

## ВЛИЯНИЕ ИЗОТОПНОГО СОСТАВА ВОДНЫХ РАСТВОРОВ НА КИНЕТИКУ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА

Н.Ф. Бункин

nbunkin@bmstu.ru

С.Л. Тимченко

timch@bmstu.ru

П.Н. Болоцкова

Е.Н. Задорожный

В.А. Козлов

vkozlov@bmstu.ru

МГТУ им. Н.Э. Баумана, Москва, Российская Федерация

---

### Аннотация

Исследована реакция восстановления водного раствора метиленового синего  $Mc^+$  до его лейкоформы  $McH^0$  при добавлении раствора аскорбиновой кислоты. Показана возможность управления скоростью окислительно-восстановительных реакций, сопровождающихся переносом протонов в водных растворах. Управление скоростью реакции осуществляется варьированием содержания дейтерия в воде в достаточно узком диапазоне значений. Скорость реакции контролировалась по изменению интенсивности спектров поглощения растворов в диапазоне значений 500...700 нм. Скорость окислительно-восстановительного процесса — реакции с участием метиленового синего — зависит от содержания дейтерия и имеет немонотонный характер с локальным минимумом в области  $10^2...10^4$  ppm. Показана возможность управления скоростью реакции восстановления метиленового синего за счет использования раствора аскорбиновой кислоты, приготовленного на водной основе со смежным изотопным составом. Если раствор метиленового синего приготовлен на DDW, а раствор аскорбиновой кислоты — на  $D_2O$ , то скорость реакции уменьшается примерно в 1,65 раза по сравнению с аналогичным параметром для растворов метиленового синего и аскорбиновой кислоты, приготовленных на DDW. Для раствора метиленового синего, приготовленного на MQ, а раствора аскорбиновой кислоты — на  $D_2O$ , скорость реакции уменьшается при-

### Ключевые слова

*Окислительно-восстановительная реакция, метиленовый синий, аскорбиновая кислота, изотопный состав, спектрометрия, скорость реакции*

мерно в 2 раза. Для раствора метиленового синего, приготовленного на D<sub>2</sub>O, а раствора аскорбиновой кислоты — на DDW, скорость реакции увеличивается в 2,4 раза. Установлена зависимость полноты реакции от изотопного состава водной основы

Поступила 08.02.2024

Принята 11.07.2025

© Автор(ы), 2025

---

**Введение.** Процесс усвоения лекарственных препаратов организмом является критическим как при осуществлении терапевтического лечения, так и при инвазивной терапии. Большинство препаратов имеет жидкую консистенцию, в частности водную основу, поэтому исследования влияния состава водной основы на кинетику химических реакций являются актуальными.

Межмолекулярный (изотопный) эффект, вызванный взаимодействием дейтерированной сольватирующей оболочки и биомолекулы (белка, ДНК и т. д.), изучен в [1]. Этот эффект сопровождается уменьшением вовлеченности биомолекулы в биохимические реакции вследствие замедления десольватации отдельных регуляторных участков молекул при их переходе в функционально активное состояние.

Важное значение имеют биохимические методы изучения кинетического изотопного эффекта (КИЭ) дейтерия на внеклеточный электронный транспорт (ЕЕТ, или ЭЭТ) [2]. Прямое электрохимическое определение цитохромных комплексов с-типа, встроенных в бактериальную внешнюю мембрану, стало новым аналитическим методом для анализа бактериального транспорта электронов от дыхательной цепи к внешней стороне клетки, т. е. внеклеточного транспорта электронов.

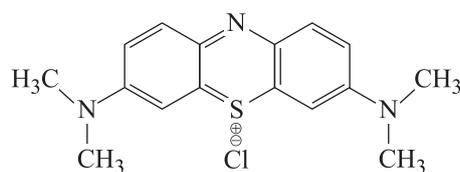
Доказано влияние скорости биохимических процессов при различных соотношениях легких и тяжелых изотопов биогенных элементов на функционирование органелл и субклеточных структур [3]. Замена дейтерия протием приводит к ускорению переноса протонов в митохондрии и, следовательно, к увеличению выработки отдельных субстратов, обеспечивающих более высокий энергетический обмен, повышается устойчивость клетки к неблагоприятным внешним или внутренним воздействиям. Влияние изотопного обмена на каталитические комплексы в некоторых органеллах (митохондриях и лизосомах) может не только изменять интенсивность метаболических процессов на клеточном уровне, но и существенно модифицировать резистентность и реактивность биологической ткани в целом.

Актуальным является контроль влияния изотопного обмена  ${}^1\text{H}/{}^2\text{H}$  в водородных связях между парами азотистых оснований на возникновение и динамику зон открытых состояний в разных частях гена в зависимости от локализации атома дейтерия. Математическим моделирова-

нием определена вероятность появления открытых состояний в разных частях гена в зависимости от локализации атома дейтерия [4]. В силу термодинамического несоответствия изотопных соединений распределение изотопов водорода в межклеточном или внутриклеточном пространстве может быть существенно неравномерным. В результате этого реакции изотопного обмена в биологических системах могут сопровождаться изменениями не только термодинамических, но и кинетических параметров (коэффициент диффузии, скорость биохимических реакций) на молекулярном уровне [5].

В связи с распространением с 2019 г. вирусной инфекции MERS-CoV ученые стали искать эффективные способы борьбы с ней. Внимание привлек метиленовый синий (МС) [6, 7], который имеет широкий спектр биохимической активности, участвует в окислительно-восстановительных реакциях, принимая один или более электронов, либо принимая или отдавая протон и в результате меняя свою форму [8–10]. Метиленовый синий может непосредственно участвовать в процессе дыхания и применяться в качестве антидота при отравлении угарным газом, сероводородом или цианидами, обладая ярким противовирусным эффектом. В онкологии МС известен как мощный фотосенсибилизатор. Он активно проявляет противовирусный эффект при воздействии света и его введение способствует разрушению патологических клеток, блокирует рецепторы ACE2, играющие основную роль в развитии COVID-19 [6, 7]. Участие МС (при низких концентрациях < 2 мг/кг) в противостоянии с COVID-19 может быть рассмотрено как способ борьбы с метгемоглобинемией.

Метиленовый синий представляет собой гетероциклическое соединение, в основании которого находятся три кольца: два углеродных и одно с включениями азота и серы:



Метиленовый синий является первым производным феноптиазина — лекарственного препарата, созданного на его основе. Расчеты энергии молекулярных орбиталей свидетельствуют, что электронная структура МС имеет сходство со строением кофермента флавинонуклеотида. Гидратированная форма МС содержит три молекулы воды на единицу МС. Метиленовый синий получают из N,N-диметиланилина (C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>N) [6–9].

Молекула МС способна образовывать различные формы. Катион-радикал  $Mc^+$  может существовать в четырех равновесных конфигурациях, образовывать димеры и Н-агрегаты. Кроме того, краситель МС может восстанавливаться до нейтрального радикала  $Mc^0$  и далее до бесцветной лейкоформы  $McH^0$  [8, 9]. Восстановленная структура  $McH^0$  может отдать присоединенный водород окислителю (например, кислороду), в результате чего приобретает первоначальный синий цвет. Таким образом, МС является переносчиком водорода и его молекулу можно рассматривать как модель активной группы фермента дегидрогеназы.

Спектр радикала  $Mc^0$  имеет пять максимумов в видимой области ( $\lambda_1 = 420$  нм,  $\lambda_2 = 436$  нм,  $\lambda_3 = 585$  нм,  $\lambda_4 = 610$  нм,  $\lambda_5 = 640$  нм) [10]. Обратимо действующая окислительно-восстановительная система, образуемая исходной формой МС —  $Mc^+$  — и его восстановленной протонированной лейкоформой  $McH_2^+$ , переносит электрон и протон от донора (например, никатинамидадениндинуклеотида NADH, восстановленной формы флавинадениндинуклеотида FADH<sub>2</sub> или аскорбиновой кислоты (АСК)) к метгемоглобину met-Hb( $Fe^{3+}$ ), помогая восстанавливать его до гемоглобина Hb( $Fe^{2+}$ ). Метиленовый синий функционирует как альтернативный переносчик электронов в митохондриях, который принимает электроны от NADH или FADH<sub>2</sub> и передает их CoQ или Cyt-c, минуя блокировку комплекса I/III в электронно-транспортной цепи (ЭТЦ), что позволяет продолжить работу ЭТЦ и выработку АТФ в клетке [11].

Установлено, что время жизни бактерии *Stropharia ambigua* (*S. Ambigua*) зависит от концентрации дейтерия в водных растворах [12, 13]. Максимальное время жизни этой бактерии наблюдается при концентрации дейтерия в водном растворе 50...150 ppm для температуры 28...36 °С. Обнаружено, что размер исключенной зоны мембраны «Нафион» зависит от содержания дейтерия в воде [14]. В природной воде (содержание дейтерия 157 ppm) размер эксклюзивной зоны составляет 300 мкм, в то время как для обедненной по дейтерию воде (содержание дейтерия 3 ppm) эксклюзивная зона имеет очень малый размер. В экспериментах по диффузии МС в полимерную мембрану «Нафион» определено, что скорость диффузии зависит от изотопного состава водной основы раствора [15].

*Цель работы* — исследовать влияние содержания дейтерия в воде на скорость окислительно-восстановительной реакции МС и АСК. С учетом различия реологических свойств водной основы при использовании

воды с разным изотопным составом [16–18] можно предположить, что результаты исследования будут иметь научную и практическую значимость.

**Экспериментальная часть. Материалы и методы исследований.** Исследовано влияние изотопного состава воды, используемой в качестве основы для приготовления растворов МС и АСК, на скорость реакции восстановления формы  $\text{Mс}^+$  (раствора синего цвета) до его лейкоформы  $\text{MсH}^0$ . В качестве водной основы для приготовления растворов  $\text{Mс}^+$  и АСК использована вода: деионизированная (содержание дейтерия 157 ppm) MQ; бездейтериевая или легкая (содержание дейтерия 1 ppm) DDW; тяжелая  $\text{D}_2\text{O}$  (содержание дейтерия  $> 10^5$  ppm).

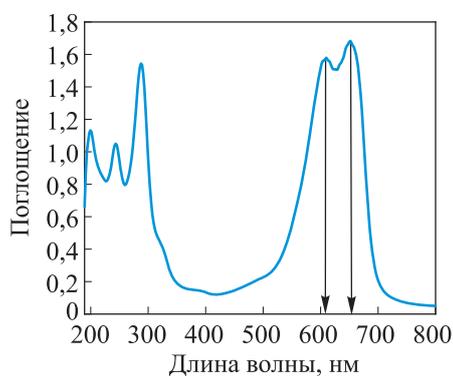
Деионизированная вода с удельным сопротивлением 18 МОм · см при температуре 25 °С получена на аппарате *Milli-Q* (Merck KGaA, Германия). Бездейтериевая вода приобретена у компании *Sigma Aldrich* (США), тяжелая — у НИЦ «Курчатовский институт» (Москва, Российская Федерация).

Для приготовления раствора  $\text{Mс}^+$  использован порошок МС сверхвысокой чистоты, который приобретен у лаборатории *Macsen Labs* (Индия). Для приготовления раствора АСК использован порошок чистотой  $99,999 \pm 0,010$  %.

Спектры поглощения растворов регистрировали спектрофотометром РВ2201 (SOLAR, Республика Беларусь), имеющим двухлучевую схему (с прописью базовой линии), спектральный диапазон 190...1100 нм и выделяемый спектральный интервал 2 нм.

**Описание эксперимента.** Реакцию восстановления  $\text{Mс}^+$  проводили с использованием водного раствора АСК.

Рассмотрим особенности компонентов реакции — водных растворов



**Рис. 1.** Спектр поглощения  $\text{Mс}^+$ , приготовленного на DDW

МС и АСК. Растворив порошок МС в воде, получают одну из форм МС — окисленную форму МС в виде  $\text{Mс}^+$  (раствора синего цвета). Спектр поглощения водного раствора  $\text{Mс}^+$ , приготовленного на DDW, имеет пять характерных максимумов (рис. 1).

Нейтральная форма МС — лейкоформа  $\text{MсH}^0$  — возникает в результате реакции восстановления окисленной формы  $\text{Mс}^+$  (см. рис. 1):



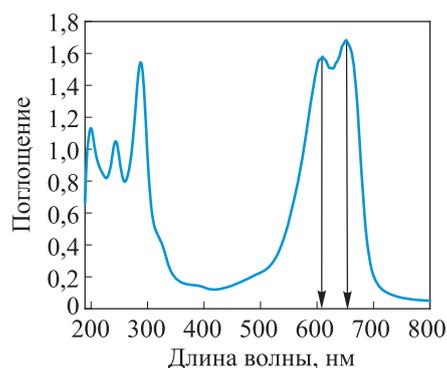
Реакция протекает в две стадии. При добавлении раствора АСК к раствору МС в форме  $\text{Mс}^+$  кислота отдает электрон окисленной форме МС и возникает промежуточная форма — радикал  $\text{Mс}^0$ :



Аскорбиновая кислота окисляется до монодегидроаскорбиновой кислоты (МДАК). Затем АСК отдает протон и электрон, формируя атом водорода, который впоследствии образует молекулярную связь с радикалом  $\text{Mс}^0$ , превращая его в восстановленную форму  $\text{MсН}^0$  (раствор белого цвета):



Спектр поглощения водного раствора АСК концентрацией  $10^{-5}$  г/мл показан на рис. 2. Для приготовления реактива использовали порошок АСК, который растворяли в воде. Реакция восстановления МС (1) запускалась с помощью раствора АСК концентрацией 0,01 г/мл. Во всех экспериментальных протоколах объем раствора АСК для реакции составлял  $120,0 \pm 3,6$  мкл. Заполнение кюветы растворами  $\text{Mс}^+$  и АСК выполняли дозатором типа *Eppendorf Reference 2* (диапазон измерений 100... 1000 мкл).



**Рис. 2.** Спектр поглощения водного раствора АСК

Скорость реакции (1) контролировали регистрацией спектра растворов в режиме «Спектр» на спектрофотометре *PB 2201 SOLAR*. Длительность регистрации спектров поглощения во всех экспериментальных сериях составляла 600 с. Измерения спектров растворов проводились в режиме стабилизации температуры в диапазоне 20,5...21 °С. Реакцию проводили в кювете из кварцевого стекла. Объем водного раствора  $\text{Mс}^+$ :  $2000 \pm 12$  мкл. Технически процедура подготовки образца для измерения его спектра в процессе реакции включала в себя заполнение кварцевой кюветы водным раствором  $\text{Mс}^+$  и измерение спектра исходного раствора  $\text{Mс}^+$ ; введение в кювету реактива — раствора АСК; измерение спектра поглощения раствора в диапазоне длин волн 500...700 нм в процессе реакции, которое осуществляли в режиме измерения «Спектр. Серия измерений» с временным интервалом 30 с.

Выбор спектрального интервала связан с тем, что в этом интервале находятся максимумы поглощения излучения раствора МС, называемые димером (610...620 нм) и мономером (650...660 нм) [10, 19].

Результаты представленных исследований базируются на реализации следующих экспериментальных протоколов.

1. Измерение скорости реакции восстановления  $Mс^+$  (1) для растворов, приготовленных на MQ, DDW и  $D_2O$  при концентрации раствора АСК 0,01 г/мл.

2. Измерение скорости реакции восстановления  $Mс^+$  (1) при использовании разного изотопного состава водной основы для приготовления растворов МС и АСК:  $10^2$ ;  $5 \cdot 10^2$ ;  $10^3$ ;  $5 \cdot 10^3$ ;  $10^4$ ;  $10^5$  ppm.

3. Измерение скорости реакции восстановления  $Mс^+$  (1) для следующих пар растворов.

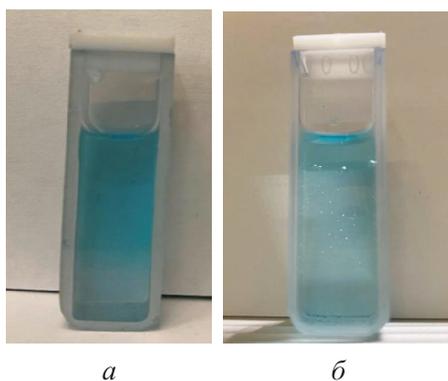
3.1. Раствор МС приготовлен на DDW, раствор АСК — на  $D_2O$ .

3.2. Раствор МС приготовлен на  $D_2O$ , раствор АСК — на DDW.

3.3. Раствор МС приготовлен на MQ, раствор АСК — на  $D_2O$ .

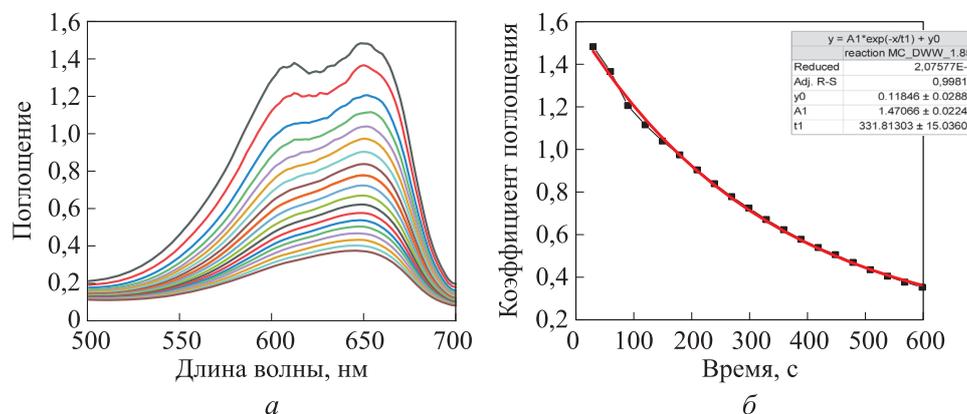
**Результаты экспериментов.** *Экспериментальный протокол № 1.* Цель протокола — выявление особенностей кинетики протекания реакции, ее полноты и определение скорости реакции восстановления МС в зависимости от вида водной основы, используемой для приготовления растворов МС и АСК.

Раствор МС на стадии осуществления реакции (1) для разных временных отрезков показан на рис. 3.



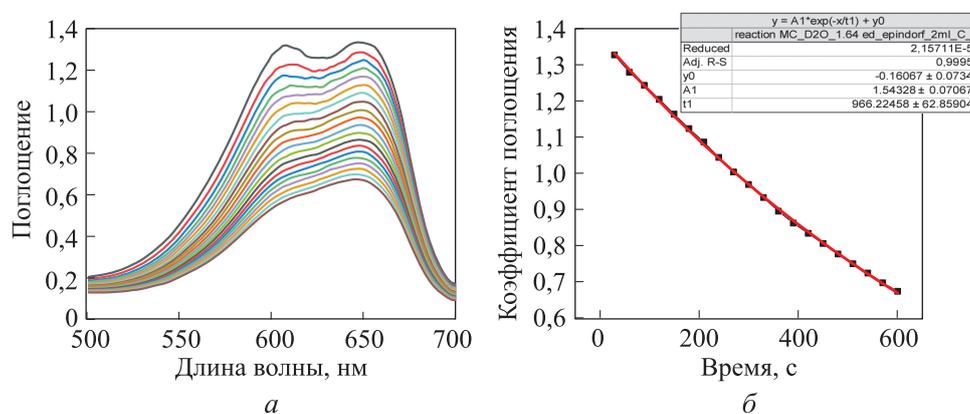
**Рис. 3.** Стадии реакции превращения МС для временных отрезков 100 (а) и 500 с (б) после начала реакции (1)

Спектры поглощения раствора МС в процессе реакции восстановления  $Mс^+$  для растворов, приготовленных на DDW, приведены на рис. 4, а. Зависимость коэффициента поглощения раствора МС во время реакции показана на рис. 4, б. Представленная зависимость является результатом обработки кинетики спектров поглощения раствора во время реакции (см. рис. 4, а).



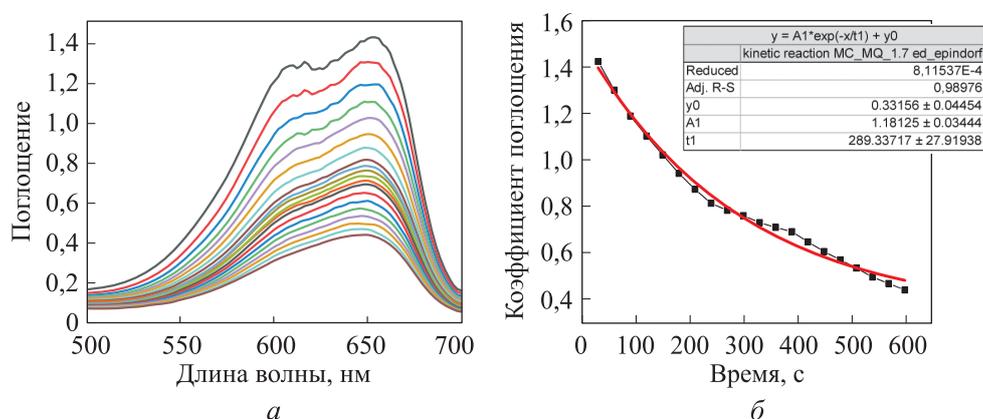
**Рис. 4.** Спектры поглощения раствора МС (а) при  $t = 30, 390$  ( — ),  $60, 420$  ( — ),  $90, 450$  ( — ),  $120, 480$  ( — ),  $150, 510$  ( — ),  $180, 540$  ( — ),  $210, 570$  ( — ),  $240, 600$  ( — ),  $270$  ( — ),  $300$  ( — ),  $330$  ( — ),  $360$  с ( — ) и зависимость коэффициента поглощения раствора МС от времени (б) (компоненты раствора приготовлены на DDW)

Спектры поглощения раствора МС в процессе реакции восстановления для растворов МС и АСК, приготовленных на  $D_2O$ , приведены на рис. 5, а. Зависимость коэффициента поглощения раствора МС в процессе реакции с АСК от времени (компоненты растворов приготовлены на  $D_2O$ ) приведена рис. 5, б.



**Рис. 5.** Спектры поглощения раствора МС (а) и зависимость коэффициента поглощения раствора МС в процессе реакции с АСК от времени (б) (компоненты раствора приготовлены на  $D_2O$ )

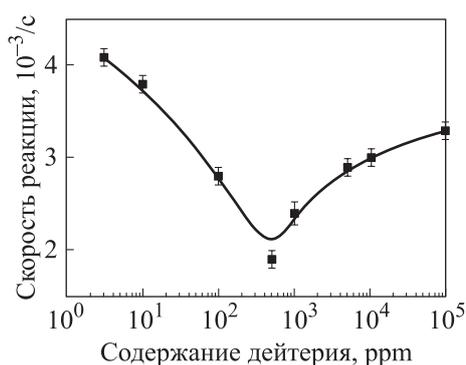
Спектры поглощения раствора МС в процессе реакции (компоненты раствора приготовлены на MQ) показаны на рис. 6, а. Зависимость коэффициента поглощения раствора МС в процессе реакции с АСК от времени (компоненты раствора приготовлены на MQ) приведена рис. 6, б.



**Рис. 6.** Спектры поглощения раствора МС (а) и зависимость коэффициента поглощения раствора МС в процессе реакции с АСК от времени (б) (компоненты раствора приготовлены на MQ)

*Экспериментальный протокол № 2.* Цель протокола — определить влияние на скорость реакции восстановления МС изотопного состава водной основы при различном содержании дейтерия в водной основе растворов МС и АСК:  $10^2$ ;  $5 \cdot 10^2$ ;  $10^3$ ;  $5 \cdot 10^3$ ;  $10^4$ ;  $10^5$  ppm. Водную основу приготавливали смешиванием DDW и D<sub>2</sub>O.

Зависимость постоянной скорости реакции восстановления Мс<sup>+</sup> до лейкоформы МсН<sup>0</sup> от содержания дейтерия показана на рис. 7. Кривая имеет существенно нелинейный характер. При увеличении содержания дейтерия на 100 ppm скорость реакции уменьшается, при содержании дейтерия 500 ppm скорость реакции достигает минимума, а затем возрастает.

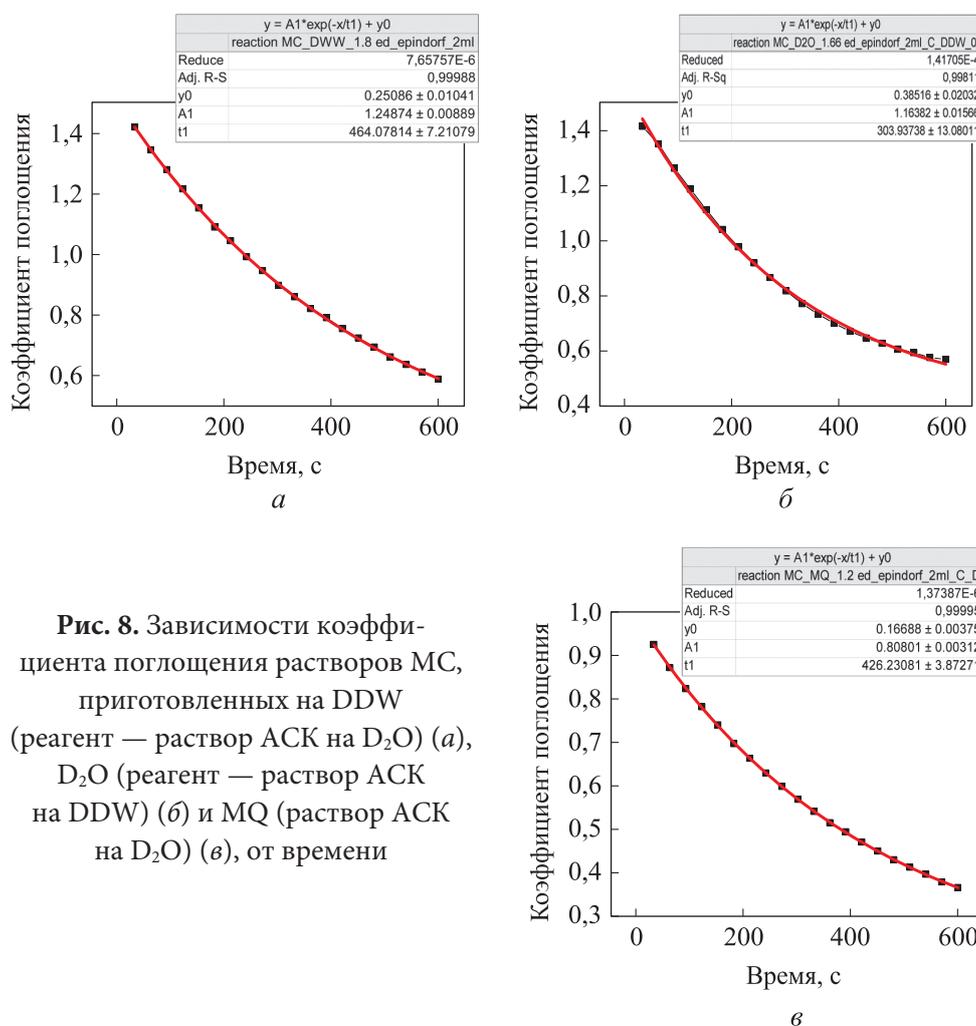


**Рис. 7.** Зависимость постоянной скорости реакции восстановления МС от содержания дейтерия

*Экспериментальный протокол №3.* Цель протокола — установление влияния изотопного состава водной основы, на которой приготовлен раствор АСК, на скорость реакции восстановления МС. Для этого приготовлены перекрестные пары растворов МС и АСК, при выборе которых учитывались результаты экспериментального протокола № 2. На основании результатов

протокола № 2 можно утверждать, что скорость реакции по восстановлению МС для растворов реагирующих компонентов, приготовленных а  $D_2O$ , является наименьшей, так же как и завершенность реакции восстановления за выбранный интервал времени (0...600 с). Поставлена задача по управлению скоростью реакции за счет использования реагента, приготовленного на водной основе со смежным изотопным составом.

Зависимость коэффициента поглощения раствора МС, приготовленного на DDW (реагент — раствор АСК на  $D_2O$ ), в процессе реакции восстановления (1) от времени показана на рис. 8, а, зависимость коэффициента поглощения раствора МС, приготовленного на  $D_2O$  (реагент — раствор АСК на DDW), — на рис. 8, б, зависимость коэффициента поглощения раствора МС, приготовленного на MQ (раствор АСК на  $D_2O$ ), — на рис. 8, в.



**Рис. 8.** Зависимости коэффициента поглощения растворов МС, приготовленных на DDW (реагент — раствор АСК на  $D_2O$ ) (а),  $D_2O$  (реагент — раствор АСК на DDW) (б) и MQ (раствор АСК на  $D_2O$ ) (в), от времени

Результаты, представленные на рис. 8, б, следует сравнить с результатами, показанными на рис. 6, б.

**Обсуждение результатов эксперимента.** Подведем результаты реализации экспериментального протокола № 1. Используя полученные результаты (см. рис. 3–6), можно сделать вывод, что более завершённой реакция появления лейкоформы МС при наблюдении за ней в течение 600 с получается для растворов, приготовленных на MQ и DDW. Для детального анализа следует обратить внимание на значения коэффициента поглощения растворов за время протекания реакции  $t = 600$  с (КП — коэффициент поглощения):

$$\left( \frac{\text{КП}(30 \text{ с}) - \text{КП}(600 \text{ с})}{\text{КП}(30 \text{ с})} \right) \cdot 100\% = \frac{\Delta \text{КП}}{\text{КП}} \cdot 100\%.$$

Для реакции МС на DDW изменение коэффициента поглощения раствора составило (см. рис. 4) 76 %, для D<sub>2</sub>O — 49 % (см. рис. 5), для MQ — 69 % (см. рис. 6).

Постоянная времени реакции  $t_1$  для растворов, приготовленных на D<sub>2</sub>O, составляет  $966 \pm 63$  с, на DDW —  $332 \pm 15$  с, на MQ —  $289 \pm 28$  с. Согласно результатам эксперимента, низкая скорость реакции (1) имеет место у растворов, приготовленных на D<sub>2</sub>O. Скорость реакции восстановления МС при использовании в качестве водной основы D<sub>2</sub>O примерно в 3 раза ниже по сравнению со скоростью аналогичного раствора, приготовленного на DDW и MQ.

В результате реализации экспериментального протокола № 3 показана возможность управления скоростью реакции восстановления МС<sup>+</sup> за счет использования раствора АСК, приготовленного на водной основе со смежным изотопным составом.

Если раствор МС приготовлен на DDW, а раствор АСК — на D<sub>2</sub>O, то постоянная времени реакции (временной коэффициент  $t_1$ ) увеличивается в 1,4 раза (см. рис. 8, а), при этом скорость реакции уменьшается примерно в 1,65 раза по сравнению со скоростью реакции растворов МС и АСК, приготовленных на DDW (см. рис. 4, б). Таким образом, используя раствор АСК, приготовленный на D<sub>2</sub>O, можно снижать скорость реакции восстановления МС.

Если раствор МС приготовлен на D<sub>2</sub>O, а раствор АСК — на DDW (см. рис. 8, б), скорость реакции увеличивается более чем в 2 раза по сравнению

нию со скоростью реакции растворов МС и АСК, приготовленных на D<sub>2</sub>O (см. рис. 5, б). Полнота реакции возрастает, что выражается в уменьшении коэффициента поглощения раствора на 11 % по сравнению с базовым вариантом (см. рис. 5, б, 8, б).

Постоянная времени реакции  $t_1$  для растворов МС и АСК, приготовленных на MQ, составила  $289 \pm 28$  с (см. рис. 6, б), а для раствора МС, приготовленного на MQ (раствор АСК на D<sub>2</sub>O) — примерно  $426 \pm 4$  с (см. рис. 8, в). Постоянная времени реакции для этой комбинации реагента уменьшается в 1,47 раз, а скорость реакции — примерно в 2 раза. Полнота реакции также уменьшается.

**Выводы.** На примере исследования реакции восстановления МС показана возможность управления скоростью реакции, связанная с подбором изотопного состава реагирующих компонентов. Экспериментально установлено, что полнота реакции зависит от изотопного состава водной основы, используемой для приготовления раствора. Полнота реакции уменьшается при использовании реагента, приготовленного на D<sub>2</sub>O, и, наоборот, увеличивается при использовании реагента на DDW. Подбором состава водной основы растворов и изменением ее изотопного состава создаются условия для управления скоростью химической реакции и степенью ее завершенности. В соответствии с результатами экспериментов по кинетике реакции восстановления МС водным раствором АСК можно сделать вывод, что выбор различного изотопного состава водной основы для реактива создает возможность управления скоростью реакции восстановления МС. Этот вывод можно распространить на другие виды реакций, компоненты которых приготовлены на различных видах водной основы, включающей MQ, DDW, D<sub>2</sub>O, а также их комбинации — смешанные составы на основе DDW и D<sub>2</sub>O.

Полученные результаты можно объяснить различием скорости диффузии компонентов растворов, которая зависит от разной молекулярной активности водной основы растворов. Молекулярная активность и реологические свойства растворов определяются изотопным составом водной основы. Вязкость D<sub>2</sub>O в 1,22 раза больше, чем вязкость DDW, а константа диссоциации DDW более чем в 5 раз больше, чем D<sub>2</sub>O [18]. В связи с этим реакция в растворах на D<sub>2</sub>O должна происходить с меньшей скоростью. Скорость реакции восстановления МС, приготовленного на DDW, в 2,9 раза больше значения аналогичного параметра для раствора, приготовленного на D<sub>2</sub>O. Небольшое превышение скорости реакции для раствора МС,

приготовленного на MQ, связано отчасти с разным рН воды. Так, для MQ рН = 5,8, для DDW рН = 7,3, для D<sub>2</sub>O рН = 6,5.

Кинетика процесса восстановления МС контролируется скоростью диффузии, а коэффициент диффузии при комнатной температуре у D<sub>2</sub>O меньше, чем у MQ и DDW, примерно на 8 % [19, 20].

**Заключение.** Регулирование скорости химических реакций с использованием реагентов в водных растворах является важным с медицинской точки зрения. Регулированием не только химического состава водной основы, но и изотопного, можно управлять скоростью окислительно-восстановительных реакций в биологических системах. На примере реакции восстановления МС с помощью водного раствора АСК показано, что применение DDW и MQ позволяет повысить скорость реакции почти на 60 % по сравнению с D<sub>2</sub>O. Это связано с большей вязкостью раствора на D<sub>2</sub>O и с меньшим значением коэффициента диффузии. Используя реагент, приготовленный на воде со смежным изотопным составом, можно регулировать скорость окислительно-восстановительного процесса.

## ЛИТЕРАТУРА

- [1] Buchachenko A.L., Pliss E.M. Hydrogen isotope effects and atom tunnelling. *Russ. Chem. Rev.*, 2016, vol. 85, no. 6, pp. 557–564. DOI: <https://doi.org/10.1070/RCR4625>
- [2] Tokunou Y., Hashimoto K., Okamoto A. Electrochemical detection of deuterium kinetic isotope effect on extracellular electron transport in *Shewanella oneidensis* MR-1. *J. Vis. Exp.*, 2018, vol. 134, art. e57584. DOI: <https://doi.org/10.3791/57584>
- [3] Basov A.A., Elkina A.A., Samkov A.A., et al. Influence of deuterium-depleted water on the isotope D/H composition of liver tissue and morphological development of rats at different periods of ontogenesis. *Iran Biomed. J.*, 2019, vol. 23, no. 2, pp. 129–141.
- [4] Basov A., Drobotenko M., Svidlov A., et al. Inequality in the frequency of the open states occurrence depends on single <sup>2</sup>H/<sup>1</sup>H replacement in DNA. *Molecules*, 2020, vol. 25, iss. 16, art. 3753. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25163753>
- [5] Elkina A.A., Tumaev E.N., Basov A.A., et al. The mechanisms of the interaction of stable isotopes with biological objects in the presence of an uncompensated neutron in chemical bonds. *Biophysics*, 2020, vol. 65, no. 5, pp. 883–888. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0006350920050048>
- [6] Damir B., Alcazar O., Buchwald P. Methylene blue inhibits in vitro the SARS-CoV-2 spike-ACE2 protein-protein interaction — a mechanism that can contribute to its antiviral activity against COVID-19. *Front. Pharmacol.*, 2020, vol. 11. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.600372>

- [7] Marc H., Mireille S., Louis P., et al. A cohort of cancer patients with no reported cases of SARS-CoV-2 infection: the possible preventive role of methylene blue. URL: <https://fondsguerirducancer.fr/a-cohort-of-cancer-patients-with-no-reported-cases-of-sars-cov-2-infection-the-possible-preventive-role-of-methylene-blue> (дата обращения: 09.01.2025).
- [8] Lee S.-K., Mills A. Novel photochemistry of *leuco*-methylene blue. *Chem. Commun.*, 2003, iss. 18, pp. 2366–2367. DOI: <https://doi.org/10.1039/B307228B>
- [9] Lee S.-K., Mills A. Luminescence of *leuco*-thiazine dyes. *J. Fluoresc.*, 2003, vol. 13, no. 5, pp. 375–377. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1026341420942>
- [10] Li Z., Wang C.J., Jiang W.T. Intercalation of methylene blue in a high-charge calcium montmorillonite — an indication of surface charge determination. *Adsorp. Sci. Technol.*, 2010, vol. 28, no. 4, pp. 297–312. DOI: <https://doi.org/10.1260/0263-6174.28.4.297>
- [11] Wen Y., Li W., Poteet E.C., et al. Alternative mitochondrial electron transfer as a novel strategy for neuroprotection. *J. Biol. Chem.*, 2011, vol. 286, iss. 18, pp. 16504–16515. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.208447>
- [12] Syroeshkin A., Pleteneva T., Uspenskaya E., et al. D/H control of chemical kinetics in water solutions under low deuterium concentrations. *Chem. Eng. J.*, 2019, vol. 377, art. 119827. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.08.213>
- [13] Сыроешкин А.В., Елизарова Т.Е., Плетенева Т.В. и др. Влияние дейтерия на свойства фармацевтических субстанций (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств*, 2020, т. 9, № 2, с. 24–32. DOI: <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-2-24-32>
- [14] Ninham B.W., Battye M.J., Bolotskova P.N., et al. Nafion: new and old insights into structure and function. *Polymers*, 2023, vol. 15, no. 9, art. 2214. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym15092214>
- [15] Bunkin N.F., Bolotskova P.N., Gladysheva Y.V., et al. Adsorption of methylene blue on the surface of polymer membrane; dependence on the isotopic composition of liquid matrix. *Polymers*, 2022, vol. 14, iss. 19, art. 4007. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym14194007>
- [16] Eisenberg D., Kauzmann W. The structure and properties of water. Oxford Univ. Press, 1969.
- [17] Audi G., Bersillon O., Blachot J., et al. The NUBASE evaluation of nuclear and decay properties. *Nucl. Phys.*, 2003, vol. 729, iss. 1, pp. 3–128. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nuclphysa.2003.11.001>
- [18] Nollet L.M.L., De Gelder L.S.P., eds. Handbook of water analysis. CRC Press, 2014.
- [19] Морозов А.Н., Фадеев Г.Н., Богатов Н.А. и др. Влияние низкочастотных колебаний на процесс восстановления метиленового синего. *Вестник МГТУ им. Н.Э. Баумана. Сер. Естественные науки*, 2022, № 1 (100), с. 141–156. DOI: <https://doi.org/10.18698/1812-3368-2022-1-141-156>

[20] Holz M., Heil S.R., Sacco A. Temperature-dependent self-diffusion coefficients of water and six selected molecular liquids for calibration in accurate  $^1\text{H}$  NMRPFG measurements. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2000, iss. 20, pp. 4740–4742.

DOI: <https://doi.org/10.1039/b005319h>

**Бункин Николай Федорович** — д-р физ.-мат. наук, профессор кафедры «Физика» МГТУ им. Н.Э. Баумана (Российская Федерация, 105005, Москва, 2-я Бауманская ул., д. 5, стр. 1).

**Тимченко Светлана Леонидовна** — д-р техн. наук, доцент, профессор кафедры «Физика» МГТУ им. Н.Э. Баумана (Российская Федерация, 105005, Москва, 2-я Бауманская ул., д. 5, стр. 1).

**Болоцкова Полина Николаевна** — аспирант кафедры «Физика» МГТУ им. Н.Э. Баумана (Российская Федерация, 105005, Москва, 2-я Бауманская ул., д. 5, стр. 1).

**Задорожный Евгений Николаевич** — аспирант кафедры «Педагогика и цифровые образовательные технологии» МГТУ им. Н.Э. Баумана (Российская Федерация, 105005, Москва, 2-я Бауманская ул., д. 5, стр. 1).

**Козлов Валерий Анатольевич** — канд. физ.-мат. наук, доцент кафедры «Физика» МГТУ им. Н.Э. Баумана (Российская Федерация, 105005, Москва, 2-я Бауманская ул., д. 5, стр. 1).

**Просьба ссылаться на эту статью следующим образом:**

Бункин Н.Ф., Тимченко С.Л., Болоцкова П.Н. и др. Влияние изотопного состава водных растворов на кинетику окислительно-восстановительного процесса. *Вестник МГТУ им. Н.Э. Баумана. Сер. Естественные науки*, 2025, № 4 (121), с. 78–95. EDN: QYDUNY

## INFLUENCE OF THE ISOTOPIC COMPOSITION OF AQUEOUS SOLUTIONS ON THE KINETICS OF THE REDOX PROCESS

**N.F. Bunkin**

[nbunkin@bmstu.ru](mailto:nbunkin@bmstu.ru)

**S.L. Timchenko**

[timch@bmstu.ru](mailto:timch@bmstu.ru)

**P.N. Bolotskova**

**E.N. Zadorozhnyi**

**V.A. Kozlov**

[vkozlov@bmstu.ru](mailto:vkozlov@bmstu.ru)

**BMSTU, Moscow, Russian Federation**

### Abstract

The article presents a study of the reaction rate of reduction of an aqueous solution of methylene blue  $Mb^+$  to its leucoform  $MbH^0$  when adding a solution of ascorbic acid. The possibility of controlling the rate of redox reactions accompanied by proton transfer in aqueous solutions is shown. The reaction rate is controlled by varying the deuterium content in water over a fairly narrow range of values. The reaction rate was controlled by changing the intensity of the spectra of solutions in the range of 500–700 nm. The rate of the redox process, a reaction involving methylene blue, depends on the deuterium content and has a nonmonotonic character with a local minimum in the range of  $10^2$ – $10^4$  ppm. The possibility of controlling the rate of the  $Mb^+$  reduction reaction to its  $MbH^0$  leucoform by using an ascorbic acid solution prepared on a water basis with an adjacent isotopic composition is shown. The reduction reaction rate of a methylene blue solution prepared with light water decreased by 1.4 times when using an ascorbic acid solution prepared with  $D_2O$ . For the methylene blue solution prepared in distilled water, the reaction rate decreased by 1.65 times. For the methylene blue solution prepared with  $D_2O$  and ascorbic acid solution prepared with light water, the reaction rate increased by more than 2 times. The dependence of the completeness of the reaction on the isotopic composition of the aqueous base is determined

### Keywords

*Redox reaction, methylene blue, ascorbic acid, isotopic composition, spectrometry, reaction rate*

Received 08.02.2024

Accepted 11.07.2025

© Author(s), 2025

---

### REFERENCES

- [1] Buchachenko A.L., Pliss E.M. Hydrogen isotope effects and atom tunnelling. *Russ. Chem. Rev.*, 2016, vol. 85, no. 6, pp. 557–564. DOI: <https://doi.org/10.1070/RCR4625>
- [2] Tokunou Y., Hashimoto K., Okamoto A. Electrochemical detection of deuterium kinetic isotope effect on extracellular electron transport in *Shewanella oneidensis* MR-1. *J. Vis. Exp.*, 2018, vol. 134, art. e57584. DOI: <https://doi.org/10.3791/57584>
- [3] Basov A.A., Elkina A.A., Samkov A.A., et al. Influence of deuterium-depleted water on the isotope D/H composition of liver tissue and morphological development of rats at different periods of ontogenesis. *Iran Biomed. J.*, 2019, vol. 23, no. 2, pp. 129–141.
- [4] Basov A., Drobotenko M., Svidlov A., et al. Inequality in the frequency of the open states occurrence depends on single  $^2H/^1H$  replacement in DNA. *Molecules*, 2020, vol. 25, iss. 16, art. 3753. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25163753>

- [5] Elkina A.A., Tumaev E.N., Basov A.A., et al. The mechanisms of the interaction of stable isotopes with biological objects in the presence of an uncompensated neutron in chemical bonds. *Biophysics*, 2020, vol. 65, no. 5, pp. 883–888.  
DOI: <https://doi.org/10.1134/S0006350920050048>
- [6] Damir B., Alcazar O., Buchwald P. Methylene blue inhibits in vitro the SARS-CoV-2 spike–ACE2 protein-protein interaction — a mechanism that can contribute to its antiviral activity against COVID-19. *Front. Pharmacol.*, 2020, vol. 11.  
DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.600372>
- [7] Marc H., Mireille S., Louis P., et al. A cohort of cancer patients with no reported cases of SARS-CoV-2 infection: the possible preventive role of methylene blue. Available at: <https://fondsguerirducancer.fr/a-cohort-of-cancer-patients-with-no-reported-cases-of-sars-cov-2-infection-the-possible-preventive-role-of-methylene-blue> (accessed: 09.01.2025).
- [8] Lee S.-K., Mills A. Novel photochemistry of *leuco*-methylene blue. *Chem. Commun.*, 2003, iss. 18, pp. 2366–2367. DOI: <https://doi.org/10.1039/B307228B>
- [9] Lee S.-K., Mills A. Luminescence of *leuco*-thiazine dyes. *J. Fluoresc.*, 2003, vol. 13, no. 5, pp. 375–377. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1026341420942>
- [10] Li Z., Wang C.J., Jiang W.T. Intercalation of methylene blue in a high-charge calcium montmorillonite — an indication of surface charge determination. *Adsorp. Sci. Technol.*, 2010, vol. 28, no. 4, pp. 297–312.  
DOI: <https://doi.org/10.1260/0263-6174.28.4.297>
- [11] Wen Y., Li W., Poteet E.C., et al. Alternative mitochondrial electron transfer as a novel strategy for neuroprotection. *J. Biol. Chem.*, 2011, vol. 286, iss. 18, pp. 16504–16515. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.208447>
- [12] Syroeshkin A., Pleteneva T., Uspenskaya E., et al. D/H control of chemical kinetics in water solutions under low deuterium concentrations. *Chem. Eng. J.*, 2019, vol. 377, art. 119827. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.08.213>
- [13] Syroeshkin A.V., Elizarova T.E., Pleteneva T.V., et al. The influence of deuterium on the properties of pharmaceutical substances (review). *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv* [Drug Development & Registration], 2020, vol. 9, no. 2, pp. 24–32 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-2-24-32>
- [14] Ninham B.W., Battye M.J., Bolotskova P.N., et al. Nafion: new and old insights into structure and function. *Polymers*, 2023, vol. 15, no. 9, art. 2214.  
DOI: <https://doi.org/10.3390/polym15092214>
- [15] Bunkin N.F., Bolotskova P.N., Gladysheva Y.V., et al. Adsorption of methylene blue on the surface of polymer membrane; dependence on the isotopic composition of liquid matrix. *Polymers*, 2022, vol. 14, iss. 19, art. 4007.  
DOI: <https://doi.org/10.3390/polym14194007>
- [16] Eisenberg D., Kauzmann W. The structure and properties of water. Oxford Univ. Press, 1969.

[17] Audi G., Bersillon O., Blachot J., et al. The NUBASE evaluation of nuclear and decay properties. *Nucl. Phys.*, 2003, vol. 729, iss. 1, pp. 3–128.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nuclphysa.2003.11.001>

[18] Nollet L.M.L., De Gelder L.S.P., eds. Handbook of water analysis. CRC Press, 2014.

[19] Morozov A.N., Fadeev G.N., Bogatov N.A., et al. Influence of low-frequency vibrations on methylene blue reduction process. *Herald of the Bauman Moscow State Technical University, Series Natural Sciences*, 2022, no. 1 (100), pp. 141–156 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.18698/1812-3368-2022-1-141-156>

[20] Holz M., Heil S.R., Sacco A. Temperature-dependent self-diffusion coefficients of water and six selected molecular liquids for calibration in accurate  $^1\text{H}$  NMRPFG measurements. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2000, iss. 20, pp. 4740–4742.

DOI: <https://doi.org/10.1039/b005319h>

**Bunkin N.F.** — Dr. Sc. (Phys.-Math.), Professor, Department of Physics, BMSTU (2-ya Baumanskaya ul. 5, str. 1, Moscow, 105005 Russian Federation).

**Timchenko S.L.** — Dr. Sc. (Eng.), Assoc. Professor, Professor, Department of Physics, BMSTU (2-ya Baumanskaya ul. 5, str. 1, Moscow, 105005 Russian Federation).

**Bolotskova P.N.** — Post-Graduate Student, Department of Physics, BMSTU (2-ya Baumanskaya ul. 5, str. 1, Moscow, 105005 Russian Federation).

**Zadorozhnyi E.N.** — Post-Graduate Student, Department of Pedagogy and Digital Educational Technologies, BMSTU (2-ya Baumanskaya ul. 5, str. 1, Moscow, 105005 Russian Federation).

**Kozlov V.A.** — Cand. Sc. (Phys.-Math.), Assoc. Professor, Department of Physics, BMSTU (2-ya Baumanskaya ul. 5, str. 1, Moscow, 105005 Russian Federation).

**Please cite this article in English as:**

Bunkin N.F., Timchenko S.L., Bolotskova P.N., et al. Influence of the isotopic composition of aqueous solutions on the kinetics of the redox process. *Herald of the Bauman Moscow State Technical University, Series Natural Sciences*, 2025, no. 4 (121), pp. 78–95 (in Russ.).

EDN: QYDUNY