

ПРИМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ И КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ АНАЛИЗА ПРОДУКТОВ АВТООКИСЛЕНИЯ АДРЕНАЛИНАЕ. А. Гузов^{*}, В. Н. Казин, В. А. Мошарева, А. А. Жукова

УДК 543.42:591.147.6

Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова,
150003, Ярославль, ул. Советская, 14, Россия; e-mail: e.guzov@uniyar.ac.ru

(Поступила 19 марта 2018)

Исследована реакция автоокисления адреналина в щелочной среде методом электронной спектроскопии. Показано влияние pH среды на положение максимумов в спектре поглощения адреналина. Анализ спектров поглощения реакционной среды в ходе процесса окисления выявил динамику изменения оптической плотности образующихся продуктов. Методом квантовой химии в рамках теории функционала плотности теоретически рассчитаны спектры адреналина, адренолутина и адренохрома. Разработана методика количественного анализа продуктов автоокисления адреналина.

Ключевые слова: адреналин, автоокисление, адренохром, адренолутин, электронный спектр, квантово-химический расчет.

Reaction of spontaneous oxidation of an adrenaline in an alkaline condition is investigated by method of an electronic spectroscopy. Influence of pH of on the provision of maxima in an adrenaline absorption spectrum is shown. The analysis of absorption spectra of the reactionary environment during process of oxidation revealed dynamics of change of an optical density of the formed products. The method of a quantum chemistry within the theory of a functional of density received theoretical ranges of an adrenaline, an adrenolutine and an adrenochrome. The technique of the quantitative analysis of products of spontaneous oxidation of an adrenaline is developed.

Keywords: adrenaline, auto-oxidation, adrenolutine, adrenochrome, electronic spectroscopy, quantum-chemical modeling.

Введение. Исследования антиоксидантной активности различных соединений — супероксид-дисмутазы (СОД) [1—4], каталазы [3], цистеина [2], флавоноидов [5], множества других индивидуальных субстратов, и композиций [6—14] объединяет общий подход, а именно применение реакции автоокисления адреналина. Окисление адреналина до адренохрома и адренолутина возможно только в щелочной среде. Реакция протекает через ряд последовательных стадий с образованием промежуточных соединений (рис. 1), а также активных форм кислорода (АФК) [1, 2, 15—21]. Генерация АФК является важным свойством данной реакции. Добавление в систему антиоксидантов вызывает конкуренцию за АФК, что приводит к ингибированию процесса.

Процесс автоокисления — один из трех основных путей трансформации адреналина [22]: 1) окислительное дезаминирование под влиянием моноаминоксидазы с образованием 3,4-диоксианилиновой кислоты; 2) образование ортохинона, превращающегося в адренохром и адренолутин и в конечном итоге в меланин; 3) образование эфиров серной кислоты.

Начальной стадией автоокисления адреналина (I) является дегидрирование гидроксильных групп ароматического кольца (образование продуктов II, III), затем протекают процессы циклизации (соединение IV) и последующая трансформация до (V) (рис. 1). Адренохром (IV) и адренолутин (V) не могут превращаться в адреналин. Они составляют окислительно-восстановительную систему, участвующую в окислительных процессах [23].

APPLICATION OF ELECTRONIC SPECTROSCOPY AND QUANTUM-CHEMICAL MODELING FOR ANALYSIS OF AUTO-OXIDATION PRODUCTS OF ADRENALINE

E. A. Guzov^{*}, V. N. Kazin, V. A. Moshareva, A. A. Zhukova (P. G. Demidov Yaroslavl State University, 14 Sovetskaya Str., Yaroslavl, 150003, Russia; e-mail: e.guzov@uniyar.ac.ru)

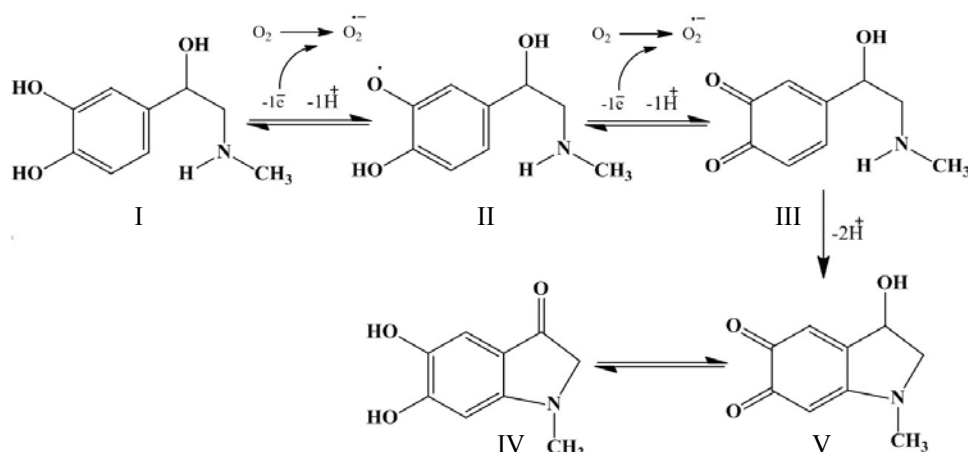


Рис. 1. Схема превращения адреналина в щелочной среде: I — адреналин, II — адреналинсемихинон, III — адреналинхинон, IV — адренохром, V — адренолутин

В ряде работ исследовано влияние различных факторов на протекание процесса автоокисления: ингибирующее действие ионов Cu^{2+} [1], каталитическое действие ионов Mg^{2+} и Ca^{2+} [24], водородного показателя [2] и компонентного состава буфера [12, 20], газовой фазы [8], применение различных фармакопейных форм — адреналина гидротартрата [12] и гидрохлорида [1, 20].

В процессе внутримолекулярной перестройки молекулы адреналина и промежуточных соединений происходит внешнесферный электронный перенос. Акцепторами электронов могут выступать молекулы кислорода, углекислого газа и карбонат-ионы, присутствующие в реакционной среде. В работе [20] экспериментально установлено, что акцепторы электронов способны образовывать радикалы. Приобретая электрон, кислород превращается в супероксид-анион [2], а растворенный в буфере атмосферный диоксид углерода образует радикал диоксида углерода. При взаимодействии бикарбонатных ионов буфера и пероксида водорода — продукта спонтанной дисмутации супероксида — могут образовываться карбонатные радикалы [25]. Радикал карбонат-иона также может формироваться из бикарбонатных ионов при участии гидроксил-радикала ($\text{HO}\cdot$) — продукта одноэлектронного окисления воды [26].

В работах [1, 2, 20] изучена реакция автоокисления адреналина методом электронной спектроскопии. В спектрах поглощения реакционной смеси отмечены максимумы при 347 и 480 нм. При этом обнаружено более интенсивное увеличение оптической плотности при $\lambda = 347$ нм, которая отнесена к накоплению адренохрома. Однако контроль за ходом процесса только по образованию адренохрома существенно сужает возможности изучения кинетических закономерностей и механизма данного многостадийного процесса. Дополнительную информацию для интерпретации электронных переходов исходного адреналина, промежуточных соединений, адренолутина может дать применение квантово-химического анализа.

Цель настоящей работы — усовершенствование методики анализа реакционной смеси автоокисления адреналина.

Методики эксперимента и расчета. Исследован эпинефрин гидрохлорид (адреналин, Sigma E4642), растворы которого готовили непосредственно перед проведением эксперимента. Для приготовления 0.2 М карбонатного буфера использованы Na_2CO_3 (х.ч. ГОСТ 83-79) и NaHCO_3 (х.ч. ГОСТ 4201-79). Автоокисление адреналина проводилось в четырехгорловом термостатированном стеклянном реакторе, снабженном механической мешалкой и воронкой с обогревом. В реактор вносили расчетный объем раствора адреналина, затем из воронки добавляли буферный раствор. В ходе эксперимента из реактора отбирали пробы, добавляли раствор соляной кислоты до pH 4.65 и регистрировали спектры поглощения (спектрофотометр ПЭ-5400УФ).

Расчеты проведены с помощью программы FireFly 8.2 [27] методом теории функционала плотности (DFT) с обменно-корреляционным потенциалом (B3LYP [28, 29]), базисным набором 6-31G(d,p) и сольватационной моделью PCM-D [30] (растворитель — вода). Электронные спектры поглощения рассчитаны методом TDDFT [31]. Визуализация пространственной структуры молекулярных орбиталей выполнена в программном пакете Chemcraft [32].

Результаты и их обсуждение. Рассмотрим влияние pH среды на форму спектра адреналина. В электронном спектре адреналина, растворенного в дистиллированной воде, в видимой области полос поглощения не обнаружено, в УФ части можно выделить три максимума поглощения: 196, 222, 278 нм, для каждого из которых рассчитаны молярные коэффициенты экстинкции ($\lg \epsilon_{196} = 4.69$, $\lg \epsilon_{222} = 3.87$, $\lg \epsilon_{278} = 3.48$). Поглощение при 222 и 278 нм характерно для бензольного кольца, а именно электронных переходов $\pi \rightarrow \pi^*$. Незамещенная система бензольного кольца имеет максимумы поглощения при 183, 203 и 255 нм ($\lg \epsilon \sim 4.66$, ~ 3.87 и ~ 2.34). Наличие гидроксильных групп в ароматическом кольце приводит к сдвигу максимумов полос поглощения в длинноволновую область, например, для 1,2-дигидроксибензола [33—36] $\lambda = 214$ и 274 нм ($\lg \epsilon \sim 3.83$ и ~ 3.40). Смещение вызвано наличием неподеленных электронных пар у атомов кислорода и расширением π -сопряженной системы.

В присутствии 0.2 М карбонатного буфера (щелочная среда) в УФ спектрах адреналина наблюдается батохромный сдвиг, причем чем выше значения pH, тем в более длинноволновой области расположены максимумы поглощения. Например, при pH 8.97 в электронном спектре адреналина отмечены два выраженных максимума поглощения: 228 и 285 нм. При pH 10.65 регистрируется батохромный сдвиг с 228 до 239 нм для первого максимума поглощения и с 285 до 294 нм для второго. В УФ спектре солянокислого раствора адреналина (гидрохлорида адреналина, pH 4.65) также отмечены батохромные сдвиги с 196 до 204, с 222 до 226 и с 276 до 280 нм.

Определение изменения концентрации адреналина во времени в среде карбонатного буфера (например, при pH 10.65) осложняется тем, что в ходе записи УФ спектра проб реакционной смеси автоокисление исходного соединения не прекращается. Это затрудняет получение истинной концентрации адреналина в каждый промежуток времени.

Для торможения процесса окисления в отбираемую пробу реакционной смеси добавлялся раствор соляной кислоты в соотношении (1 М HCl):(реакционная смесь) = 2:1. Снижение водородного показателя до pH 4.65 приводит к прекращению протекания реакции автоокисления. Для определения концентрации адреналина (при $\lambda = 204$ нм) построен градуировочный график. В табл. 1 представлена динамика изменения оптической плотности во времени после подкисления отбираемых проб реакционной смеси раствором соляной кислоты до pH 4.65. Как видно, оптическая плотность снижается при $\lambda = 204$ нм, что соответствует расходованию адреналина в ходе реакции, и возрастает при $\lambda = 273, 304$ и 347 нм, что связано с образованием промежуточных соединений и конечного продукта окисления.

Т а б л и ц а 1. Динамика изменения оптической плотности реакционной смеси в ходе окисления адреналина ($T = 298$ К, 0.2 М карбонатный буфер, pH 10.60, $C_{\text{адреналин}} = 90$ мкМ)

λ , нм	t , мин						
	0	5	10	15	20	25	30
204	1.671	1.310	0.933	0.657	0.464	0.364	0.266
273	0.221	0.318	0.401	0.463	0.484	0.504	0.447
304	0.069	0.335	0.484	0.558	0.565	0.555	0.473
347	0.049	0.118	0.263	0.397	0.505	0.577	0.575

Выполнена серия экспериментов по автоокислению адреналина до полной конверсии исходного соединения при следующих условиях: $T = 298$ К, карбонатный буфер, pH 10.65, концентрации адреналина 22.5—135 мкМ. Обнаружено изменение цвета реакционной смеси в ходе процесса от бесцветного до фиолетового, а затем до желтого. Известно [35, 36], что водные растворы адrenoхрома имеют фиолетовую окраску. Изменение окраски реакционной смеси, а именно переход к желтому цвету, позволяет констатировать, что адrenoхром не является конечным продуктом реакции автоокисления адреналина. В работе [37] отмечено, что растворы адренолютина имеют желто-зеленый цвет и именно он — конечный продукт окисления. Полученные нами закономерности по автоокислению адреналина согласуются с результатами рассмотренных выше работ.

Экспериментальные спектры растворов адренолютина (pH 4.65), полученные после полной конверсии адреналина, имеют три полосы поглощения при 207, 285 и 347 нм. Построен калибровочный график для $\lambda = 347$ нм, позволяющий определять концентрацию адренолютина в ходе автоокисления адреналина в щелочной среде.

Экспериментальный электронный спектр многокомпонентной смеси может включать в себя совмещенные максимумы поглощения, что затрудняет возможность регистрации изменений концентрации индивидуальных соединений. Выделение областей спектра реакционной смеси, характерных только для адреналина и адренолутина, позволит снять затруднения в определении их концентраций.

С целью интерпретации полученных экспериментальных данных проведены квантово-химические расчеты электронного спектра молекул, в частности, определены тип и локализации электронных переходов. Для всех рассмотренных молекул первому возбужденному состоянию соответствует конфигурация, отвечающая электронному переходу с верхней заполненной молекулярной орбитали (ВЗМО) на нижнюю вакантную (НВМО), например, для адреналина с 53 (ВЗМО) на 54 (НВМО) и вклад соответствующей конфигурации в общую волновую функцию возбужденного состояния составляет 0.87 (рис. 2, табл. 2). Указанные пары МО локализованы на бензольном кольце и сопряженных с ним гидроксильных группах, что соответствует локальному переходу $\pi \rightarrow \pi^*$.

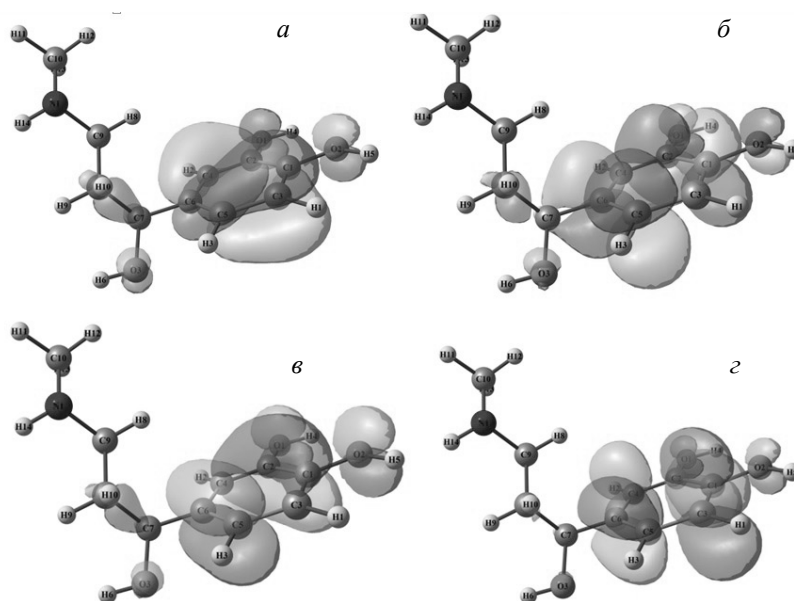


Рис. 2. Молекулярные орбитали адреналина: *a* — 51 (ВЗМО–2); *б* — 55 (НВМО+1); *в* — 53 (ВЗМО); *г* — 54 (НВМО)

Т а б л и ц а 2. Характеристики теоретического спектра адреналина

Электронный переход	SAP	λ , нм	Энергия перехода, эВ
53 (ВЗМО) → 54 (НВМО)	0.87		
51 (ВЗМО–2) → 54 (НВМО)	0.48	247	5.02
53 (ВЗМО) → 55 (НВМО+1)	0.88		
51 (ВЗМО–2) → 54 (НВМО)	0.45	217	5.70
51 (ВЗМО–2) → 54 (НВМО)	0.52	192	6.47

Рассчитанный спектр молекулы адреналина качественно согласуется с экспериментальным спектром адреналина, растворенного в дистиллированной воде. Расчет с функционалом ВЗLYP дает завышенные на 0.1—0.6 эВ энергии электронных переходов. Для первых двух максимумов поглощения (6.47 и 5.70 эВ) завышение электронного перехода составляет ~0.1—0.2 эВ, а для последнего (5.02 эВ) — 0.6 эВ. Характеристики возбужденных электронных состояний адренохрома представлены в табл. 3 и на рис. 3. В первом и третьем возбужденных состояниях (2.51, 5.55 эВ) основной вклад вносят электронные переходы с 47 (ВЗМО) на 48 (НВМО) и с 47 (ВЗМО) на 49 (НВМО+1), что соответствует переходу с переносом заряда с атомов С3, С5 на атомы С2, С4. Перенос заряда с атомов С4, С6 на атомы С1, С3 также имеет место при переходе молекулы во второе возбужденное состояние (переход электрона с МО 45 на 48 и энергия 4.23 эВ).

Т а б л и ц а 3. Характеристики теоретического спектра адренохрома

Электронный переход	SAP	λ , нм	Энергия перехода, эВ
47 (ВЗМО) \rightarrow 48 (НВМО)	0.98	495	2.51
45 (ВЗМО-2) \rightarrow 48(НВМО)	0.76	293	4.23
47 (ВЗМО) \rightarrow 49(НВМО+1)	0.88	224	5.55

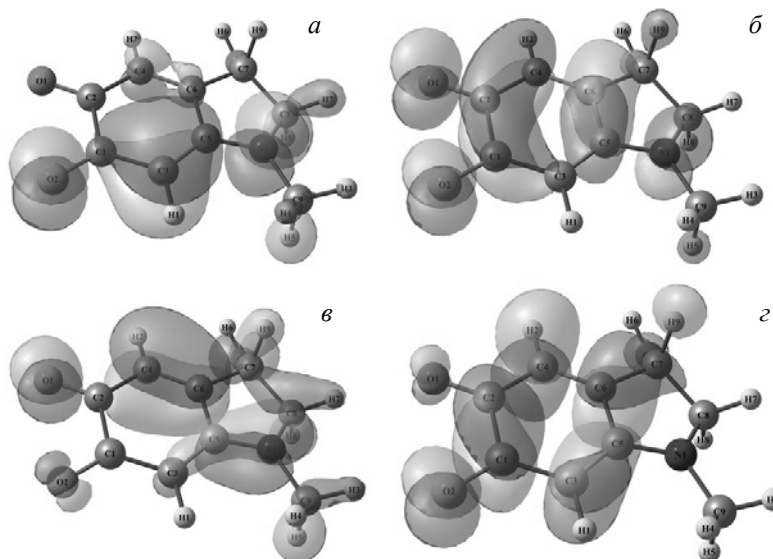


Рис. 3. Молекулярные орбитали адренохрома: *a* — 47 (ВЗМО); *б* — 48 (НВМО); *в* — 46 (ВЗМО-1); *з* — 49 (НВМО+1)

Рассчитан электронный спектр поглощения конечного продукта окисления — адренолютина. Первому возбужденному состоянию (3.36 эВ) отвечает переход $\pi \rightarrow \pi^*$. Второе и третье возбужденные состояния (4.76 и 5.27 эВ) включают в себя переходы: локальный $\pi \rightarrow \pi^*$ при переходе электрона с МО 46 на 48 и с 47 (ВЗМО) на 49 (НВМО+1); с переносом заряда с 46 (ВЗМО-1) на 48 (НВМО) (с атома С4 на атомы С6) и с 47 (ВЗМО) на 49 (НВМО+1) (с атома С7 на атом С4). Характеристики переходов представлены в табл. 4 и на рис. 4.

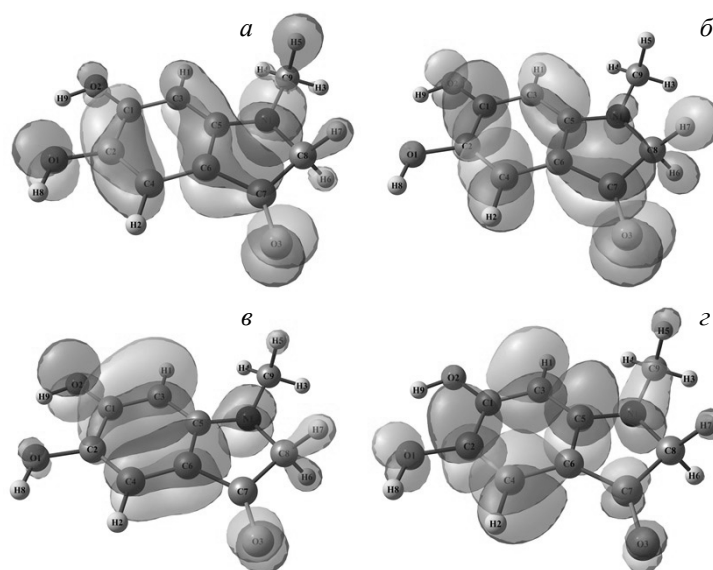


Рис. 4. Молекулярные орбитали адренолютина: *a* — 47 (ВЗМО); *б* — 48 (НВМО); *в* — 46 (ВЗМО-1); *з* — 49 (НВМО+1)

Т а б л и ц а 4. Характеристики теоретического спектра адренолютина

Электронный переход	SAP	λ , нм	Энергия перехода, эВ
47 (ВЗМО) \rightarrow 48 (НВМО)	0.98	369	3.36
46 (ВЗМО-1) \rightarrow 48(НВМО)	0.84	261	4.76
47 (ВЗМО) \rightarrow 49 (НВМО+1)	0.50		
47 (ВЗМО) \rightarrow 49 (НВМО+1)	0.78	235	5.27
46 (ВЗМО-1) \rightarrow 48(НВМО)	0.46		

Т а б л и ц а 5. Энергии (эВ) электронных переходов, отвечающие максимумам поглощения в экспериментальных и теоретических спектрах метаболитов адреналина

Адреналин теор. (эксп.)	Адренохром теор.	Адренолютин теор. (эксп.)
5.02 (4.46)	2.51	3.36 (3.57)
5.70 (5.59)	4.23	4.76 (4.35)
6.47 (6.33)	5.55	5.27 (5.99)

Энергии электронных переходов, отвечающие максимумам поглощения в экспериментальных и теоретических спектрах метаболитов адреналина, представлены в табл. 5. Выявленная разница в положении максимумов между экспериментальным и теоретическим спектрами адреналина свидетельствует о завышении энергии переходов при расчетах с функционалом B3LYP. Максимум поглощения 495 нм в теоретическом спектре адренохрома отвечает видимой области, что объясняет появление фиолетовой окраски раствора в процессе автоокисления адреналина. Полоса поглощения адренолютина с $\lambda_{\text{макс}} = 369$ нм, вероятно, соответствует экспериментальному значению $\lambda_{\text{макс}} = 347$ нм, при этом необходимо учитывать завышенные энергии переходов (батохромные и гипсохромные сдвиги при pH 4.65). Из экспериментальных спектров следует, что на интенсивность и положение полосы поглощения адреналина ($\lambda_{\text{макс}} = 192$ нм) не оказывают влияния промежуточные продукты окисления, как и на максимум поглощения адренолютина ($\lambda_{\text{макс}} = 369$ нм).

Заключение. Изучены УФ спектры поглощения реакционной смеси в ходе процесса автоокисления адреналина. Квантово-химические расчеты электронных спектров исходного, промежуточных и конечного соединений позволили улучшить информативность полученных экспериментальных спектров. Для молекулы адреналина расчеты DFT и TDDFT с функционалом B3LYP дают качественное соответствие с экспериментальным спектром. Для получения улучшенных значений максимумов в расчетных и экспериментальных спектрах поглощения метаболитов адреналина, по-видимому, необходимо явное моделирование сольватной оболочки. Анализ теоретических электронных спектров адреналина и адренолютина позволяет сделать вывод об отсутствии наложения полос поглощения при одновременном присутствии их в растворе, что подтверждает корректность выбранных максимумов поглощения в УФ спектрах для определения их концентраций в реакционной смеси. Разработана усовершенствованная методика количественного анализа адреналина и адренолютина в реакционной смеси для изучения кинетических закономерностей процесса автоокисления адреналина.

Авторы благодарят А. Я. Фрейдзон за помощь в обсуждении результатов квантово-химического моделирования.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 14-23-00018).

- [1] Т. В. Сирота. Биомед. химия, **58**, № 1 (2012) 77—87
- [2] Т. В. Сирота. Биомед. химия, **59**, № 4 (2013) 399—410
- [3] Н. А. Масленникова, Е. Ю. Сергеева, Е. П. Тихонова, А. Ю. Бураков, Н. М. Титова, Ю. А. Фефелова, Т. Г. Рукша. Казанск. мед. журн., **95**, № 4 (2014) 531—533
- [4] Т. В. Сирота, М. В. Захарченко, М. Н. Кондрашова. Биомед. химия, **60**, № 1 (2014) 63—71
- [5] М. Л. Поспелова, О. Д. Барнаулов, Е. В. Туманов. Психофармакология и биол. наркология, **5**, № 1 (2005) 841—843
- [6] Б. О. Бобоёров, М. Б. Икрами. Вестн. Технол. ун-та Таджикистана, **28**, № 1 (2017) 8—11

- [7] **З. А. Бадретдинова, А. В. Канарский, Г. П. Шуваева.** Вестн. Воронеж. гос. ун-та инж. технол., **67**, № 1 (2016) 203—206
- [8] **Л. В. Наймушина, А. Д. Саторник, И. Д. Зыков.** Вестн. Краснояр. гос. аграрн. ун-та, № 7 (2015) 115—119
- [9] **Е. И. Рябина, Е. Е. Зотова, Е. Н. Ветрова, Н. И. Пономарева, Т. Н. Илюшина.** Химия растит. сырья, № 3 (2011) 117—121
- [10] **Т. В. Сирота, Н. Е. Лямина, Л. И. Вайсфельд.** Биофизика, **62**, № 5 (2017) 846—851
- [11] **Ю. С. Шишкова, Е. В. Симонян, Н. Н. Ножкина, Ю. В. Шикова.** Южно-Урал. мед. журн., № 1 (2014) 24—28
- [12] **А. Б. Щербаков, В. К. Иванов, Т. В. Сирота, Д. Ю. Третьяков.** Докл. РАН, **437**, № 2 (2011) 197—200
- [13] **О. А. Яйкова, Ф. Н. Томили, И. А. Дубинина, А. А. Кузубов, А. И. Дудник, Н. Г. Внукова, С. Г. Овчинников, Г. Н. Чурилов.** Журн. Сиб. фед. ун-та, **8**, № 4 (2015) 533—540
- [14] **А. И. Грицук, Т. В. Сирота, Л. В. Дравица, Е. А. Крэддок.** Биомед. химия, **52**, № 6 (2006) 601—607
- [15] **A. Bindoli, M. P. Rigobello, L. Galzigna.** Toxicol. Lett., **48** (1989) 3—20
- [16] **F. Marques, R. O. Duarte, J. J. Moura, M. P. Bicho.** Neuro Signals, **5** (1996) 275—282
- [17] **R. Alhasan, D. Njus.** Anal. Biochem., **381**, N 1 (2008) 142—147
- [18] **V. M. Costa, R. Silva, L. M. Ferreira, P. S. Branco, F. Carvalho, M. L. Bastos, R. Carvalho.** Chem. Res. Toxicol., **20**, N 8 (2007) 1183—1191
- [19] **W. Bors, C. Michel, M. Saran, E. Lengfelder.** Biochim. Biophys. Acta, **540** (1978) 162—172
- [20] **Т. В. Сирота.** Биомед. химия, **61**, № 1 (2015) 115—124
- [21] **В. Ю. Куликов, Е. А. Арчибасова.** Медицина и образование в Сибири, № 1 (2016) 7—14
- [22] **Г. В. Столяров.** В кн. “Лекарственные психозы и психотомиметические средства”, под ред. проф. В. М. Банникова, Москва, Медицина (1964) 121—122
- [23] **Д. Л. Фердман.** Биохимия, Москва, Высш. школа (1959) 144—145
- [24] **Т. В. Сирота.** Биофизика, **61**, № 1 (2016) 22—27
- [25] **M. G. Bonini, S. A. Gabel S. A., K. Rangelova, K. Stadler, E. F. Derose, R. E. London, R. P. Mason.** J. Biol. Chem., **284** (2009) 14618—14627
- [26] **В. Л. Воейков, Н. Д. Виленская, До Минь Ха, С. И. Малышенко, Е. В. Буравлева, О. И. Яблонская, К. Н. Тимофеев.** Журн. физ. химии, **86**, № 9 (2012) 1—10
- [27] **A. A. Granovsky.** Firefly version 8.2; <http://classic.chem.msu.su/gran/firefly/index.html>
- [28] **A. D. Becke.** J. Chem. Phys., **98** (1993) 5648—5653
- [29] **V. Miehlich, A. Savin, H. Stoll, H. Preuss.** Chem. Phys. Lett., **157**, N 3 (1989) 200—206
- [30] **A. V. Marenich, C. J. Cramer, D. G. Truhlar.** Phys. Chem. B, **113** (2009) 6378—6396
- [31] **P. Elliott, F. Furche, K. Burke.** Rev. Comp. Chem., **26** (2009) 91—166
- [32] **G. A. Andrienko.** Chemcraft v.1.6; <http://www.chemcraftprog.com>
- [33] **R. C. Weast.** Handbook of Chemistry and Physics, 60th ed., Boca Raton, Florida, CRC Press Inc. (1979)
- [34] **D. R. Lide, G. W. A. Milne.** Handbook of Data on Organic Compounds, 3rd ed., Boca Raton, Florida, CRC Press Inc. (1994) 1
- [35] **A. King Graeme, A. A. Oliver Thomas, N. Dixon Richard, Michael N. R. Ashfold.** Phys. Chem. Chem. Phys., **14** (2012) 3338—3345
- [36] **M. Z. A. Rafiquee, Masoom R. Siddiqui, Mohd. Sajid Ali, Hamad A. Al-Lohedan.** Spectrochim. Acta, A: Mol. Biomol. Spectrosc., **126** (2014) 21—27
- [37] **R. A. Neacock.** Chem. Rev., **59**, N 2 (1959) 181—237