения органических соединений практически полностью завершаются. Интенсивное образование CO (M/z 26) и CO_2 (M/z 44) при 700°C связано с окислением остаточной органики кислородом, выделяющимся при разрыве титоксановых связей и термовосстановлении ионов Ti^{4+} в Ti^{3+} .

На рис. 6-7 приведены масс-спектры продуктов термодесорбции аминсоединения (M/z 73), иммобилизованного на поверхности TiO_2 , до и после хранения композита на свету в течение недели.

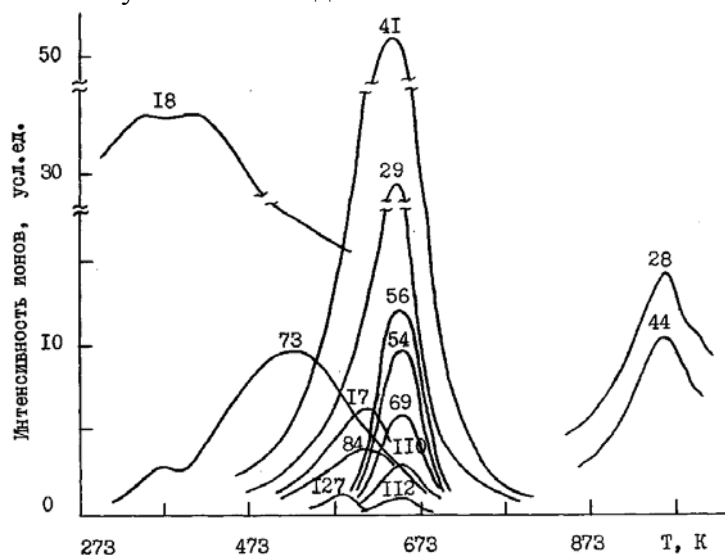


Рис. 6. Масс-термограмма продуктов десорбции с поверхности TiO_2 , модифицированного *n*-бутиламином (цифры на масс-линиях – отношение массы ионов к их заряду M/z).

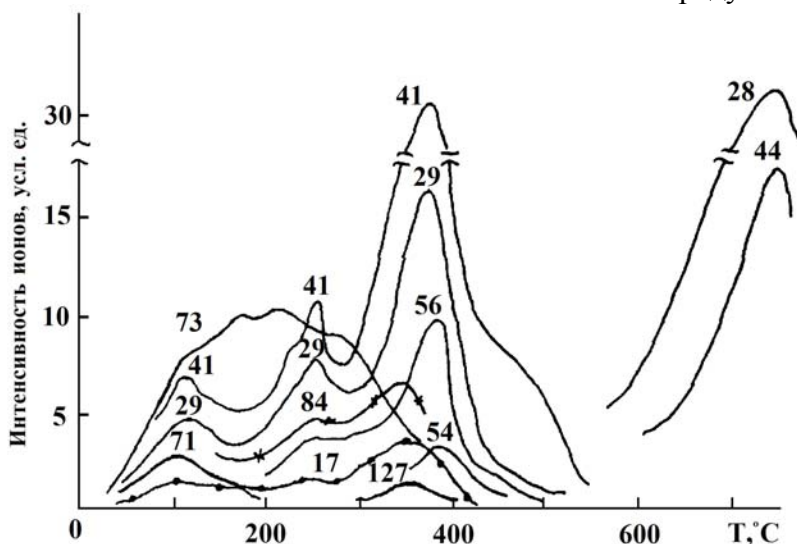


Рис. 7. Масс-термограмма продуктов десорбции с поверхности TiO_2 , модифицированного *n*-бутиламином, после хранения образца на свету.

По молекулярным и осколочным ионам удалось идентифицировать продукты фотохимического окисления и каталитического превращения *n*-бутиламина (M/z 73) на TiO_2 : бутилимин (M/z 71), бутилиденбутиламин (M/z 127, m/z 84), оксазиран (M/z 143), амид (M/z 143) и бутил-(2-этилгексен-3-иден)амин (M/z 181). По данным

термодесорбционной масс-спектрометрии [18], фотохимическая стойкость иммобилизованных на TiO_2 соединений с OH и COOH группами оказалась значительно выше, чем у аминов, однако эти биопрепараты более подвержены воздействию влаги. Основным продуктом десорбции с поверхности TiO_2 , модифицированного спиртом (M/z 32) и карбоновой кислотой (M/z 60), в широком интервале температур является вода (M/z 18), которая разрушает поверхностные связи спиртов и кислот, позволяя им десорбироваться в молекулярной форме.

Таким образом, методом хромато-масс-спектрометрии дана качественная и количественная оценка изменений, происходящих с молекулами биологически активных веществ в процессе иммобилизации на носителях, исследована кинетика десорбции модельных биопрепаратов, идентифицированы продукты их десорбции и деструкции, изучены каталитические термоокислительные процессы трансформации, т.е. получены сведения, необходимые для производства лекарственных препаратов с заданными свойствами, дальнейшего прогнозирования их поведения в биологических средах и при длительном хранении.

Заключение

Методами хромато-масс-спектрометрии и термодесорбционной масс-спектрометрии изучены процессы термодесорбции различных биологически активных соединений, иммобилизованных на поверхности дисперсных неорганических носителей. Исследован механизм и кинетика десорбции, деструкции и термоокислительного катализа биоактивных соединений, содержащих amino-, карбокси- и гидроксигруппы, ароматические и гетероциклические фрагменты. Получены сведения, необходимые для производства композиционных лекарственных препаратов с заданными свойствами, дальнейшего прогнозирования их поведения в биологических средах и при длительном хранении.

Работа поддержана грантом РФФИ № 09-08-01231.

Список литературы

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. В 2-х томах. Изд-е 14-е. М.: ООО «Новая волна»: Издатель С.Б.Дивов, 2002.
2. Международная фармакопея. Т. 1-4. Изд-е 3-е. Женева: ВОЗ. 1981-1995.
3. Сорбенты и их клиническое применение / Под ред. К.Джиордано. Киев, 1989. 234 С.
4. Голиков С.Н., Гурьянов Г.А., Козлов В.К. Иммобилизация тетрациклиновых препаратов // Фармакология и токсикология. 1989. Т.52. № 2. С.5-6.
5. Спиридонов В.С., Мингалев П.Г., Лисичкин Г.В. и др. Способ синтеза лекарственных препаратов пролонгированного действия для остеопластики на основе химически модифицированных фосфатов кальция // Коллоид.журн. 2006. Т.68. № 6. С.839-851.
6. Кремнеземы в медицине и биологии / Под ред. А.А.Чуйко. Киев; Ставрополь, 1993. 259 С.
7. Дыкман Л.А., Богатырев В.А.. Наночастицы золота: получение, функционализация, использование в биохимии и иммунологии // Успехи химии. 2007. Т.76. №.2. С.199-210.

8. Niemeyer C.M., Mirkin C.A. (eds.) Nanobiotechnology: concept, applications and perspectives. Weinheim: Wiley-VCH. 2004.

9. Полуниин Е.В., Полуниин К.Е., Кузнецов Ю.В. И др. Новые потенциальные антиосеопорозные препараты на основе 1,3-тиазинона (прогнозирование свойств, синтез, моделирование взаимодействия с костной тканью) // Современная медицина. 2003. № 4. С. 54-58.

10. Вульфсон Н.С., Заикин В.Г., Микая А.И. Масс-спектрометрия органических соединений М.: Химия. 1986.

11. Каталог сокращенных масс-спектров. / Под ред. А.М.Колчина. Новосибирск: Химия. 1981. С.187.

12. Павлова С.А., Журавлев И.В., Толчинский Ю.И. Термический анализ органических и высокомолекулярных соединений. М.: Химия. 1983. 120 С.

13. Хмельницкий Р.А., Лукашенко И.М., Бродский Е.С. Пиролитическая масс-спектрометрия высокомолекулярных соединений. М.: Химия. 1980. 280 с.

14. Полуниин К.Е., Полунина И.А., Соколова Н.П., Горбунов А.М. Адсорбционное взаимодействие гидроксистильбенов с поверхностью пирогенного кремнезема // Сорбционные и хроматографические процессы. 2002, № 4 .С. 397-405.

15. Полуниин К.Е., Дзарданов Д.В., Соколова Н.П. и др. Исследование состава адсорбционных слоев стильбенов на TiO_2 // Сорбционные и хроматографические процессы. 2008. Т.8. Вып. 6. С. 624-643.

16. Полунина И.А., Полуниин К.Е., Буряк А.К., Ульянов А.В., Ролдугин В.И. Хромато-масс-спектрометрический анализ продуктов фото- и термодеструкции транс-стильбена на поверхности TiO_2 // Сорбционные и хроматографические процессы. 2004. Т.4. Вып.2. С. 233-241.

17. Polunina I. A., Isirikyan A. A., Mikhailova S.S. Polounine K.E. Double chemical modification of the rutile surface // Colloids and Surfaces. A. 1995. V.105. P.159-165/

18. Polunina I.A Zhuravlev L.T., Polunin K.E. Mass-spectroscopic thermal analysis of modified TiO_2 . Composite Interfaces // 1999. V.6. № 1. P.57-64.

Полуниин Константин Евгеньевич – к.х.н., старший научный сотрудник, доцент Института физической химии и электрохимии им. А.Н.Фрумкина РАН (ИФХЭ РАН), Москва, 955-46-47

Войтова Варвара Михайловна – аспирантка Института физической химии и электрохимии им. А.Н.Фрумкина РАН (ИФХЭ РАН), Москва, тел. 955-46-90

Буряк Алексей Константинович – д.х.н., заведующий лабораторией физико-химических основ хроматографии и хромато-масс-спектрометрии Института физической химии и электрохимии им. А.Н.Фрумкина РАН (ИФХЭ РАН), Москва, 330-19-29

Ульянов Алексей Владимирович – к.х.н., ведущий научный сотрудник Института физической химии и электрохимии им. А.Н.Фрумкина РАН (ИФХЭ РАН), Москва

Полунина Ирина Александровна – к.х.н., ведущий научный сотрудник, доцент Института физической химии и электрохимии им. А.Н.Фрумкина РАН (ИФХЭ РАН), Москва, 955

Polunin Konstantin E. – Ph.D, senior researcher, docent, A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, e-mail: Polunina@phyche.ac.ru

Voitova Varvara M. – postgraduate student, A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow

Buryak Alexei K. – D.Sci., head of laboratory, A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, e-mail: AKBuryak@ipc.rssi.ru

Ulyanov Alexei V. – Ph.D, senior researcher, A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow

Polunina Irina A. – Ph.D, senior researcher, docent, A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, 955