

ФИО соискателя Рыбочкин Павел Владимирович

Название диссертации *Биогбридные палладиевые катализаторы на бактериальных клетках: синтез, характеристика и применение в реакциях кросс-сочетания*

Шифр специальности –1.4.14 – кинетика и катализ

Химические науки

Шифр диссертационного совета 24.1.092.02

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук

119991, Москва, Ленинский проспект, 47

Тел.:(499) 137-13-79

E-mail: sci-secr@ioc.ac.ru

Дата размещения полного текста диссертации на сайте Института <http://zioc.ru/>

7 апреля 2025 года

Дата приема к защите

15 апреля 2025 года

Дата размещения автореферата на сайте ВАК <https://vak.minobrnauki.gov.ru>

16 апреля 2025 года

На правах рукописи



Рыбочкин Павел Владимирович

**БИОГИБРИДНЫЕ ПАЛЛАДИЕВЫЕ КАТАЛИЗАТОРЫ НА
БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ: СИНТЕЗ, ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ И
ПРИМЕНЕНИЕ В РЕАКЦИЯХ КРОСС-СОЧЕТАНИЯ**

1.4.14 Кинетика и катализ

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата химических наук

Тула – 2025

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Тульский государственный университет»

Научный руководитель: **Каманина Ольга Александровна**
кандидат химических наук, доцент, ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тульский государственный университет»

Официальные оппоненты: **Чернышев Виктор Михайлович**
доктор химических наук, профессор РАН, главный научный сотрудник Автономной некоммерческой образовательной организации высшего образования «Сколковского института науки и технологий»

Лихолобов Владимир Александрович
доктор химических наук, член-корреспондент РАН, профессор, научный руководитель Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Омский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ОНЦ СО РАН)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ордена Трудового Красного Знамени Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева Российской академии наук (ИНХС РАН)

Защита состоится «__» _____ 2025 года, в ____ на заседании диссертационного совета 24.1.092.02 в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении науки Институте органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН по адресу: 119991, г. Москва, Ленинский проспект, д. 47, конференц-зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИОХ РАН и на сайте <https://zioc.ru/>. Автореферат разослан «__» _____ 2025 года.

Ваш отзыв в двух экземплярах, заверенный гербовой печатью, просим направлять по адресу: 119991 г. Москва, Ленинский проспект, 47, ученому секретарю Диссертационного совета ИОХ РАН

Учёный секретарь
диссертационного совета 24.1.092.02
кандидат химических наук



Е.А. Редина

Общая характеристика работы

Актуальность темы исследования. Реакции кросс-сочетания, катализируемые наночастицами палладия (НЧ Pd), имеют ключевое значение в промышленном и лабораторном синтезе, так как обеспечивают получение целевого продукта через образование C–C, C–N, C–O связей с высокой селективностью и эффективностью. Наночастицы палладия стабилизируются нанесением на различные неорганические и углеродные носители, что обеспечивает высокую активность и возможность повторного использования катализатора. Различные аллотропные модификации углерода широко используются в качестве носителей НЧ Pd. Известны их достоинства: инертность; варьируемая в широком диапазоне удельная площадь поверхности; контроль свойств поверхности; возможность утилизации после применения катализатора для выделения металла и его повторного использования. К основному недостатку относят недостаточную воспроизводимость функциональных и текстурных характеристик. Получение углеродных материалов сопряжено с значительными затратами энергии на карбонизацию и необходимую активацию поверхности. Известны носители НЧ Pd, представляющие собой оксиды кремния (SiO_2), алюминия (Al_2O_3), титана (TiO_2), церия (CeO_2) и магния (MgO). Перечисленные оксиды обладают своими достоинствами и недостатками, их получение может быть осложнено необходимостью в дорогостоящем оборудовании, высоких температурах и строгом контроле процесса синтеза.

Носители биологической природы – клетки бактерий – альтернатива неорганическим и углеродным носителям. При этом клетки бактерий могут принимать участие в формировании наночастиц металла. Процесс получения НЧ Pd с использованием бактерий удобен и прост по сравнению с традиционными способами. Преимуществом бактериальных носителей являются относительно низкие затраты энергии на производство биомассы (затраты энергии на получение 1 кг: аэробных бактерий – от 42 до 56 МДж; сажи около 75,3 МДж; активированного угля – от 44 до 170 МДж; оксида графена – от 7,2 МДж до 68 ГДж; углеродных нанотрубок – от 2,2 до 9,4 ГДж). Поверхность бактерий хорошо воспроизводима благодаря генетически детерминированным структурам клеток. Некоторые клетки бактерий способны препятствовать агрегации наночастиц палладия, замедляя или останавливая дезактивацию катализатора. Эти достоинства обеспечивают благоприятную перспективу для биоформирования НЧ Pd и применения бактерий в качестве носителей, что позволит относительно просто, с невысокими затратами энергии получать активный катализатор с контролируемым размером наночастиц. Биогибридные катализаторы имеют большие перспективы для улучшения экологической устойчивости и промышленного применения, что делает их разработку важной областью исследования в нанотехнологиях и катализе. Большинство работ о формировании наночастиц металла с использованием бактерий ограничены и

не фокусируются на детальном исследовании каталитической активности полученных биогибридных материалов (наночастиц металла на бактериальном носителе). Комплексное изучение формирования НЧ Pd при использовании бактерий и создание биогибридных палладиевых катализаторов является сложной, междисциплинарной, при этом актуальной и важной научной задачей.

Некоторые виды микроорганизмов, обитающие в среде богатой ионами и соединениями металлов, адаптированы к их присутствию и способны к биосорбции и биовосстановлению металла до наночастиц. В данной работе предположили, что штамм аэробных бактерий *Paracoccus yeii* В-3302 (выделен из активного ила очистных сооружений г. Тулы, охарактеризован и депонирован во Всероссийскую коллекцию микроорганизмов (ВКМ) г. Пущино) способен к формированию НЧ Pd из соли металла и может быть носителем наночастиц палладия в катализе.

Цель: разработать биогибридный катализатор на основе аэробных бактерий *Paracoccus yeii* ВКМ В-3302 и наночастиц палладия для применения в реакциях тонкого органического синтеза.

Задачи:

1. Синтезировать и охарактеризовать катализатор, состоящий из наночастиц палладия и аэробных бактерий *Paracoccus yeii* (Pd/P. *yeii*).
2. Оценить влияние термически инактивированных и нативных бактерий *Paracoccus yeii* на формирование наночастиц палладия при приготовлении катализатора Pd/P. *yeii*
3. Испытать полученный катализатор Pd/P. *yeii* в реакциях Мизороки-Хека и Сузуки-Мияуры.
4. Повысить срок службы катализатора в реакции Мизороки-Хека, интегрировав Pd/P. *yeii* в кремнийорганический материал, полученный золь-гель методом.
5. Выработать рекомендации по применению биогибридных катализаторов в проектах устойчивого развития (sustainable chemistry).

Научная новизна: Впервые продемонстрирована возможность использования бактерий *Paracoccus yeii* ВКМ В-3302 в качестве носителей наноразмерных форм палладия и разработаны новые биогибридные палладиевые катализаторы. Показано, что НЧ Pd формируются снаружи и внутри клетки, средний размер наночастиц внутри бактерий меньше, чем на поверхности. Обнаружено, что живые клетки эффективно способствуют формированию наноразмерных форм палладия и стабилизации наночастиц металла. При использовании в приготовлении катализатора мёртвых (пастеризованных и автоклавированных) клеток *Paracoccus yeii* (*P. yeii*) средний размер наночастиц увеличивается, что снижает каталитическую активность в реакциях Мизороки-Хека и Сузуки-Мияуры. Продемонстрировано, что использование нитрата палладия приводит к формированию менее эффективного в реакции катализатора, поскольку

происходит гибель бактерий *P. yeii*. Путём иммобилизации Pd/*P. yeii* в кремнийорганический материал достигается уменьшение вымывания палладия с биологического носителя, что увеличивает срок службы катализатора.

Практическая значимость работы: Работа вносит практический вклад в разработку биогридных катализаторов для органического синтеза. Предложенная в работе методика позволяет получать катализатор при комнатной температуре в водной среде, используя аэробные бактерии *P. yeii* для формирования НЧ Pd размером 1–7 нм. Разработана удобная, простая и быстрая процедура синтеза катализатора. Общее время приготовления катализатора составляет 7 мин., после чего он может быть использован в реакциях Мизороки-Хека и Сузуки-Мияуры. Методику можно масштабировать для потенциального увеличения объёмов производства катализатора. Установлено, что активность катализатора Pd/*P. yeii* сопоставима с активностью коммерчески доступного катализатора Pd/C.

Достоверность результатов и выводов обеспечена использованием современных методов анализа (электронная микроскопия, хромато-масс-спектрометрия (ХМС), рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия (РФЭС), масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС), микро-рентгенофазовый анализ (микро-РФА), спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и др.) для описания полученного катализатора Pd/*P. yeii* и анализа его активности в реакциях Мизороки-Хека и Сузуки-Мияуры. Достоверность результатов и выводов обеспечена апробацией результатов исследований в форме докладов на профильных научных конференциях и публикацией результатов исследования в профильных рецензируемых научных изданиях.

Апробация работы.

Результаты диссертационного исследования опубликованы в 4 международных рецензируемых научных журналах и прошли апробацию в форме докладов на всероссийских и международных научных конференциях:

Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов – 2021» г. Москва, 12-23 апреля 2021 года

XXIX Международная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов – 2022» г. Москва, 11-22 апреля 2022 года

Конференция-школа «Новые горизонты катализа и органической химии» г. Москва, 19-20 мая 2022 года

Конференция-школа «Фундаментальные открытия, формирующие химию сегодня» г. Москва, 24-25 ноября 2022 года

Научная конференция-школа «Лучшие катализаторы для органического синтеза» г. Москва, 12-14 апреля 2023 года

XXXI Международная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов» г. Москва, 12-26 апреля 2024 года

Международная научная конференция-школа «Биогридные системы в химии, биотехнологии и медицине» г. Тула, 22-23 апреля 2024 года
Третий международный симпозиум «Химия для биологии, медицины, экологии и сельского хозяйства» г. Санкт-Петербург, 5-7 июня 2024 года

Положения, выносимые на защиту.

1. Определение локализации наночастиц палладия относительно аэробных бактерий *Paraccocus yeii* ВКМ В-3302, доказательство необходимости применения бактерий с неповреждённой цитоплазматической мембраной для эффективной стабилизации наночастиц палладия.

2. Установлено преимущество использования ацетата перед нитратом палладия для формирования наноразмерных форм Pd на грамметрических аэробных бактериях *Paraccocus yeii* ВКМ В-3302.

3. Новый катализатор на основе наночастиц палладия, стабилизированных клетками бактерии *P. yeii*, способен эффективно катализировать реакции Мизороки-Хека и Сузуки-Мияуры, а его активность сопоставима с коммерческим катализатором Pd/C.

4. Подход к снижению вымывания палладия с носителя, путём включения катализатора Pd/*P. yeii* в кремнийорганический материал, что повышает срок его службы.

Личный вклад соискателя состоит в выполнении работы по разработке методики получения катализатора Pd/*P. yeii* и большей части работы по его описанию, в том числе приготовление катализатора и подготовка его к анализу. Соискатель выполнил большую часть синтетических и кинетических экспериментов, интерпретировал и обобщил значительную часть экспериментальных данных, провёл анализ научной литературы, подготовил публикации. Активно участвовал в написании научных статей. Лично участвовал в апробации результатов научной работы на отечественных и международных конференциях.

Структура работы. Диссертационная работа состоит из введения, 3 глав, выводов и списка литературы, включающего 272 источника. Материал диссертации изложен на 124 страницах машинописного текста, включает 41 рисунок, 13 схем и 9 таблиц.

Основное содержание работы

Обсуждение результатов

1. Синтез и характеристика катализатора Pd/*P. yeii*

Ацетат палладия (II) и нитрат палладия (II) использовали в качестве предшественников наночастиц для приготовления катализатора Pd/*P. yeii*. Барботирование водородом смеси клеток *P. yeii* и соли палладия в дистиллированной воде (скорость потока газа 0,53 мл/мин) проводили в течение 0,5, 1, 2, 5 и 10 мин.. Сканирующей электронной микроскопией (СЭМ) показано, что продолжительность подачи водорода существенно влияет как на формирование частиц Pd, так и на покрытие ими клеток (Рисунок 1). Видно,

что барботирования водородом в течение 0,5 и 1 мин. (Рисунок 1А, Б) недостаточно для формирования НЧ Pd в присутствии ацетата палладия (II). После 2 мин. (Рисунок 1В) подачи водорода происходит покрытие клеток наночастицами палладия без значительной агломерации, которую наблюдали после 5 мин. барботирования (Рисунок 1Г). После 10 мин. (Рисунок 1Д) вместе с агломерацией наночастиц дополнительно образуются монолитные структуры из клеток.

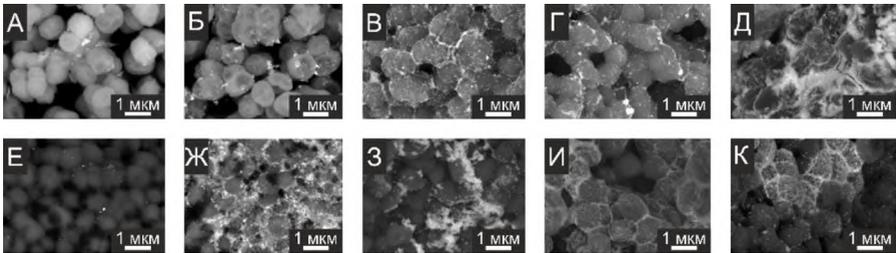


Рисунок 1. СЭМ изображения катализатора Pd/*P. yeii*, полученного с использованием разных солей палладия и при времени барботирования: А, Б, В, Г, Д – Pd(OAc)₂ 0,5, 1, 2, 5 и 10 мин., соответственно; Е, Ж, З, И, К – Pd(NO₃)₂ 0,5, 1, 2, 5 и 10 мин., соответственно

Изображения СЭМ катализатора Pd/*P. yeii*, полученного при использовании Pd(NO₃)₂ и подачи H₂ на протяжении 1 мин. и более, демонстрируют покрытие клеток металлом, но выделить какую-то зависимость из полученных изображений затруднительно (Рисунок 1 Ж–К).

С катализаторами Pd/*P. yeii*, приготовленными с использованием нитрата и ацетата палладия при разном времени подачи H₂ (Рисунок 2), и при разной температуре (Рисунок 3) осуществили реакцию Мизороки-Хека (Схема 1) и определили выход продукта.

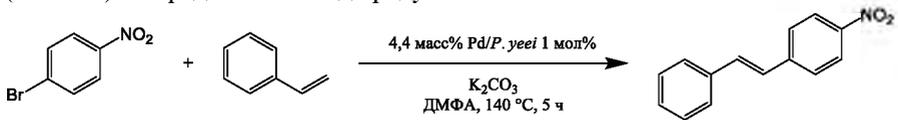


Схема 1. Реакция Мизороки-Хека

Максимальный выход продукта в реакции Мизороки-Хека получен с катализатором Pd/*P. yeii*, приготовленным при использовании Pd(OAc)₂, времени подачи H₂ 2 мин. и температуре 25 °С. Выход 4-нитро-*транс*-стильбена с катализатором Pd/*P. yeii*, приготовленным из Pd(NO₃)₂, ниже и не имеет однозначной зависимости (Рисунок 2). Оптимум температуры для формирования Pd/*P. yeii* из Pd(NO₃)₂ точно не определён (Рисунок 3), но наблюдали увеличение выхода продукта с ростом температуры выше 40 °С, когда происходит денатурация белков клетки и нарушение гомеостаза, что

может негативно повлиять на их способность к формированию и стабилизации наночастиц определённого размера.

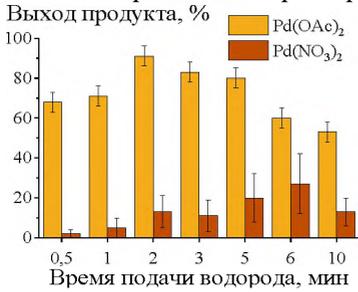


Рисунок 2. Выход продукта реакции Мизороки-Хека с катализаторами Pd/*P. yeii*, приготовленными при разном времени подачи H₂

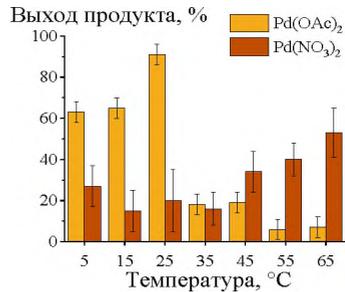


Рисунок 3. Выход продукта реакции Мизороки-Хека с катализаторами Pd/*P. yeii*, приготовленными при разной температуре

Низкий выход продукта реакции Мизороки-Хека с применением катализатора Pd/*P. yeii*, приготовленного из Pd(NO₃)₂, вероятно, связан с негативным воздействием нитрата палладия на клетки микроорганизмов, что проверили при помощи флуоресцентной микроскопии (ФМ) (Рисунок 4).

При барботировании H₂ смеси бактерий и нитрата палладия наблюдали увеличение количества клеток с нарушенной цитоплазматической мембраной (Рисунок 4 И–М), о чём свидетельствует увеличение числа клеток с красной люминесценцией. В этих условиях происходит гибель бактерий *P. yeii*. Подобного негативного воздействия не происходит при использовании ацетата палладия (Рисунок 4 Б–Е). Сделан вывод, что применение нитрата палладия приводит к гибели клеток, и для приготовления катализатора целесообразно использовать ацетат палладия.

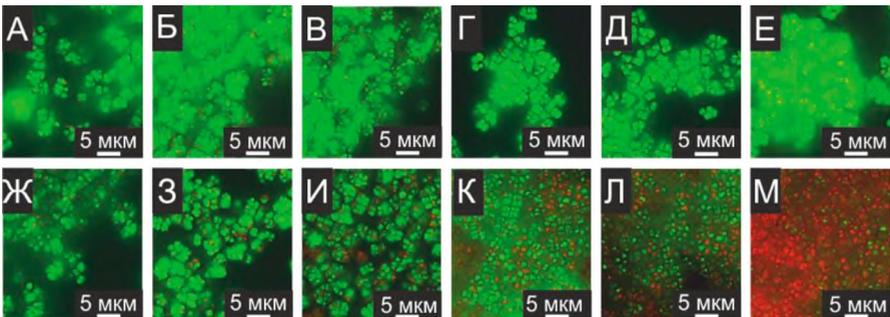


Рисунок 4. Изображения ФМ бактерий *P. yeii*: А, Ж – без соли Pd и H₂; Б – с Pd(OAc)₂ до подачи H₂; В, Г, Д, Е – с Pd(OAc)₂ и барботированием H₂ в течение 1, 2, 5 и 10 мин., соответственно; З – с Pd(NO₃)₂ до подачи H₂; И, К,

Л, М – с $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ и барботированием H_2 в течение 1, 2, 5 и 10 мин., соответственно

Можно предположить, что предпочтительное формирование и стабилизация НЧ Pd происходит при использовании нативных клеток. Для подтверждения этой гипотезы клетки бактерий перед приготовлением катализатора Pd/*P. yeii* предварительно обрабатывали пастеризацией и автоклавированием, анализировали образцы, используя флуоресцентную микроскопию (Рисунок 5).

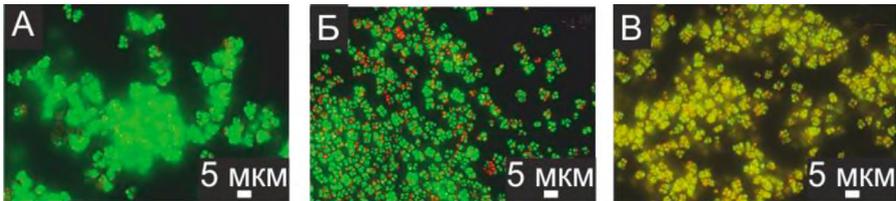


Рисунок 5. Изображения ФМ катализатора Pd/*P. yeii*, приготовленного из бактерий: А – без обработки; Б – пастеризованные; В – автоклавированные

Жёлтая флуоресценция автоклавированных клеток обусловлена не полным замещением красителя SYTO9 на йодид пропидия в мёртвых клетках, это известное явление, которое может возникнуть при использовании данных красителей. Малое количество пастеризованных бактерий с красной люминесценцией демонстрирует сохранение структуры цитоплазматической мембраны клеток, однако 45 мин. при температуре 64 °С достаточно для гибели неспорообразующих мезофильных бактерий. Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) срезов приготовленных катализаторов показала, что независимо от начального состояния бактерий происходит формирование НЧ Pd (Рисунок 6).

Однако, минимальный средний размер наночастиц и узкий диапазон распределения по размерам характерен для наночастиц на носителе из нативных бактерий (Рисунок 6 Г). В случае пастеризованных и автоклавированных клеток произошло образование агломератов НЧ Pd размером около 20 нм (Рисунок 6 Ж и Л). Распределение НЧ Pd по размерам показало (Рисунок 6 Г, З, М), что применение нативных клеток гарантирует узкий диапазон распределения размера НЧ Pd и средний диаметр наночастиц $3,99 \pm 0,03$ нм, что в 2,3 и 2,7 раз меньше, чем при использовании пастеризованных ($9,1 \pm 0,3$ нм) и автоклавированных ($10,7 \pm 0,1$ нм) клеток, соответственно. Т.о. сделан вывод, что компоненты бактерий *P. yeii* ВКМ В-3302 играют ключевую роль в стабилизации размера наночастиц, что важно для поиска путей контролируемого биосинтеза НЧ Pd требуемого размера и определения точного механизма процессов формирования и стабилизации наночастиц металла клетками бактерий.

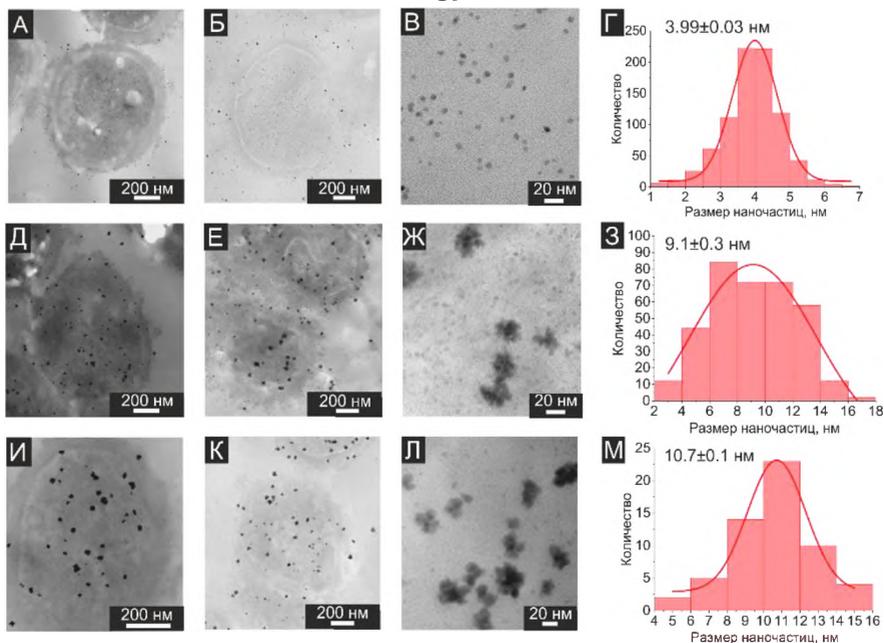


Рисунок 6. Изображение ПЭМ и распределение НЧ Pd по размерам в катализаторах Pd/P. *yeii*, приготовленных из бактерий: А–Г – нативных; Д–З – пастеризованных; И–М – автоклавированных

С катализаторами Pd/P. *yeii*, приготовленными с использованием нативных, пастеризованных и автоклавированных клеток бактерий, осуществили реакцию Мизороки-Хека (Схема 1).

Выход продукта реакции в случае катализаторов, приготовленных из термически обработанных клеток, значительно ниже (8 % и 6 % пастеризованные и автоклавированные клетки, соответственно), чем при использовании нативных клеток (96 %), что подтверждает падение каталитической активности с ростом размера наночастиц.

Учитывая термическую обработку клеток перед приготовлением катализатора и показанное флуоресцентной микроскопией нарушение цитоплазматической мембраны автоклавированных бактерий, можно предположить, что целостность мембраны и внутренних структур клетки необходима для эффективной стабилизации наночастиц. Показано, что применение живых бактерий *P. yeii* необходимо для приготовления катализатора Pd/P. *yeii* с НЧ Pd размером 1–7 нм (Рисунок 7).

Таким образом, в работе продемонстрирована возможность использования бактерий *Paracoccus yeii* ВКМ В-3302 как носителя наночастиц палладия. Показано, что НЧ Pd формируются снаружи и внутри клетки,

средний размер наночастиц $3,99 \pm 0,03$ нм (Рисунок 7). Обнаружено, что живые клетки способствуют эффективной стабилизации наноразмерных форм палладия.

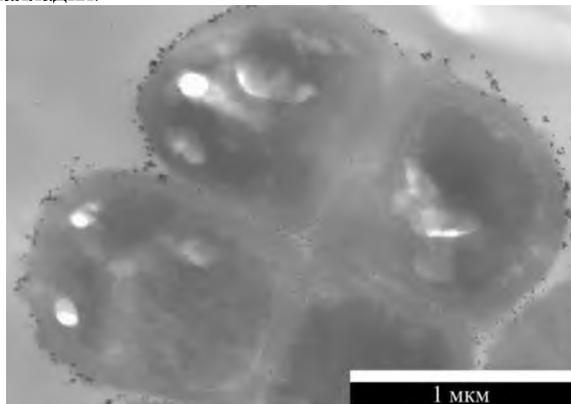


Рисунок 7.
Изображение катализатора Pd/P. yeii, полученное сканирующей электронной микроскопией в режиме прошедших электронов (СПЭМ)

Готовили катализаторы Pd/P. yeii, используя разные методы сушки, после осуществляли реакцию Мизороки-Хека (Схема 1) и определяли выход продукта реакции (Таблица 1).

Таблица 1. Выходы продукта реакции Мизороки-Хека с катализатором Pd/P. yeii (после барботирования водородом в течение 2 мин.)

Метод сушки	48 ч. на воздухе	Без сушки	Обработка этанолом	Сушка на ротормном испарителе	Обработка ацетоном
Выход продукта, %	96	59	96	95	92

Использование катализатора без предварительной сушки снижает выход продукта. Выходы продукта реакций с катализаторами, полученными при других методах сушки сопоставимы, что позволяет значительно сократить время приготовления катализатора (обработка этанолом и ацетоном) до 7 мин.. Однако, растворители могут повлиять на состояние клеточной мембраны и органелл, поэтому в дальнейшей работе использовали сушку в течение 48 ч. при комнатной температуре и атмосферном давлении.

Таким образом, для приготовления катализатора Pd/P. yeii выбраны оптимальными условия: 25 °С, 2 мин. подачи водорода со скоростью 0,53 мл/мин. Синтез проводят, используя живые бактерии и ацетат палладия. Катализатор сушили при атмосферном давлении и комнатной температуре 48 ч. Дальнейшие исследования проводили с катализатором Pd/P. yeii, приготовленном при данных условиях. Метод приготовления из

возобновляемых ресурсов при комнатной температуре биогибридного катализатора Pd/*P. yeai* позволяет минимизировать отходы, снижая общую токсичность метода.

Распределение Pd на поверхности носителя оценивали по изображениям СЭМ с композиционным контрастом и картам элементов, полученным с использованием метода рентгеноспектрального микроанализа (РСМА) (Рисунок 8).

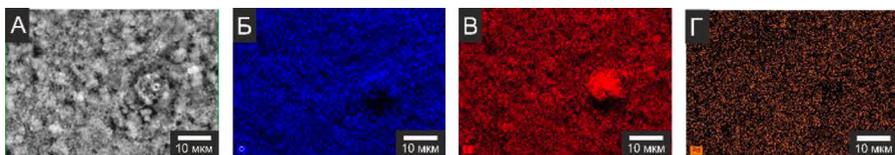


Рисунок 8. СЭМ изображение катализатора Pd/*P. yeai* с композиционным контрастом (А) и карты распределения О, С и Pd (Б, В, Г, соответственно) на соответствующем участке образца

РСМА подтвердил покрытие клеток палладием в образце катализатора Pd/*P. yeai*, полученном при использовании Pd(OAc)₂ и подаче водорода на протяжении 2 мин..

РФЭС анализ приготовленного катализатора Pd/*P. yeai* продемонстрировал наличие на бактериальном носителе трёх форм палладия (Рисунок 9).

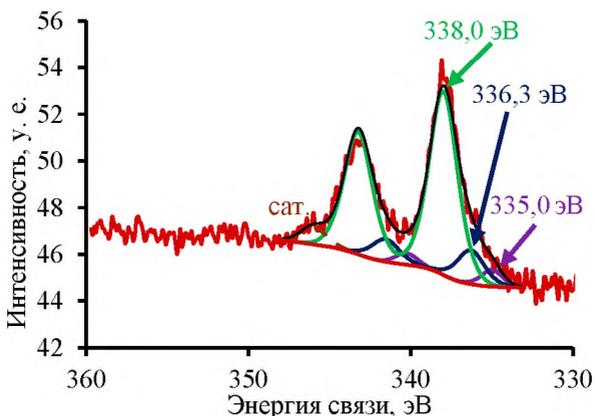


Рисунок 9. РФЭС спектр поверхности катализатора Pd/*P. yeai*

Спектр РФЭС показал, что на поверхности наночастиц палладий присутствует в трех формах. Первая и вторая форма – это 6 ат% Pd(0) и 14 ат% PdO, ожидаемы при приготовлении катализатора. Появление спектральной линии (338 эВ) можно объяснить либо образованием ацетатных комплексов с

донорными лигандами, либо образованием субнаноразмерных кластеров палладия. Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой показала, что среднее содержание Pd в катализаторе Pd/P. *yeii* после приготовления составило $4,4 \pm 0,5$ масс%. Т.о., катализатор Pd/P. *yeii* представляет собой аэробные бактерии, часть которых равномерно покрыта НЧ Pd со средним размером $3,99 \pm 0,03$ нм. НЧ Pd находятся внутри и на поверхности клеток. Большая часть приповерхностного палладия, находится в виде комплексов или в виде субнаноразмерных кластеров. Содержание Pd в катализаторе Pd/P. *yeii* составило $4,4 \pm 0,5$ масс%.

2. Pd/P. *yeii* в реакциях образования связей углерод-углерод

Осуществлены реакции Мизороки-Хека и Сузуки-Мияуры (Схема 2) с катализатором Pd/P. *yeii* и Pd/C и разными исходными веществами (Таблица 2).

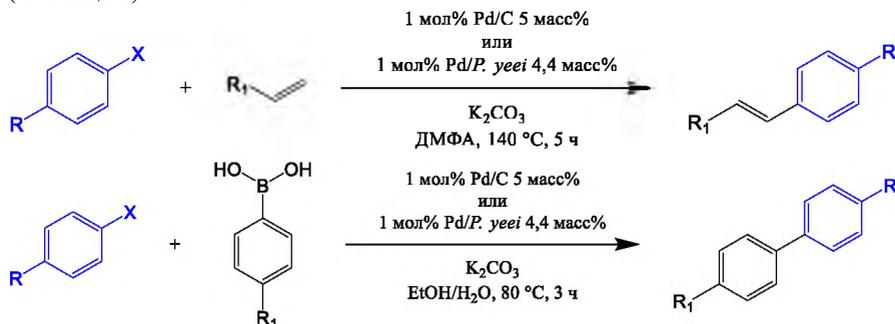


Схема 2. Условия реакций Мизороки-Хека и Сузуки-Мияуры X=Br, I

Таблица 2. Исходные вещества и выходы продукта реакций, приведённых на Схеме 2 (А – Pd/C; Б – Pd/P. *yeii*)

Реакция	Мизороки-Хека				Сузуки-Мияуры			
	Вещества		Вещества		Вещества		Вещества	
	А	Б	А	Б	А	Б	А	Б
	95	90	88	92	93	97	78	91
	95	96	94	94	82	93	86	96
	93	92	92	80	87	95	73	92
	80	81	85	90	92	95	91	86
	60	72	4	12	87	90	76	83

Катализатор Pd/*P. yeii* обеспечивает выходы продуктов реакций Мизороки-Хека и Сузуки-Мияуры на уровне сопоставимом с коммерческим катализатором Pd/C. Pd/*P. yeii* можно использовать в качестве катализатора реакций Мизороки-Хека и Сузуки-Мияуры.

Предположительно Pd/*P. yeii* может быть, как гетерогенным катализатором, так и предшественником для различных форм палладия в объёме реакционной смеси, чтобы выявить факт перехода соединений Pd с бактериального носителя в реакционную смесь, провели тест (Рисунок 10) на примере реакции получения 4-нитро-*транс*-стильбена с использованием 1-йодо-4-нитробензола и загрузкой веществ 0,15 ммоль, объём ДМФА 2 мл.

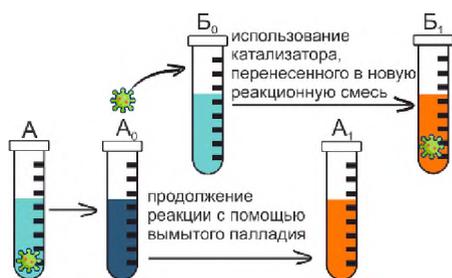


Рисунок 10. Схема проведения эксперимента по проверке вымывания палладия

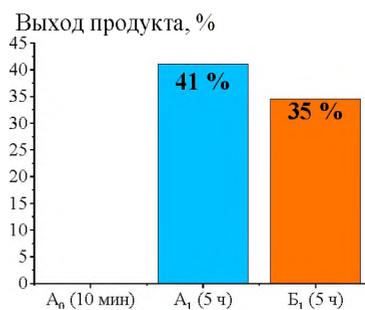


Рисунок 11. Выход продукта в точках A₀, A₁ и B₁

Для этого через 10 мин. после начала реакции извлекали катализатор из реакционной смеси (Рисунок 10 точка A₀), промывали растворителем и помещали в новую реакционную смесь без катализатора (Рисунок 10 точка B₀). Обе реакционные смеси оставляли при температуре реакции на 5 ч.. После чего оценивали выход продукта в них (Рисунок 11 точки A₁ и B₁). Т. о. подтверждено, что часть палладия при осуществлении реакции переходит с носителя в реакционную смесь, а часть остаётся на носителе, так как есть образование продукта в обеих реакционных смесях (Рисунок 11). Эксперимент по горячему фильтрованию также подтвердил, что происходит вымывание НЧ Pd с биологического носителя.

Далее, используя метод «перезапуска реакции» (Fresh start, FS) и метод с отделением катализатора (Catalyst separation, CS), провели оценку возможности многократного использования Pd/*P. yeii* в реакциях образования связи С-С (Схема 3). Оба метода (FS и CS) показали сохранение высокого уровня каталитической активности Pd/*P. yeii* после 5 последовательных реакций (Рисунок 12). Анализ реакционной смеси методом ИСП-МС показал, что за 5 циклов реакции Мизороки-Хека с носителя в реакционную смесь

перешло около 23 % всего палладия. Массовое содержание Pd на носителе после 5 циклов реакции составило около 3,37 масс%.

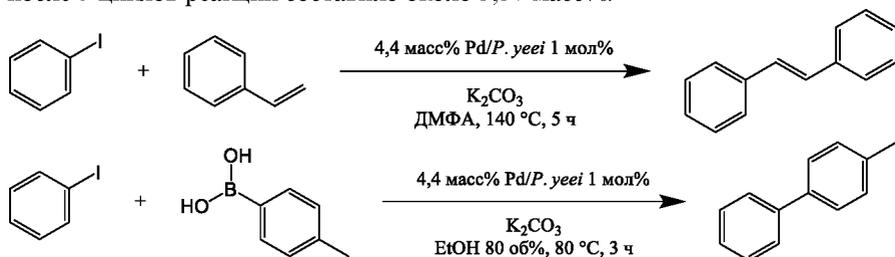


Схема 3. Условия реакций Мизороки-Хека и Сузуки-Мияуры для многократного использования катализатора

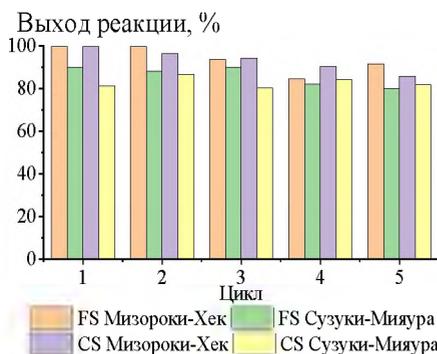


Рисунок 12. Выходы продуктов реакций Мизороки-Хека и Сузуки-Мияуры при многократном использовании катализатора Pd/P. yeei

Катализатор после 5 циклов реакции Мизороки-Хека был отделён от реакционной смеси и исследован методами микро-рентгенофазового анализа и СПЭМ. Средний размер наночастиц после пяти последовательных циклов реакции Мизороки-Хека увеличился до $6,5 \pm 0,1$ нм (по данным СПЭМ). Основная форма палладия до и после 5 циклов реакции Мизороки-Хека – Pd(0) (по данным микро-РФА).

Показано, что часть Pd остаётся на носителе в условиях реакции. После пяти последовательно проведённых реакций НЧ Pd сохраняют размер в диапазоне от 3 до 20 нм, падение активности составило 12 %, что связано с увеличением размера наночастиц и потерей металла с носителя в количестве 23 % от начального содержания.

Таким образом, установлено, что Pd/P. yeei проявляет характеристичные признаки «коктейлевого» типа катализа с частичным вымыванием активного компонента. Системы «коктейлевого» типа наилучшим образом зарекомендовали себя на практике в целом ряде процессов C–C соотания и отмечены, как простые и универсальные катализаторы для органического синтеза.

3. Кинетические эксперименты с катализатором Pd/*P. yeii*

Проведены кинетические исследования для оценки активности катализатора Pd/*P. yeii* в сравнении с коммерческим катализатором Pd/C. С этой целью реакцию Мизороки-Хека (Схема 4 А) проводили при температурах 100, 120, 140, 160 °С с использованием загрузки катализатора в перерасчёте на Pd 0,1 мол%. Идентифицированным побочным продуктом, образующимся в ходе реакции, является 4,4'-динитробифенил (Схема 4 Б).

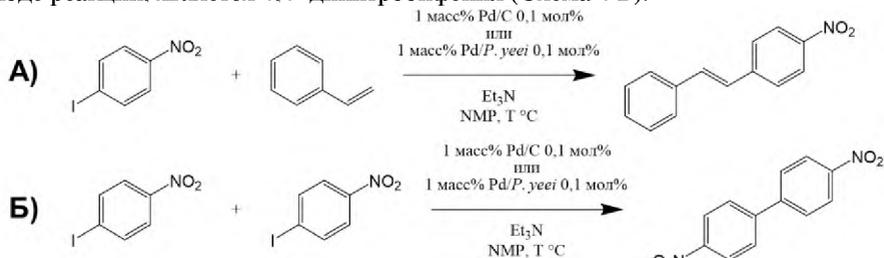


Схема 4. Образование целевого (А) и побочного (Б) продукта реакции Мизороки-Хека

Кинетические кривые (Рисунок 13) демонстрируют незначительную разницу в образовании 4-нитро-стильбена при использовании катализаторов Pd/C и Pd/*P. yeii*. С целью количественной оценки разницы в образовании продукта реакции определили среднюю начальную скорость образования 4-нитро-стильбена, как тангенс угла наклона линейной аппроксимирующей прямой начального участка кинетической зависимости (Таблица 3).

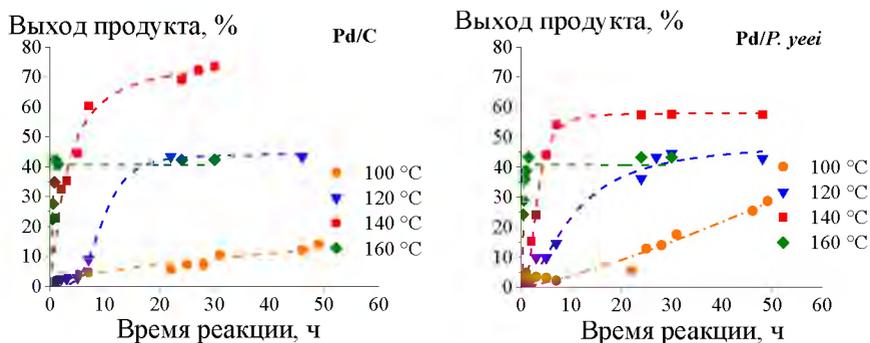


Рисунок 13. Выход 4-нитростильбена (Схема 4) в зависимости от времени

Определённая начальная скорость реакции при использовании катализатора Pd/*P. yeii* значительно не отличается от скорости реакции при использовании Pd/C. Дополнительно определена селективность образования

продукта и удельная производительность катализаторов (Рисунок 14) Pd/P. *yeei* и Pd/C.

Таблица 3. Средняя начальная скорость образования продукта реакции Мизороки-Хека (Схема 4)

Т, °С	Средняя начальная скорость образования продукта, мкмоль/(ч·мл)	
	Pd/C	Pd/P. <i>yeei</i>
100	3	3
120	7	6
140	26	22
160	146	150

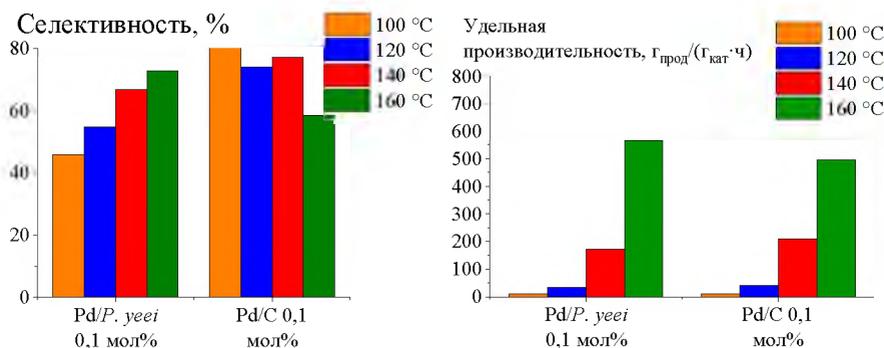


Рисунок 14. Селективность образования 4-нитро-стильбена и удельная производительность катализаторов

Примечательным является рост селективности в реакции катализатора Pd/P. *yeei* с возрастанием температуры. Возможно повышение температуры приводит к увеличению доступности субстрата к НЧ Pd внутри клеток в связи с разрушением бактерий. По-видимому, эти наночастицы обладают формой и размером способствующим селективному образованию продукта. Удельные производительности катализаторов Pd/P. *yeei* и Pd/C сопоставимы, что подтверждается значениями начальных скоростей реакции.

Определены число оборотов (TON, turnover number) и частота оборотов (TOF, turnover frequency) катализаторов для сравнения (Таблица 4). Расчёт эффективной энергии активации образования продукта проводили по методу начальных скоростей ($\ln r_0 = const - \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T}$).

Значения TON и TOF численно больше у катализатора Pd/C, чем у катализатора Pd/P. *yeei*. Однако, высокая конверсия и расход исходного арилгалогенида приводит к более высокой производительности Pd/P. *yeei*, в осуществлённой реакции. Эффективные энергии активации образования целевого продукта у катализаторов значимо не различаются.

Таблица 4. TON, TOF и эффективная энергия активации образования продукта

T, °C	TON		TOF, ч ⁻¹	
	Pd/C	Pd/P. <i>yeei</i>	Pd/C	Pd/P. <i>yeei</i>
100	135	231	5	5
120	468	401	21	15
140	666	560	95	80
160	466	378	311	252
Эффективная энергия активации, кДж/моль (метод начальных скоростей)				
Pd/C		Pd/P. <i>yeei</i>		
98,8		90,2		

Кинетические исследования демонстрируют идентичность Pd/P. *yeei* и Pd/C. На следующем этапе работы с целью снижения потери металла и увеличения срока службы катализатор Pd/P. *yeei* внедрили в кремнийорганический материал.

4. Внедрение Pd/P. *yeei* в кремнийорганический материал

Ранее клетки P. *yeei* были внедрены в кремнийорганический материал (органомодифицированный силикат – ORMOSIL), полученный золь-гель методом при использовании силановых прекурсоров – метилтриэтоксисилана (МТЭС) и тетраэтоксисилана (ТЭОС) – структуроуправляющего агента поливинилового спирта (ПВС) при катализе фторидом натрия. При этом в материале образуются мезо- и макропоры, а итоговая удельная площадь поверхности составляет 359 м²/г по модели Ленгмюра, 312 м²/г по модели БЭТ. Внедрение Pd/P. *yeei* в кремнийорганический материал может уменьшить потерю металла с носителя, для проверки гипотезы проводили внедрение катализатора Pd/P. *yeei* в кремнийорганический материал. При внедрении использовали начальное соотношение по массе 3/1/43/44 P. *yeei*/ПВС/МТЭС/ТЭОС (Схема 5). Таким образом приготовлен катализатор, представляющий собой НЧ Pd (средний размер 5,2±0,4 нм) на аэробных бактериях P. *yeei*, включённых в кремнийорганический материал (Pd/P. *yeei*@ORMOSIL) (Рисунок 15). По результатам анализа методом ИСП-МС после внедрения Pd/P. *yeei* 4,4 масс.% в кремнийорганический материал, получили катализатор Pd/P. *yeei*@ORMOSIL с содержанием Pd 0,61±0,07 масс%.

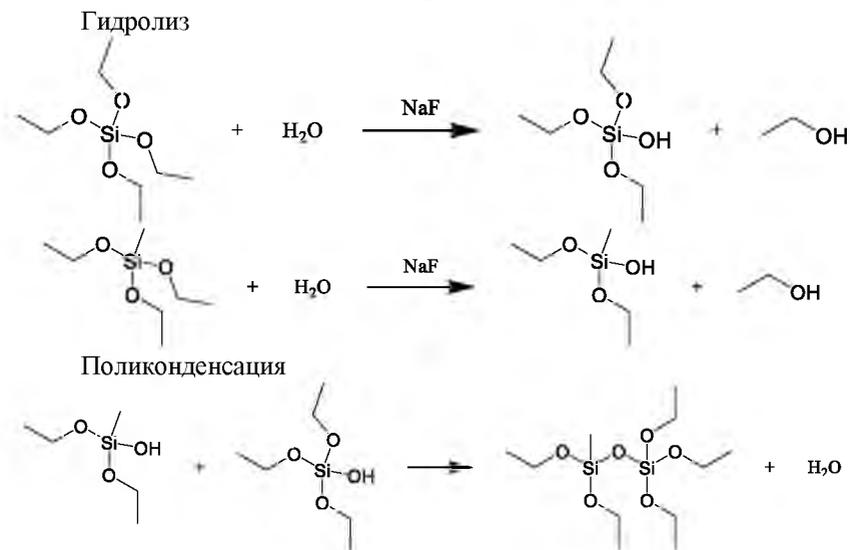


Схема 5. Стадии образования кремнийорганического материала

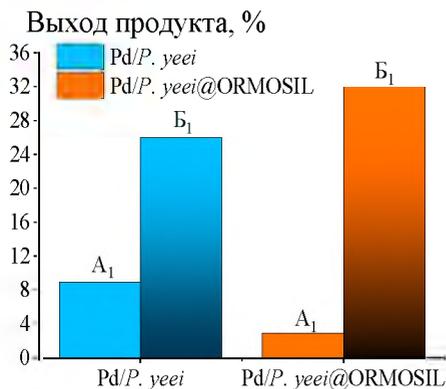
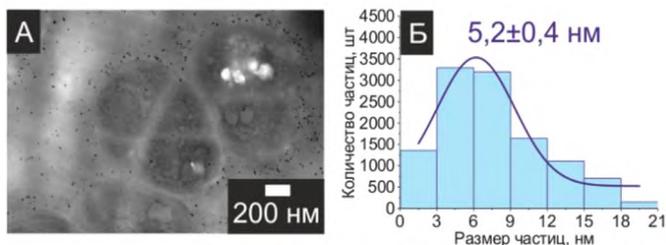


Рисунок 16. Выход продукта в точке А₁ и точке Б₁. Схема эксперимента на Рисунке 10.

По методу, проиллюстрированному на Рисунке 10, осуществили реакцию Мизороки-Хека (Схема 6) и определили выход продукта реакции (Рисунок 16), чтобы оценить переход наночастиц палладия с носителя в реакциюную

смесь при использовании катализатора Pd/P. *yeei*@ORMOSIL.

Внедрение Pd/P. *yeei* в кремнийорганический материал снизило количество Pd, перешедшего в реакционную смесь в ходе реакции. Т. к. выход продукта за 5 ч. в реакционной смеси, в которую перенесли катализатор Pd/P. *yeei*@ORMOSIL больше, чем в случае катализатора Pd/P. *yeei* (Рисунок 16 точки Б₁).

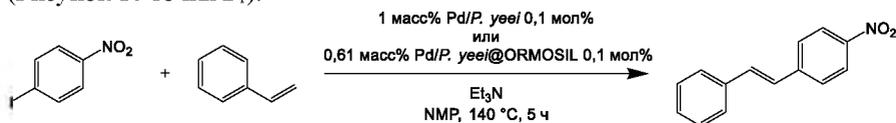


Схема 6. Реакция Мизороки-Хека

В ходе экспериментов определяли выход продукта с использованием катализатора Pd/P. *yeei*@ORMOSIL при многократном использовании (Схема 7) в сравнении с Pd/P. *yeei* (Рисунок 17).

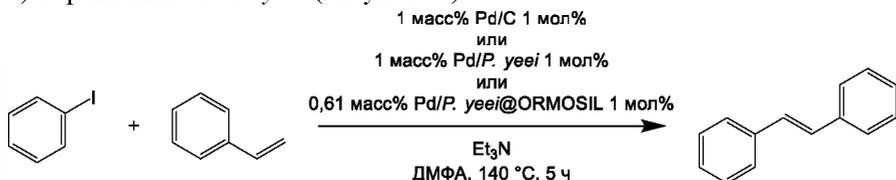


Схема 7. Реакция Мизороки-Хека

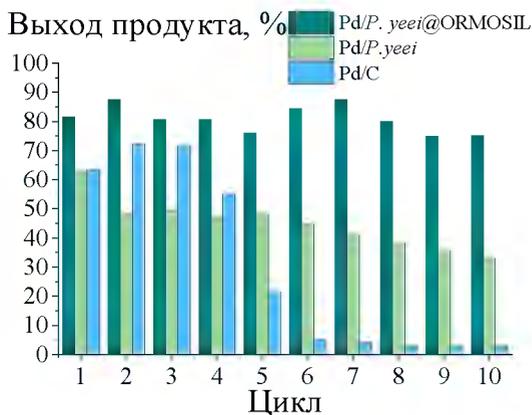


Рисунок 17. Выход продукта реакции Мизороки-Хека при многократном использовании катализатора

Смена основания в реакции (Схема 6 и 7) обусловлена тем, что карбонат калия не растворим в органических растворителях и, вероятно, перекрывает поры в кремнийорганическом материале, что приводит к резкому падению каталитической активности уже через 2 цикла. Внедрение Pd/P. *yeei* в кремнийорганический материал увеличило срок службы катализатора, сохранение активности наблюдали в течение 10 последовательных циклов.

Предположительно это связано с тем, что после разрушения клеток в условиях реакции наночастицы Pd удерживаются внутри материала. Метод ИСП-МС показал, что после 10 последовательных реакций Мизороки-Хека содержание

Pd в катализаторе Pd/P. *yeei*@ORMOSIL снизилось с 0,61 % до 0,51 %, т.о. потеря металла за 10 циклов почти в половину меньше, чем за 5 циклов использования Pd/P. *yeei* (13 % и 23 % от начального содержания Pd, соответственно). Для оценки активности катализатора Pd/P. *yeei*@ORMOSIL проанализировали кинетику реакции (Схема 4) при температуре 140 °С.

Средняя начальная скорость образования продукта, определённая как тангенс угла наклона аппроксимирующей прямой начального участка зависимости образования 4-нитростильбена с течением времени (Рисунок 18), при использовании Pd/P. *yeei*@ORMOSIL в качестве катализатора (20 мкмоль мл⁻¹ч⁻¹) значимо не отличается, чем при использовании Pd/С и Pd/P. *yeei* (26 мкмоль мл⁻¹ч⁻¹ и 22 мкмоль мл⁻¹ч⁻¹ соответственно).

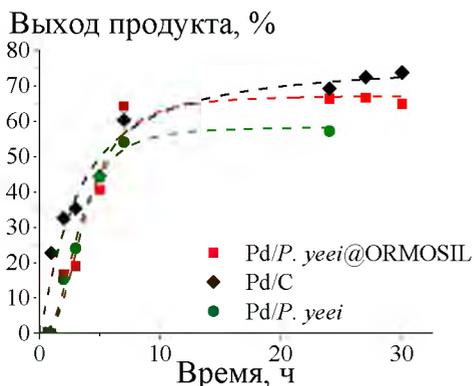


Рисунок 18. Выход 4-нитро-стильбена (Схема 4) в зависимости от времени для катализаторов Pd/С (1 масс%), Pd/P. *yeei* (1 масс%) и Pd/P. *yeei*@ORMOSIL (0,61 масс%), загрузка катализатора 0,1 мол%, температура 140 °С

Показано, что применение катализатора Pd/P. *yeei*@ORMOSIL в кремнийорганический материал не снижает селективность образования 4-нитростильбена и удельную производительность катализатора. Таким образом путём внедрения Pd/P. *yeei* в кремнийорганический материал можно получить катализатор Pd/P. *yeei*@ORMOSIL, что позволяет снизить потерю палладия в ходе реакции. Это демонстрируется снижением содержания Pd в Pd/P. *yeei*@ORMOSIL на 13 % за 10 циклов реакции Мизороки-Хека, в то время как для Pd/P. *yeei* за 5 циклов реакции на 23 %. Внедрение в кремнийорганический материал не вызывает изменения скорости и селективности образования продукта реакции.

Основные выводы и результаты

1. Разработана методика удобного и быстрого получения биогридного катализатора, представляющего собой наночастицы Pd на аэробных бактериях *Paracoccus yeei* ВКМ В-3302.

2. Впервые показано, что, используя аэробные бактерии *Paracoccus yeei* ВКМ В-3302 и ацетат палладия, можно приготовить катализатор реакций С–С сочетания с узким распределением наночастиц Pd по

размерам. Катализатор включает в себя наночастицы Pd размером 1–7 нм, расположенные внутри и на поверхности бактерий.

3. Установлено, что бактерии *Paracoccus yeei* ВКМ В-3302 после термического воздействия неспособны эффективно стабилизировать размер наночастиц, в отличие от живых бактерий. Средний размер наночастиц при приготовлении катализатора из автоклавированных клеток в 2,7 раз больше, чем при использовании неповреждённых бактерий.

4. Показано, что катализатор Pd/P. *yeei* по активности сопоставим с катализатором Pd/C, и обеспечивает высокие выходы продукта (до 95 %) в реакциях Мизороки-Хека и Сузуки-Мияуры.

5. Продемонстрировано, что внедрение Pd/P. *yeei* в кремнийорганический материал приводит к повышению стабильности работы катализатора до 10 циклов, уменьшению количества палладия, вымывающегося с бактериального носителя в ≈ 2 раза.

6. Разработанный метод синтеза биогридного катализатора Pd/P. *yeei* обеспечивает минимизацию образования отходов, сохранение высокой каталитической активности при использовании безопасных реагентов и возобновляемых ресурсов, снижает нагрузку на окружающую среду. Данный метод соответствует 9 из 12 принципов зелёной химии.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. Rybochkin P. V., Perchikov R. N., Karlinskii B. Ya., Kamanina O. A., Arlyapov V. A., Kashin A. S., Ananikov V. P. Aerobic bacteria-supported biohybrid palladium catalysts for efficient cross-coupling reactions // *Journal of Catalysis*. – 2024. – Vol. 429, – P. 115238 (IF=6,5; Q1)
2. Kamanina O. A., Rybochkin P. V., Borzova D. V., Soromotin V. N., Galushko A. S., Kashin A. S., Ivanova N. M., Zvonorev A. N., Suzina N. E., Arlyapov V. A., Ananikov V. P. Sustainable catalysts in a short time: harnessing bacteria for swift palladium nanoparticle production // *Nanoscale*. – 2025. – Vol. 17, – I. 9. – P. 5289–5300. (IF=5,8; Q1)
3. Kamanina O. A., Saverina E. A., Rybochkin P. V., Arlyapov V. A., Vereshchagin A. N., Ananikov V. P. Preparation of hybrid sol-gel materials based on living cells of microorganisms and their application in nanotechnology // *Nanomaterials*. – 2022. – Vol. 12, – № 7. – P. 1086. (IF=4,4; Q1)
4. Rybochkin P. V., Kamanina O. A., Lantsova E. A., Arlyapov V. A., Saverina E. A. Characterization of the catalytic ability and surface properties of a heterogeneous biocatalyst obtained by the sol-gel method // *Journal of Sol-Gel Science and Technology*. – 2023. – Vol. 108, – P. 310–319. (IF=2,3; Q2)
5. Рыбочкин П. В., Гончарова Р. Г. Характеристика гетерогенных биокатализаторов, полученных с использованием золь-гель

- технологии, методом низкотемпературной адсорбции азота // *Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2021»* / Отв. ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов, Е.И. Зимакова. [Электронный ресурс] – М.: МАКС Пресс, 2021. – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM); 12 см. – 2000 экз.
6. Рыбочкин П. В. Применение клеток микроорганизмов, как шаблонов для получения золь-гель материалов с большой удельной площадью поверхности // *Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2022»* / Отв. ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов, Е.И. Зимакова. [Электронный ресурс] – М.: МАКС Пресс, 2022.
 7. Рыбочкин П. В., Каманина О. А., Борзова Д. В., Кулакова М. С. Формирование наночастиц различных металлов на живых носителях // *Сборник тезисов конференции-школы «Лучшие катализаторы для органического синтеза» (Best in Catalysis: Representative OrgSyn Achievements)*. – 2023. – С. 32.
 8. Рыбочкин П. В., Борзова Д. В., Каманина О. А. Наночастицы палладия на аэробных бактериальных клетках *Paracoccus yeii*, как катализатор в реакции Хека // *Материалы XXXI Международной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2024», секция «Химия»* –М.: Издательство «Перо». – 2024. – 57 Мб [Электронное издание] – С. 345.
 9. Рыбочкин П. В., Вардамян С. Х., Соловьёва М. С. Наночастицы Pd на бактериях *Paracoccus yeii* ВКМ В-3302 в кремнийорганической матрице, как стабильный катализатор реакции Хека // *Материалы Международной научной конференции-школы «Биогибридные системы в химии, биотехнологии и медицине»*. – 2024. – С. 26.
 10. Рыбочкин П. В., Борзова Д. В., Соромотин В. Н., Каманина О. А. Наночастицы палладия на биологическом носителе в кремнийорганическом материале, как катализатор реакции органического синтеза // *Материалы Третьего международного симпозиума «Химия для биологии, медицины, экологии и сельского хозяйства»*. – 2024. – С. 147–148.

Исследование выполнено в рамках реализации грантов Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания по теме "Синтез таргетных биологически активных ионных соединений и новых биокомпозитных материалов" (FEWG-2021-0011) и Российского научного фонда № 24-73-10013, <https://rscf.ru/project/24-73-10013/>

Благодарности

Автор выражает сердечную благодарность научному руководителю, к.х.н. доценту О. А. Каманиной за научное руководство, поддержку и помощь в работе над диссертацией. Автор выражает глубокую признательность академику В. П. Ананикову за всестороннюю помощь в исследованиях и в работе над публикациями. Автор искренне благодарит: А. Н. Звонарёва за помощь с получением изображений методом флуоресцентной микроскопии; А. Н. Фахрутдинова за помощь с анализом выделенных продуктов реакций и реакционных смесей методом ЯМР спектроскопии; д.х.н. А. С. Кашина, к.т.н. Н. М. Иванову за помощь с получением изображений катализатора и его срезов методом электронной микроскопии; к.х.н. К. С. Ерохина за помощь с анализом катализаторов методом микро-РФА; к.х.н. А. С. Галушко за помощь в планировании и интерпретации результатов кинетических экспериментов. Автор признателен к.х.н. Ю. В. Бурыкиной, к.х.н. Б. Я. Карлинскому, к.х.н. В. Н. Соромотину и всем соавторам публикаций за сотрудничество и помощь в выполнении экспериментов и подготовке публикаций, а также всех коллег, причастных к этой работе.