

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

ГРИНЬ ДМИТРО ВАЛЕРІЙОВИЧ

УДК 535.373.2; 539.199; 539.1.044

СПЕКТРАЛЬНІ ПРОЯВИ ВЗАЄМОДІЇ ДНК З ІОНАМИ МЕТАЛІВ

01.04.05 – оптика, лазерна фізика

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фізико-математичних наук

Київ – 2021

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі експериментальної фізики фізичного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України.

Науковий керівник: доктор фізико-математичних наук, професор
Ящук Валерій Миколайович
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, професор кафедри експериментальної фізики.

Офіційні опоненти: доктор фізико-математичних наук, професор
Остапенко Ніна Іванівна
Інститут фізики НАН України,
провідний науковий співробітник відділу
фотоактивності

доктор фізико-математичних наук, професор
Лисецький Лонгін Миколайович
Інститут скінтіляційних матеріалів НАН України
провідний науковий співробітник відділу
наноstrukturних матеріалів

Захист відбудеться 07 травня 2021 року о 12 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.001.23 Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України за адресою: 03127, м. Київ, проспект Академіка Глушкова 4, фізичний факультет, ауд. 200

З дисертацією можна ознайомитись у науковій бібліотеці ім. М. Максимовича Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, вул. Володимирська, 58, або на сайті Науково-консультаційного центру Київського національного університету імені Тараса Шевченка за посиланням <http://scc.univ.kiev.ua/abstracts>.

Автореферат розісланий «06» квітня 2021 року.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 26.001.23,
доктор фізико-математичних наук, професор



Семенко М.П.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження

Серед усіх біологічних макромолекул особливе місце займають макромолекули ДНК та РНК, які забезпечують збереження, передачу та реалізацію генетичної інформації живих організмів.

На даний час при розробці нових лікарських засобів для лікування онкозахворювань створених на основі макромолекули ДНК, актуальною є проблема дослідження їх фізичних властивостей та вивчення процесів що відбуваються як в організмі людини, так і в самому препараті.

Наявність іонів металів поряд з ДНК може вплинути на її фізичні, фізико-хімічні та фізико-біологічні властивості. Іони деяких металів в великих кількостях є сильними мутагенами і навіть канцерогенами. Так, наприклад, при надмірному вмісті іонів магнію, нікелю та міді число мутуючих бактерій збільшується в сотні разів. Було показано, що виникнення злоякісних пухлин супроводжується збільшенням вмісту металів в ДНК ракових клітин.

Відомо що комплекси ДНК із зв'язаними з нею сполуками металів, серед яких є і сполуки платини, використовуються для хімічних методів лікування онкозахворювань.

Дослідження фотофізичних властивостей таких комплексів та розуміння процесів які в них відбуваються мають важливе значення для біології та медицини, дають можливість розробляти нові сполуки, та покращувати вже існуючі препарати.

Спектральні дослідження взаємодії іонів металів з ДНК при низьких температурах представлені лише у деяких роботах 60-70 років, зокрема у відомій роботі Берсона на Ізенберга [Berson, Isenberg, 1964]. В цих роботах зафіксовано ефект гасіння фосфоресценції ДНК іонами магнію та заліза. Однак ряд експериментальних проявів взаємодії іонів металів з ДНК недостатньо вивчені. Зокрема залишилось незрозумілим відсутність досліджень проявів збурювальної дії іонів металів на спін-орбітальну взаємодію в оптичних центрах ДНК. Більш пізні дослідження іонів металів з ДНК проводились в основному при кімнатній температурі або навіть при температурі тіла людини, що не давало можливості слідкувати за флуоресцентним та фосфоресцентним випромінюванням ДНК (квантовий вихід люмінесценції ДНК при кімнатній температурі надзвичайно низький, порядку $\sim 10^{-5}$), і таким чином вивчати роль синглетних і триплетних електронних станів у взаємодії ДНК з іонами металів.

В зв'язку з цим необхідним є вивчення особливостей взаємодії іонів металів з ДНК спектральними методами, просторової локалізації, зокрема збурювальної вплив іонів металів на спін-орбітальну взаємодію в π -електронних системах основ ДНК, та просторової локалізації іонів досліджуваних металів по відношенню до макромолекули ДНК. Прикладною задачею є вивчення спектральних проявів взаємодії металів з π -електронними системами основ ДНК в лікарських препаратах.

Таким чином, дослідження оптичних характеристик даних систем та встановлення можливих закономірностей взаємодії між компонентами є **актуальним** науковим завданням, що і було поставлено в мету даної роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Тема дисертації пов'язана з плановими дослідженнями кафедри експериментальної фізики та НДЛ "Електронно-оптичних процесів": у 2006-2010р. «Оптичні та електронні властивості гомогенних та гетерогенних систем на основі органічних та неорганічних сполук для фотоніки, біофотоніки та наноелектроніки» (номер 06БФ051-07), у 2011-2015р «Фундаментальні дослідження в галузі фізики конденсованого стану і елементарних частинок астрономії і матеріалознавства для створення основ новітніх технологій» (номер 11БФ051-11), у 2016-2019р. «Дослідження електронно-коливальних процесів в композитах та наносистемах, перспективних для сонячної енергетики, малоенергозатратних джерел світла та медицини» (номер 16БФ051-03), у 2019-2021р. «Закономірності спінзалежних процесів у кристалах і наноструктурах, розроблення методів проєктивних представлень груп симетрії для їхньої інтерпретації» (номер 19БФ051-07), у 2020-2021р. "Гібридні наносистеми для фото імунотерапії в оптико-рентгеновському діапазоні енергій" (грант НФД 2020.02/0367)

Мета і завдання дослідження відповідно до предмета та об'єкта дослідження:

Метою роботи було вивчення спектральних проявів взаємодії іонів металів з ДНК; просторової локалізації іонів металів по відношенню до макромолекули ДНК; та особливостей взаємодії іонів металів з ДНК, зокрема вплив іонів металів на спін-орбітальну взаємодію в π -електронних системах основ ДНК. Прикладною метою даної роботи було вивчення спектральних проявів взаємодії металів з π -електронними системами основ ДНК в лікарських препаратах.

Для досягнення даної мети були поставлені та вирішені наступні **основні завдання:**

- Дослідити та проаналізувати особливості впливу іонів металів кобальту, нікелю, срібла на спектральні характеристики ДНК (поглинання, флуоресценція, фосфоресценція).

- Варіюючи концентрації іонів металів (співвідношення кількості йонів металів до пар основ ДНК) визначити, за наявності, концентрації при яких відбуваються істотні зміни спектральних характеристик ДНК.

- Оцінити довжину перенесення мобільних триплетних збуджень вздовж ДНК в присутності іонів металів.

- Дослідити вплив іонів металів на швидкість фотодеградації макромолекули ДНК.

- Вивчити електронні процеси що відбуваються в лікарському препараті "Поліплатинен" на базі макромолекули ДНК з платиною, запропонувати шляхи до модернізації препарату та методів його застосування.

Об'єкт дослідження

Фізичні процеси що відбуваються в біологічних макромолекулах ДНК в присутності іонів металів.

Предмет дослідження

Закономірності змін спектральних властивостей водних розчинів ДНК в присутності іонів металів, вплив іонів металів на процеси перенесення електронного збудження в ДНК та на фотостабільність ДНК.

Методи дослідження

Як основні методи дослідження в роботі були використані: оптична спектрофотометрія (вимірювання спектрів оптичного поглинання в ультрафіолетовому та видимому діапазоні); люмінесцентна спектроскопія (реєстрація спектрів флюоресценції та фосфоресценції) та спектроскопія збудження флюоресценції та фосфоресценції відповідно; Дослідження процесів фоторуйнування ДНК (за змінами у спектрах поглинання ДНК в УФ діапазоні в результаті опромінення).

Наукова новизна отриманих результатів

1. Вперше встановлено що вплив іонів нікелю та іонів кобальту на спін-орбітальну взаємодію в π -електронних системах основ ДНК є незначним і не призводить до значного збільшення заселеності їх триплетних станів.
2. Для систем ДНК-Co, ДНК-Ni встановлено факт перенесення мобільних триплетних збуджень та оцінено їх середню довжину пробігу в макромолекулі ДНК.
3. Встановлено, що на відміну від іонів кобальту, нікелю, заліза, магнію, іони срібла суттєво впливають на спін-орбітальну взаємодію в π -електронних системах основ ДНК, що призводить до кардинальної зміни спектру фосфоресценції (поява аденінової структури) та драматичному зростанню інтенсивності (в сотні разів). Сукупність отриманих фактів, дає підстави стверджувати, що іони срібла проникають в простір (інтеркалюють) між парами основ ДНК
4. Вперше вивчено та здійснено інтерпретацію спектральних властивостей лікарського препарату "Поліплатилен" і його складових компонентів, та запропоновані шляхи експрес-контролю під час виробництва, та додаткові методики його застосування.

Особистий внесок здобувача

Всі результати експериментальних досліджень, що викладені в даній роботі, отримані здобувачем особисто. Вибір об'єктів для дослідження, постановка мети роботи та наукових задач проводилися спільно з науковим керівником доктором фіз.-мат. наук, професором Ящуком В.М. Автор безпосередньо готував зразки для досліджень, доводив їх до придатного для вимірювань стану, планував експеримент, виконував експеримент та оброблював експериментальні дані. Люмінесцентні дослідження при 4.2К проводилися у відділі фотоактивності Інституту фізики НАН України. Зразки модельних сполук аденіну були надані колегами з Інституту молекулярної біології та генетики НАН України, дослідження фотостабільності проводилося в

лабораторії кафедри експериментальної фізики фізичного факультету. Аналіз експериментальних даних, систематизація, інтерпретація та обговорення отриманих результатів проводилося автором спільно з науковим керівником Ящуком В.М. та співавторами відповідних статей. За безпосередньої участі здобувача готувались стендові та усні доповіді на конференціях, і були написані статті де були опубліковані основні результати роботи.

Апробація результатів дисертації.

Основні результати дисертаційної роботи доповідались та обговорювались на наступних міжнародних і вітчизняних наукових конференціях (тези доповідей опубліковані): International Conference "Physics of Liquid Matter: Modern Problems" (PLMMP-2008), XIX International School-Seminar "Spectroscopy of Molecules and Crystals» (devoted to the 175th Anniversary of Kyiv Taras Shevchenko University), International Conference "Physics of Liquid Matter: Modern Problems" (PLMMP-2010), 9th International IUPAC Conference in Polymer-solvent Complexes and Intercalates POLYSOLVAT-9, Electronic processes in organic materials 9th international conference ICEPOM-9, XXI Galyna Puchkovska International School-Seminar SPECTROSCOPY OF MOLECULES AND CRYSTALS, International Conference "Physics of Liquid Matter: Modern Problems" (PLMMP-2014), ICEPOM–10, XXIII Galyna Puchkovska International School-Seminar "Spectroscopy of Molecules and Crystals", international research and practice conference: NANOTECHNOLOGY AND NANOMATERIALS (NANO-2017), XII International Conference "Electronic Processes in Organic and Inorganic Materials" (ICEPOM-12), NANOTECHNOLOGY AND NANOMATERIALS (NANO-2020), «Об'єднані наукою: перспективи міждисциплінарних досліджень» (Київ, 2020), та інших.

Робота в цілому доповідалася 11.02.2021 на розширеному засіданні кафедри експериментальної фізики та НДЛ "Електронно-оптичних процесів" фізичного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Практична значимість результатів

Отримані в ході виконання дисертаційної роботи знання стосовно спектральних проявів взаємодії металів з ДНК можуть бути використані при контролі виробництва існуючих медичних препаратів, та при розробці нових компонентів медичних лікарських препаратів в яких ДНК використовується як носій для адресної доставки по організму людини, в тому числі для сучасних препаратів 3-4 покоління для лікування онкозахворювань (наприклад препаратів для фотодинамічної (ФДТ, PDT) чи рентгенодинамічної (Х-ФДТ) терапії).

Публікації

Основні результати досліджень опубліковані у 19 наукових працях, з них 7 статей у фахових українських та зарубіжних рецензованих наукових виданнях а також 12 тез доповідей на наукових конференціях.

Структура і обсяг дисертації

Дисертаційна робота складається із вступу, основної частини з 4-х розділів,

загальних висновків і переліку використаних джерел. Загальний обсяг дисертації складає 148 сторінок, в роботі наведено 63 рисунка та 1 таблиця. Список використаних джерел складається з 155 посилань і займає 16 сторінок.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми досліджень, сформульовано мету та визначено конкретні задачі роботи, Вказано зв'язок роботи з науковими програмами та проектами кафедри експериментальної фізики та НДЛ "Електронно-оптичних процесів", обґрунтовано достовірність результатів і висновків, показано новизну та практичне значення отриманих результатів, наведено відомості про апробацію роботи, Зазначено особистий внесок здобувача, кількість публікацій, структуру та об'єм дисертації.

В **огляді літератури (розділ 1)** коротко описано будову і структуру досліджуваних макромолекул, на основі огляду сучасної наукової літератури описано стан справ на даний момент з дослідженнями подібних систем. Відзначено що кількість робіт що стосуються спектральних досліджень даних систем є досить малою, і в тому числі бракує результатів досліджень впливу іонів металів на спін-орбітальну взаємодію в π -електронних системах основ ДНК. В своїй більшості роботи пов'язані з біологічними та медичними аспектами функціонування ДНК. Окрім того, більшість спектральних досліджень проведено при кімнатних температурах або температурі тіла людини.

В описі **методики вимірювань (розділ 2)** описана методика вимірювань, та методика приготування зразків. Описано походження компонентів для приготування досліджуваних речовин. Велика увага приділена експериментальній частині. Оскільки для різних вимірів були доступні декілька видів установок та приладів, то описано чим саме був обґрунтований вибір того чи іншого приладу. Для збільшення точності і достовірності, набору статистики, зразки робились великими серіями (з різною кількістю йонів металів в макромолекулі ДНК), і відповідно детально описана методика приготування зразків, в тому числі підбір концентрації. Окремо зазначено що досліджувані концентрації знаходяться далеко від межі розчинності, відповідно концентрації є точними (вихідні речовини не випадали в осад). Також описані особливості вимірів при низьких температурах, та складнощі які при цьому виникали, і в який спосіб вони були подолані, або враховані, або було зменшено їх вплив. Оцінено вплив різних факторів на точність та відтворюваність даних, в тому числі спосіб охолодження зразка та особливості роботи з кріостатом.

В **розділі 3**, основній дослідницькій частині, в **підрозділі 3.1**, розглянуто спектральні прояви взаємодії йонів кобальта та нікелю з макромолекулою ДНК. Також проаналізовано спектральні прояви взаємодії ДНК з залізом та магнієм, які досліджено в попередніх роботах ([Berson, Isenberg, 1964], [Rahn, Shulman, Longworth, 1966] та інших).

Розглянуто поглинання систем ДНК-кобальт, ДНК-нікель для різних співвідношень йон металу:ДНК (кількість пар основ), від найменшої

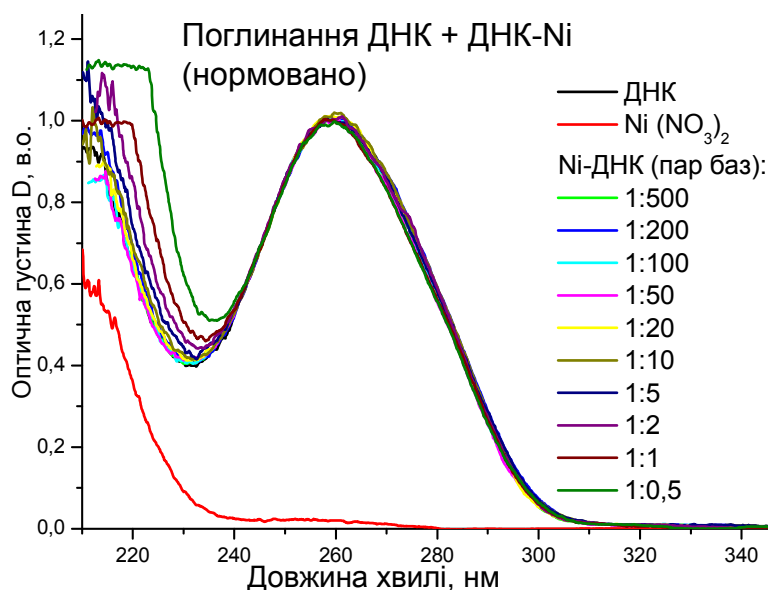


Рис.1 Спектри поглинання водних розчинів ДНК, та зразків з різним співвідношенням іонів Ni до пар основ ДНК. Спектри нормовано на 1 по максимуму поглинання. Концентрація ДНК $C=7,5 \cdot 10^{-5}$ М (пар основ). Зразки виготовлені при кімнатній температурі.

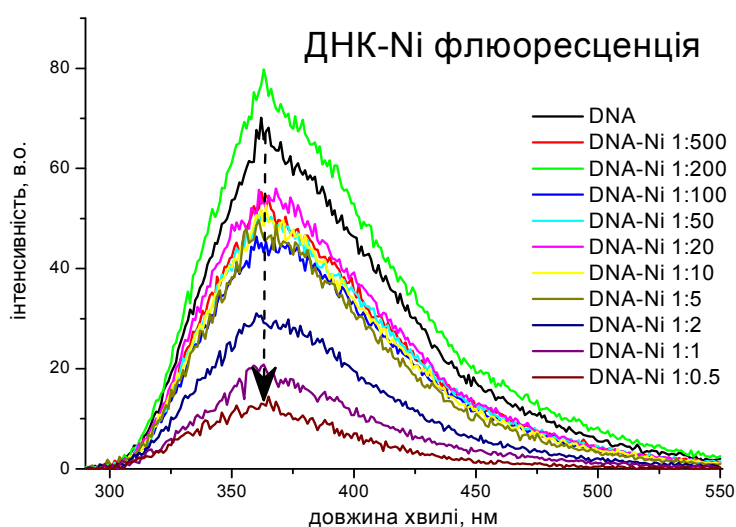


Рис.2 Спектри флюоресценції водних розчинів ДНК та ДНК в присутності іонів нікелю з різним співвідношенням іонів Ni до пар основ ДНК. Концентрація ДНК $C=7,5 \cdot 10^{-5}$ М (пар основ). $T=77\text{K}$, збудження 260 нм.

реєстрації, зафіксовано флюоресценцію розчинника, можливо пов'язану з деякими неконтрольованими домішками. Це питання окремо досліджувалось, і в результаті слабке свічення розчинника було враховано.

концентрації 1 йон металу на 500 пар основ, до найбільшої - 2 йони металу на 1 пару основ ДНК (для однозначності позначень, дана концентрація позначена 1:0.5).

Із спектрів поглинання що наведені на рис.1 видно що форми смуг поглинання зразків ДНК з різною кількістю іонів Co та Ni в області першого електронного переходу ДНК (260 нм) співпадають. На основі даного спостереження зроблено висновок що йони кобальту та йони нікелю взаємодіють з нуклеотидами ДНК неселективно у всьому діапазоні концентрацій металу.

Оскільки поглинання в спектральному діапазоні поблизу 260 нм спричинено саме основами ДНК і в присутності металів не спостерігаються зміни від кількості іонів металу, то можна зробити висновок, що йони нікелю та йони кобальту не утворюють комплексів з основами ДНК.

Йони кобальту та нікелю в розчині не проявляють власної флюоресценції та фосфоресценції. Однак слід зазначити, зважаючи на низький рівень корисного сигналу і, відповідно, роботу при високих чутливостях

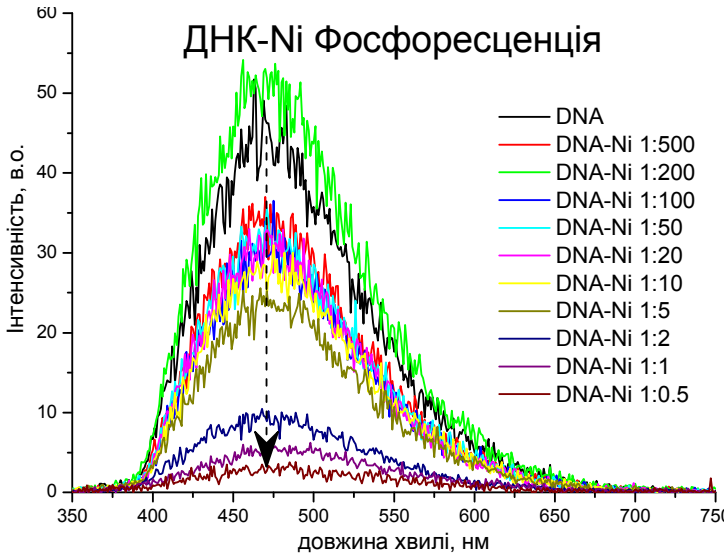


Рис.3 Спектри фосфоресценції водних розчинів ДНК з нікелем. Концентрація ДНК $C=7,5 \cdot 10^{-5}$ М (пар основ). $T=77\text{K}$, збудження 260 нм.

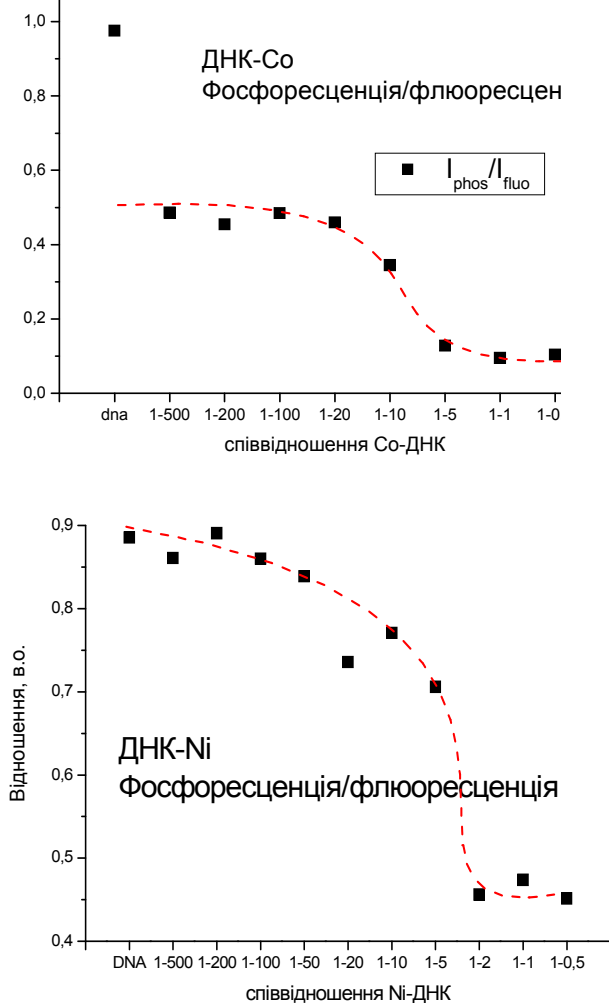


Рис.4 Співвідношення інтенсивностей фосфоресценції до флюоресценції ДНК в залежності від концентрації кобальта (а) та нікелю (б).

В спектрах флюоресценції зразків ДНК-кобальт та ДНК-нікель (Рис.2), як і для чистої ДНК спостерігається широка безструктурна смуга з максимумом в околі 370 нм, а у фосфоресценції (рис.3), безструктурна смуга з максимумом в околі 470 нм.

Встановлено що форма смуги не залежать від кількості металу нікелю або кобальту, та від способу приготування зразку (при кімнатній температурі чи при 80C).

Суттєвий факт полягає в тому, що і для кобальта, і для нікелю не спостерігається ефекту «важкого атома» – у досліджуваній системі не відбувається збільшення інтенсивності фосфоресценції ДНК в присутності іонів нікелю або кобальту, а навпаки інтенсивності і флюоресценції і фосфоресценції зменшуються.

На основі отриманих даних можна зробити висновок що позитивно заряджені іони Ni, Co, Mn, Fe - не проникають у внутрішній простір макромолекули ДНК між парами основ (у цьому випадку хвильові функції основ ДНК та іонів металів недостатньо перекриваються для появи ефекту «важкого атома»), а зв'язуються, головним чином, з негативно зарядженими фосфатними групами на периферії макромолекули ДНК. З

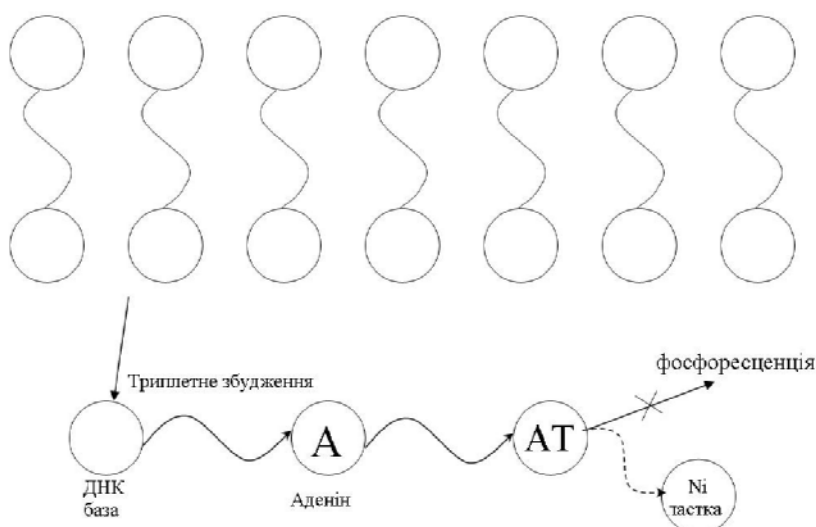


Рис.5 Схема перенесення триплетного збудження в системі ДНК-кобальт або ДНК-нікель

іншого боку, ефект гасіння флуоресценції свідчить про те що ланки, зв'язані з іонами металів грають роль пасток для мігруючих триплетних збуджень.

З аналізу співвідношення інтенсивностей флуоресценції до флуоресценції (рис. 4а, б), видно що починаючи з концентрації 1-20 (1 йон металу на 20 пар основ ДНК) відбувається різке

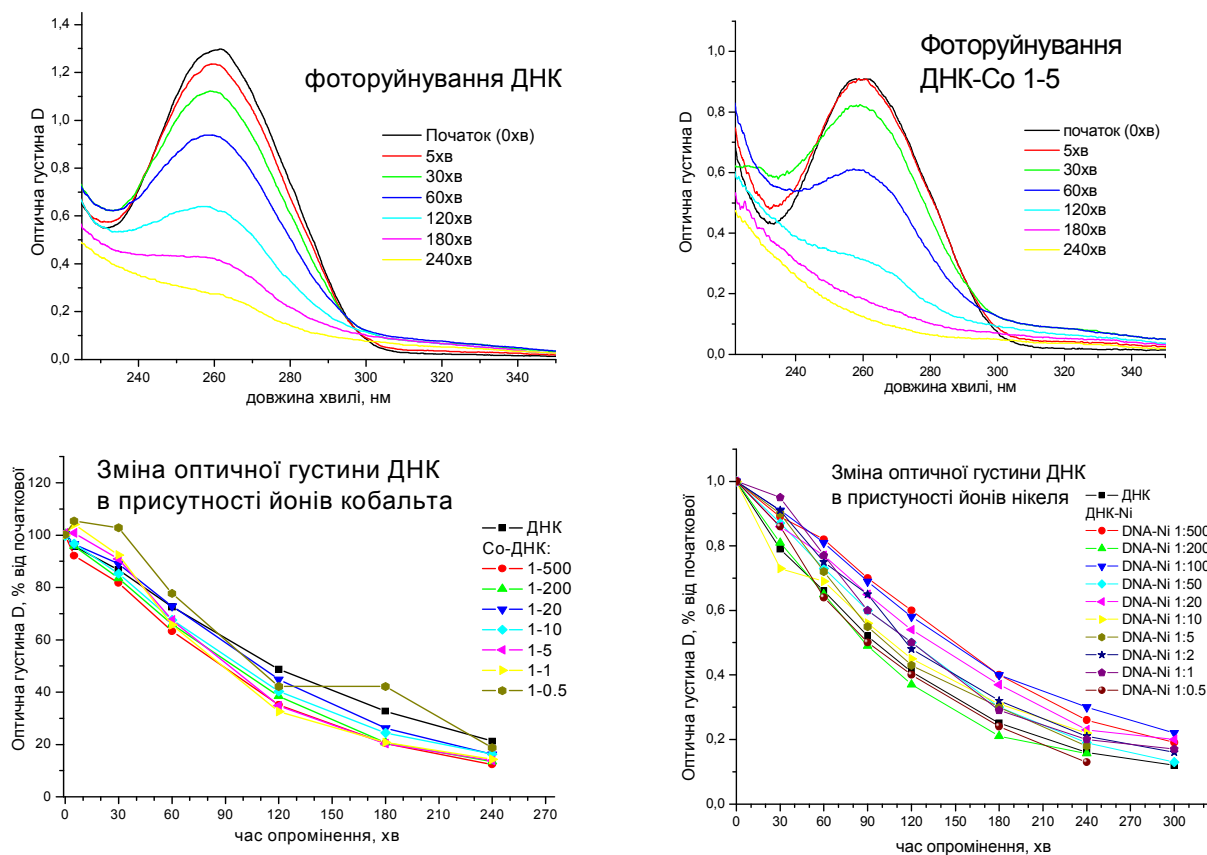


Рис.6 Залежність спектрів поглинання зразків водних розчинів ДНК (а) та ДНК-кобальт концентрації 1-5 (б); та величина оптичної густини D в максимумі поглинання (260nm) відносно початкової для зразка ДНК-Co(в) та ДНК-Ni (г) в залежності від часу опромінення ультрафіолетовим світлом ртутної лампи (потужна смуга випромінювання 254nm якої потрапляє в область поглинання ДНК).

зменшення інтенсивності фосфоресценції по відношенню до флюоресценції. Істотне зменшення відносної інтенсивності фосфоресценції ДНК починається, коли середня відстань між двома сусідніми центрами перехоплення збудження становить приблизну довжину послідовності 20 пар основ ДНК (50 Å). Це значення відповідає середньому значенню пробігу триплетного збудження вздовж макромолекули ДНК. Отримане значення досить близьке до отриманого Берсоном і Ізенбергом (20 базових пар) та до даних попередніх робіт (16–20 базових пар ДНК) лабораторії кафедри експериментальної фізики, отриманих іншими методами.

На основі отриманих даних побудовано наведену на рис.5 схему передачі енергії в системі ДНК-метал для випадків ДНК-нікель або ДНК-кобальт.

Дослідження фотостабільності ДНК та систем ДНК-кобальт та ДНК-нікель додатково підтверджують факт того що йони металу кобальту або нікелю не проникають всередину макромолекули ДНК і тим самим не призводять до підвищеної заселеності їх триплетних енергетичних рівнів за рахунок впливу на спін-орбітальну взаємодію π -електронних систем основ ДНК. Адже відомо що фотохімічні реакції (в тому числі фотодеградація) відбуваються в основному із збуджених триплетних станів. Експериментально встановлено що і кобальт, і нікель, практично не впливають на швидкість фотодеградації ДНК (рис.6, в, г), а форма основної смуги поглинання ДНК (260нм) при фотодеградації в присутності металу не змінюється (рис.6, а, б).

Основні результати підрозділу 3.1 наступні:

- Вплив іонів кобальта, нікеля на спін-орбітальну взаємодію в π -електронних системах пар основ ДНК незначний – можливо через зовнішнє зв'язування іонів металу з фосфорними групами макромолекулою ДНК. Нагрів системи не змінює цю взаємодію, а значить і не впливає на характер зв'язування іонів металу з ДНК.
- При збільшенні концентрації іонів кобальту, або нікелю, відношення інтенсивностей фосфоресценції до флюоресценції спадає для обох систем, що свідчить про те що триплетне збудження перехоплюється центрами пов'язаними з іонами металу. Оцінена довжина пробігу мобільного триплетного збудження відповідає довжині послідовності 20 пар основ ДНК.
- Наявність іонів кобальта та нікелю істотно не впливає на швидкість фотодеградації ДНК що ще раз підтверджує що йони кобальта або нікелю істотно не впливають на заселеність триплетних рівнів основ ДНК.

В підрозділі 3.2 розглянуто спектральні прояви взаємодії ДНК з іонами срібла. Присутність срібла впливає на спектральні властивості ДНК значно суттєвіше, на відміну від іонів нікелю і кобальту розглянутих в попередньому підрозділі.

Зафіксовано, що при збільшенні концентрації іонів срібла, максимум поглинання ДНК в області першого електронного переходу (260нм) зміщується в довгохвильову область на величину 6-7 нм при незмінному спектральному контурі смуги поглинання (рис.7).

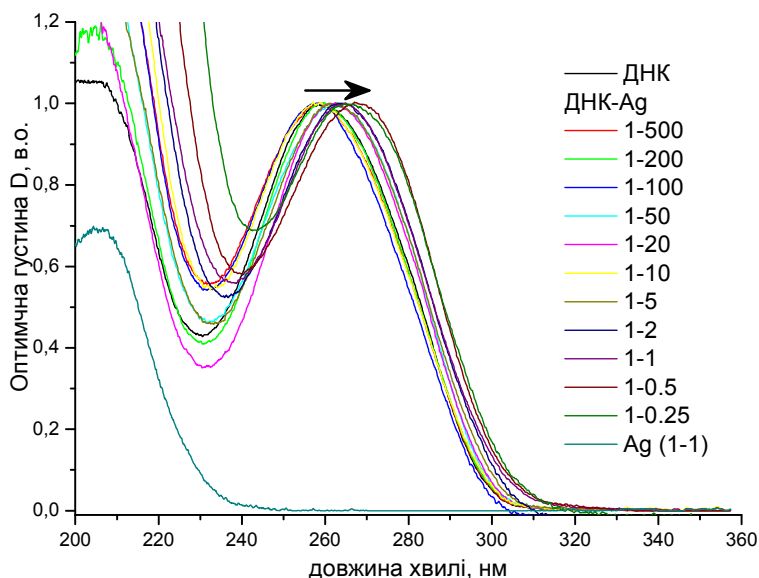


Рис.7 Спектри поглинання водних розчинів ДНК, та розчинів ДНК-Ag з різним співвідношенням. Графіки нормовано на 1 по максимуму поглинання. Також для порівняння наведено графік поглинання солі AgNO_3 в концентрації такої ж як і в зразку 1-1 (1 атом срібла на 1 пару основ ДНК). Зразки виготовлені при кімнатній температурі

срібла 1-10 до 1-1 відбувається стрімке (близько 700 разів), збільшення інтенсивності флуоресценції, а починаючи з концентрації 1-2 (1 іон срібла на дві пари основ ДНК) в спектрі флуоресценції з'являється чітко помітна структура. (рис.8). Ця структура спектру подібна до структури спектру флуоресценції аденінової основи ДНК.

Для перевірки цього припущення, було порівняно флуоресценцію системи ДНК-срібло з флуоресценцією модельної сполуки PolyA (синтетична

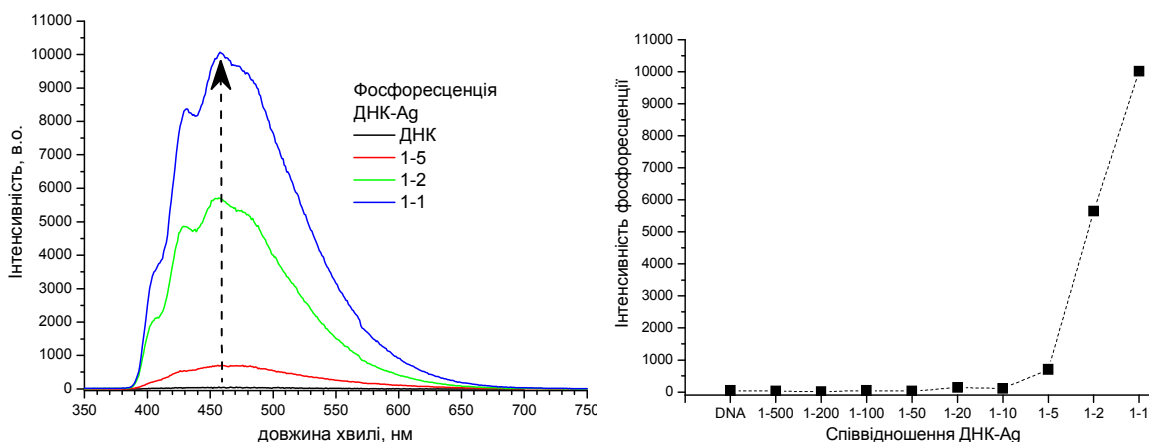


Рис.8 Спектри флуоресценції водних розчинів ДНК та зразків з великим співвідношенням іонів Ag до пар основ ДНК (а). Залежність (б) інтенсивності флуоресценції сполук від концентрації срібла. Концентрація ДНК $C=7,5 \cdot 10^{-5} \text{M}$ (пар основ). $T=77\text{K}$, збудження 260 нм

Інтенсивність флуоресценції в зразку ДНК-срібло при збільшенні кількості іонів срібла спадає. На відміну від зразків з кобальтом та нікелем, флуоресценція зразків із сріблом має суттєво іншу поведінку. Спочатку, в області малих концентрацій срібла, (1-500, 1-200) поведінка схожа на поведінку систем ДНК-кобальт або ДНК-нікель –

інтенсивність флуоресценції дещо спадає, однак при подальшому збільшенні кількості йонів срібла, інтенсивність флуоресценції починає істотно зростати (рис.8). При переході від концентрації

срібла 1-10 до 1-1 відбувається стрімке (близько 700 разів), збільшення інтенсивності флуоресценції, а починаючи з концентрації 1-2 (1 іон срібла на дві пари основ ДНК) в спектрі флуоресценції з'являється чітко помітна структура. (рис.8). Ця структура спектру подібна до структури спектру флуоресценції аденінової основи ДНК.

одноланцюгова ДНК що містить лише аденінові основи). При порівнянні спектрів фосфоресценції цих сполук видно що в спектрах і ДНК, і в модельній сполуці PolyA присутні максимуми 407, 432, 468 нм, однак співвідношення інтенсивностей між цими максимумами відрізняється. З цього можна зробити

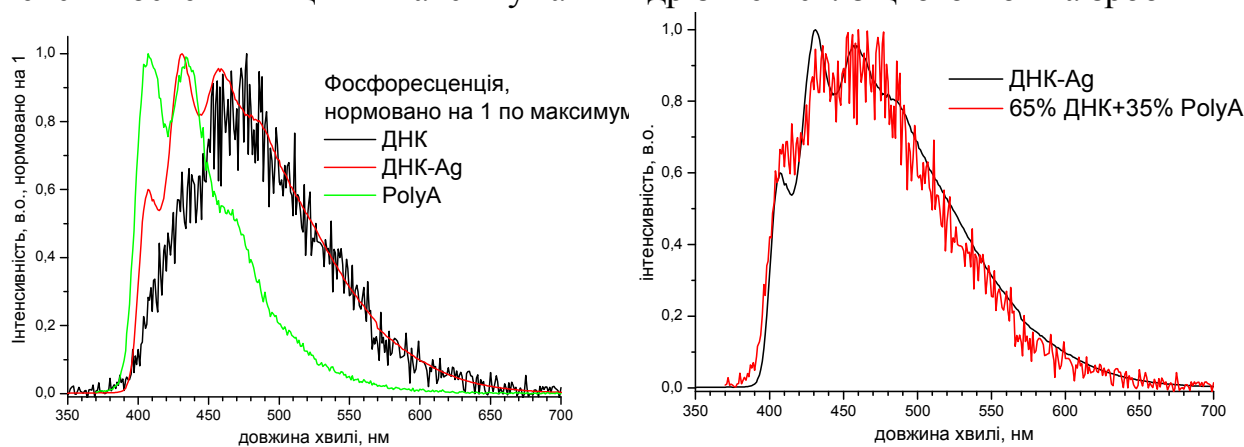


Рис.9 Спектри фосфоресценції водних розчинів ДНК, ДНК-Ag (два атоми срібла на одну пару основ ДНК) та модельної сполуки PolyA. Спектри нормовані на 1 по максимуму. $T=77K$, збудження 260нм.

висновок що структура належить саме аденіну, з певним додатковим вкладом іншого центру фосфоресценції (Рис.9, присутність широкого «крила» в довгохвильовій частині спектра).

Аналіз спектральних даних свідчить що цей додатковий центр може бути пов'язаним з АТ-комплексом ДНК, який відповідальний за фосфоресценцію цієї макромолекули. Шляхом підбору вагових коефіцієнтів вдалося майже точно отримати спектр фосфоресценції комплексу ДНК-срібло з лінійної комбінації спектрів фосфоресценції ДНК та фосфоресценції PolyA

Оскільки аденінова структура не проявляється при малих концентраціях срібла, а спостерігається тільки послаблення фосфоресценції чистої ДНК, то можна зробити висновок що зв'язування срібла з макромолекулою ДНК відбувається в три етапи, які і проявляються по-різному в спектрах фосфоресценції. При малих концентраціях срібла відбувається, переважно, зовнішнє зв'язування аналогічно нікелю та кобальту, а при збільшенні концентрації срібла вакантних місць зв'язування на зовнішній стороні ДНК стає менше, і атомам срібла стає енергетично вигідно потрапити «в борозенку», а потім і в середину (інтеркалювати) в простір між парами основ макромолекули ДНК.

Основні результати підрозділу 3.2 наступні:

- На відміну від іонів нікеля і кобальта, іони срібла істотно впливають не лише на інтенсивність (зростання в 700 разів), а і на спектр фосфоресценції ДНК (поява структури), і це є доказом того що іони срібла проникають в простір між основами макромолекули ДНК. Даний факт свідчить про те що вплив йонів срібла на спін-орбітальну взаємодію в π -електронних системах основ ДНК є значним. (Збурення спін-

орбітальної взаємодії, пов'язане з ефектом "важкого атома", призводить до збільшення заселеності триплетних енергетичних рівнів).

- Мігруючі триплетні збудження в системі ДНК-срібло захоплюються адениновими основами та комплексами АТ, що додатково підтверджує те що триплетний енергетичний рівень аденіну є найнижчим з усіх триплетних рівнів основ макромолекули ДНК

В розділі 4, розглянуто прикладні аспекти досліджень впливу важких металів на спектральні властивості ДНК, в підрозділі 4.1 розглянуто спектральні прояви взаємодії ДНК з платиною у складі цисплатину. ДНК з сіллю платини – цисплатином є фактично частиною лікарського препарату "Поліплатилен" результати досліджень якого будуть подані далі.

З рисунку 10, на якому наведено спектри оптичного поглинання ДНК з різною кількістю молекул цисплатину, видно, що окрім зміщення максимуму поглинання ДНК, спостерігається зміна форми смуги – при збільшенні кількості цисплатину, смуга поглинання ДНК в області першого електронного переходу (260нм) помітно уширюється. Видно що вклад поглинання цисплатину в результуючий спектр не є адитивним (окремий графік поглинання якого при великій концентрації наведено).

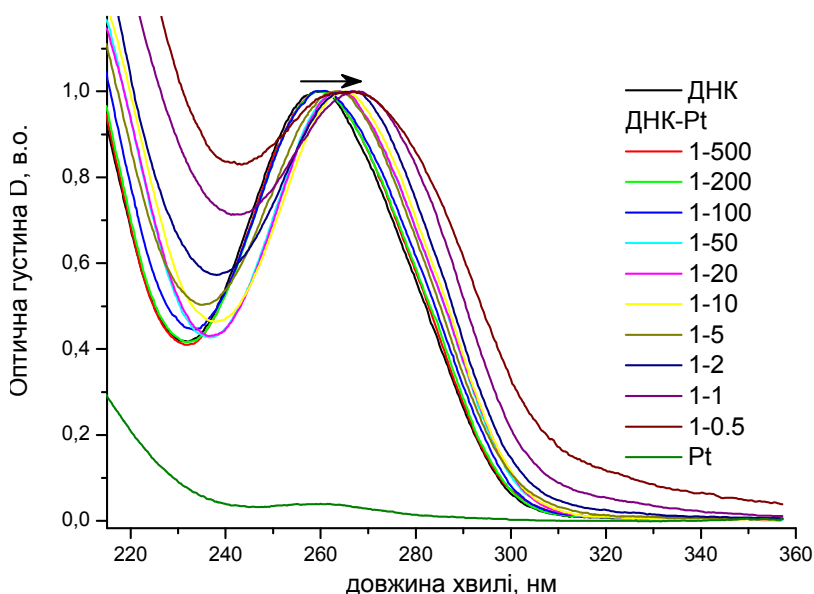


Рис.10 Спектри поглинання водних розчинів ДНК, та ДНК з цисплатином з різним співвідношенням Pt до пар основ ДНК 1-500 до 1-0.5. Зразки виготовлені при кімнатній температурі. Графіки нормовано на 1 по максимуму поглинання в області 260 нм

основ ДНК) можна припустити що не всі місця куди може приєднатися цисплатин, заповнені. Дане припущення підтверджується тим що графік залежності положення максимуму поглинання ДНК від концентрації цисплатину є монотонним, тобто не виходить на "поличку" – чим більше платини, тим більший зсув в довгохвильову частину спектра. І при найбільшій

При малих концентраціях, (менших за 1-100) присутність цисплатину не проявляється в поглинанні ДНК, а зсув максимуму стає добре помітним починаючи з концентрації 1-50. Це може бути пов'язано з тим що спочатку цисплатином заповнюються ті вакантні місця, які знаходяться ближче до периферії макромолекули. Оскільки в ДНК є багато можливих місць для зв'язування цисплатину, то навіть при найбільшій можливій концентрації (2 молекули цисплатину на 1 пару

концентрації цисплатину максимум зсувається на 7 нм в довгохвильовий бік до 267 нм. Також можна помітити що при високій концентрації починає з'являтися "хвіст" з максимумом в околі 310-320 нм. Це не є адитивний вклад цисплатину, бо спектр чистого цисплатину такої ж концентрації не має відповідного максимуму з такою величиною поглинання в цій області.

В люмінесценції помітні суттєві відмінності від даних отриманих в попередніх підрозділах. Спостерігається повне гасіння флюоресценції при концентрації 1-2. При великій концентрації цисплатину, спостерігається поява слабкої широкої смуги в тій же спектральній області де знаходиться фосфоресценція ДНК. Враховуючи параметри експерименту, це може свідчити

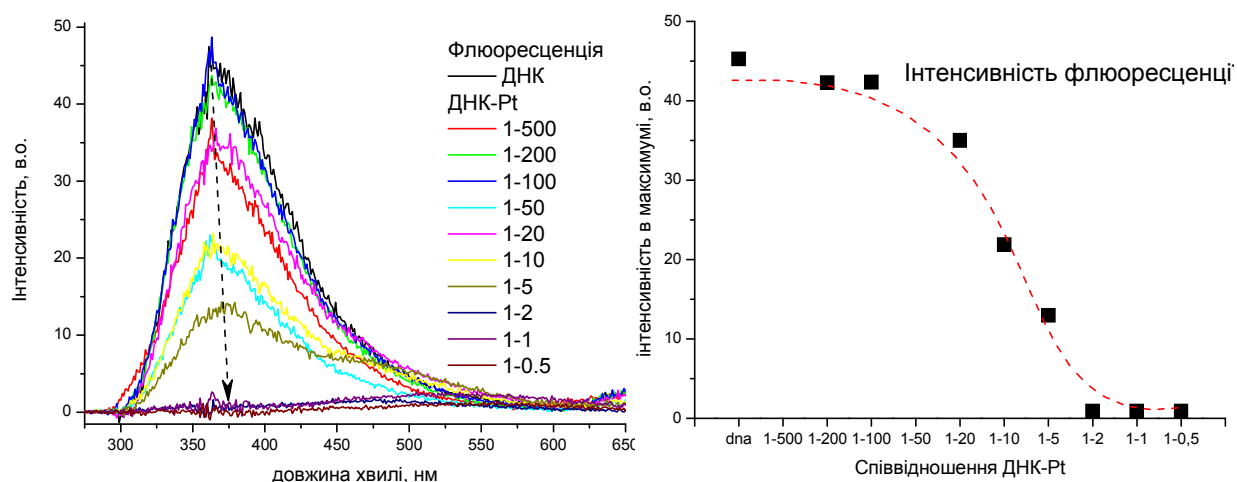


Рис.11 Спектри флюоресценції (а), та залежність інтенсивності флюоресценції (б) водних розчинів досліджуваних сполук від відносної концентрації молекул цисплатину. Концентрація ДНК $C=7,5 \cdot 10^{-5}$ М (пар основ). Зразки готувалися при кімнатній температурі. $T=77\text{K}$, збудження 260 нм

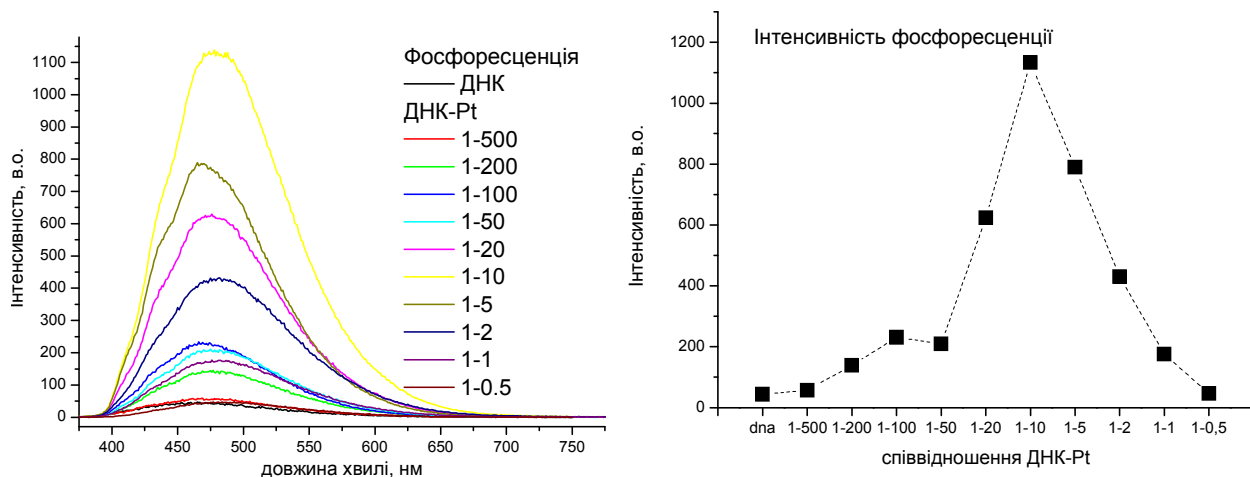


Рис.12 Спектри фосфоресценції (а), та залежність інтенсивності фосфоресценції (б) водних розчинів досліджуваних сполук від відносної концентрації молекул цисплатину. Концентрація ДНК $C=7,5 \cdot 10^{-5}$ М (пар основ). Зразки готувалися при кімнатній температурі. $T=77\text{K}$, збудження 260 нм

про появу короткоживучого компонента фосфоресценції, однак цей факт потребує додаткових досліджень.

У фосфоресценції спостерігається плавне зростання інтенсивності від навіть найменшої концентрації – при концентрації 1 молекула цисплатину на 500 пар основ ДНК, у фосфоресценції вже спостерігається збільшення інтенсивності (на рис.12 це видно наочно). З цього можна зробити висновок що цисплатин не зв'язується з периферією ДНК, а одразу проникає в простір біля основ ДНК, можливо через входження в борозенку, тобто впливає сильніше ніж кобальт і нікель, але в той же час недостатньо близько до π -електронних систем основ ДНК для появи аденінової структури, як у випадку зі сріблом.

Інтенсивність фосфоресценції збільшується монотонно при збільшенні концентрації цисплатину, досягаючи максимуму при концентрації 1 молекула цисплатину на 10 пар основ ДНК. Після перевищення цієї концентрації, інтенсивність фосфоресценції спадає (можливо за рахунок концентраційного гасіння).

Основні результати підрозділу 4.1 наступні

- На відміну від нікеля, кобальта і срібла, флюоресценція ДНК повністю гаситься в присутності цисплатину.
- При збільшенні кількості цисплатину, інтенсивність фосфоресценції ДНК зростає, як і в системі ДНК-срібло, однак при цьому форма смуги фосфоресценції не змінюється, структура не проявляється.
- Додатковим свідченням близькості атомів платини цисплатину до π -електронних систем ДНК є також зсув максимуму фосфоресценції в довгохвильовий бік. (π -електронна система основ ДНК відчуває «важкий» атом, але вплив не такий значний як у випадку срібла, можливо через більшу відстань).

В підрозділі 4.2 досліджені спектральні властивості лікарського препарату «Поліплатилен», що побудований на базі сполуки цисплатину вбудованої в макромолекулу ДНК. В даному препараті макромолекула ДНК використовується як носій для цисплатину. В препараті також є допоміжна речовина – фторурацил, який

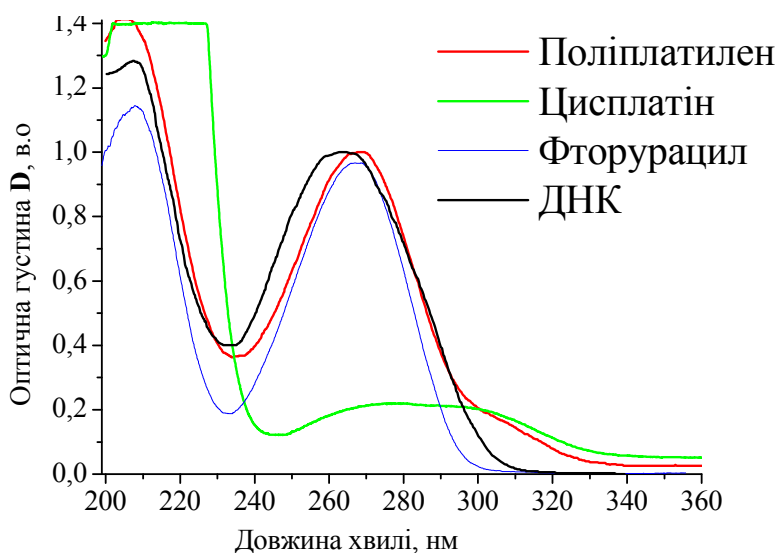


Рис.13 Спектри поглинання водних розчинів поліплатилену та його складових компонент. Концентрація ДНК $C=7,5 \cdot 10^{-5}$ М (пар основ), концентрація поліплатилену $7,5 \cdot 10^{-2}$ мг/мл, концентрація цисплатину та фторурацилу $9,5 \cdot 10^{-4}$ мг/мл.

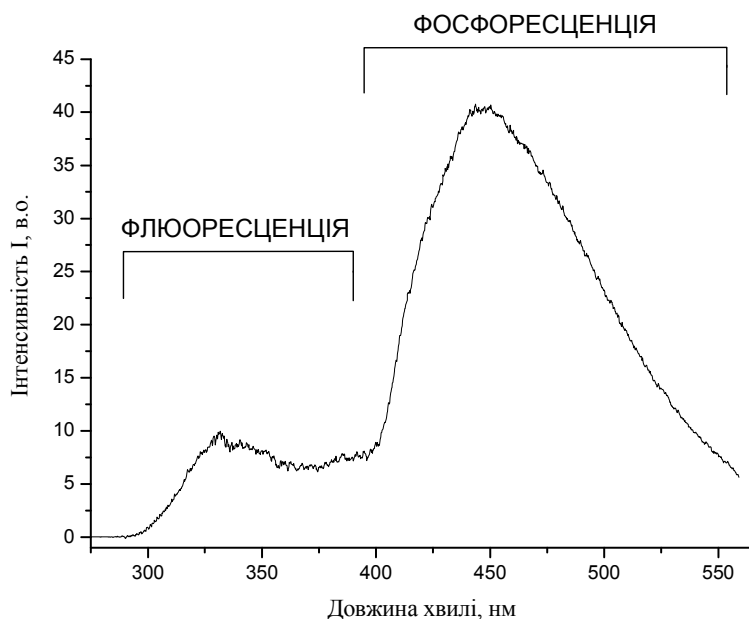


Рис.14 Спектр загальної люмінесценції водного розчину Поліплатилену, $T=77\text{K}$, збудження 260nm . Концентрація поліплатилену $7,5 \cdot 10^{-2}\text{mg/ml}$

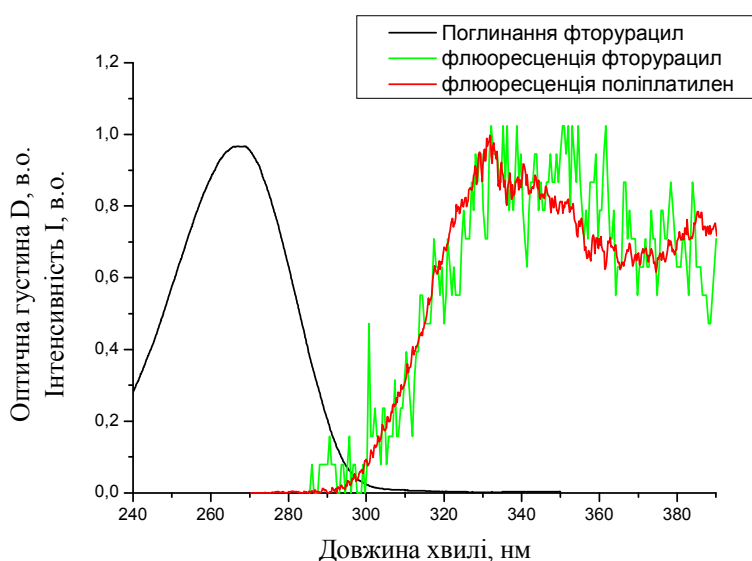


Рис.15 Спектри поглинання фторурацилу, флюоресценції фторурацилу, та флюоресценції поліплатилену. Збудження 260nm , температура 77K .

Це також узгоджується з результатами вимірів з попереднього розділу, де помічено факт гасіння флюоресценції ДНК в присутності цисплатину.

В той же час, при порівнянні спектрів фосфоресценції Поліплатилену з ДНК та різними модельними сполуками що раніше досліджувались в лабораторії,

застосовується як фотостабілізатор препарату, підвищуючи його стабільність під час зберігання.

З рисунку 13 видно що в спектрі поглинання поліплатилену спостерігається 2 смуги. Із порівняння їх форми та положення зі спектрами поглинання окремих компонент препарат (ДНК, цисплатин, фторурацил), можливо прийти до висновку що основна смуга (266nm) в поглинанні поліплатилену відповідає поглинанню фторурацила, а слабка широка смуга з максимумом в околі 305nm відповідає поглинанню цисплатину.

В спектрі загальної люмінесценції поліплатилену (рис.14) спостерігаються дві смуги, відповідно флюоресценції і фосфоресценції.

Для встановлення їх природи, записані і проаналізовані

спектри флюоресценції (рис.15) та фосфоресценції (рис.16) окремих компонентів препарату.

В результаті досліджень встановлено, що джерелом флюоресценції препарату Поліплатилен є фторурацил.

встановлено, що спектри фосфоресценції ДНК, 5'CCCGGGTTTAAA3', poly-d(AT), d(AT) і поліплатилену є дуже близькими.

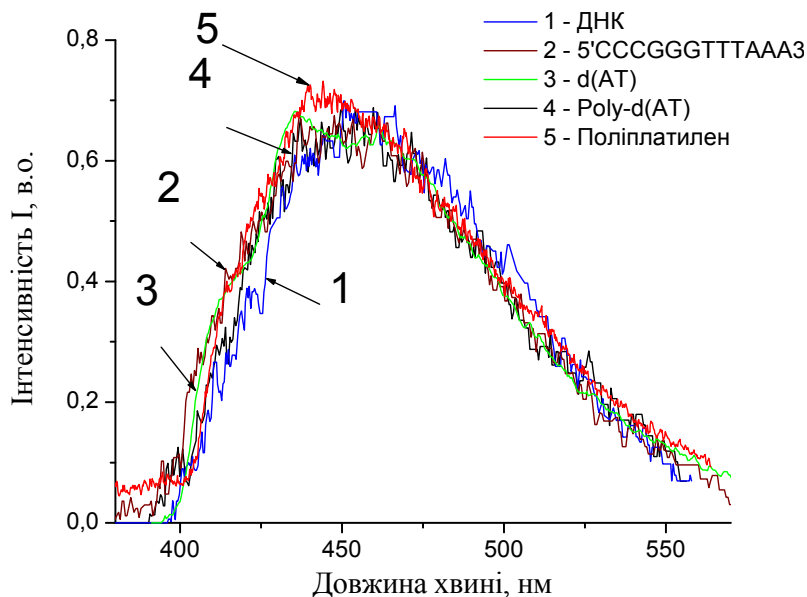


Рис.16 Спектр фосфоресценції водних розчинів поліплатилену, ДНК та деяких нуклеїномісних сполук. Спектри нормовані на однакову інтенсивність Збудження 260nm, температура 77K.

З подібності спектрів фосфоресценції можна зробити висновок що пастками для триплетних збуджень в поліплатилені є АТ-комплекси, як і в чистій ДНК.

Також можна відзначити те що на відміну від чистої ДНК, в спектрі люмінесценції поліплатилену значно переважає фосфоресценція, що може бути спричинено саме впливом «важкого атома» – платини в складі цисплатину.

З аналізу спектральних даних можна зробити остаточний висновок про схему передачі енергії (рис.17). В поліплатилені поглинає і збуджується фторурацил, частково випромінює збудження у вигляді власної флюоресценції, далі він передає збудження на ДНК, а в ДНК триплетне збудження випромінювально

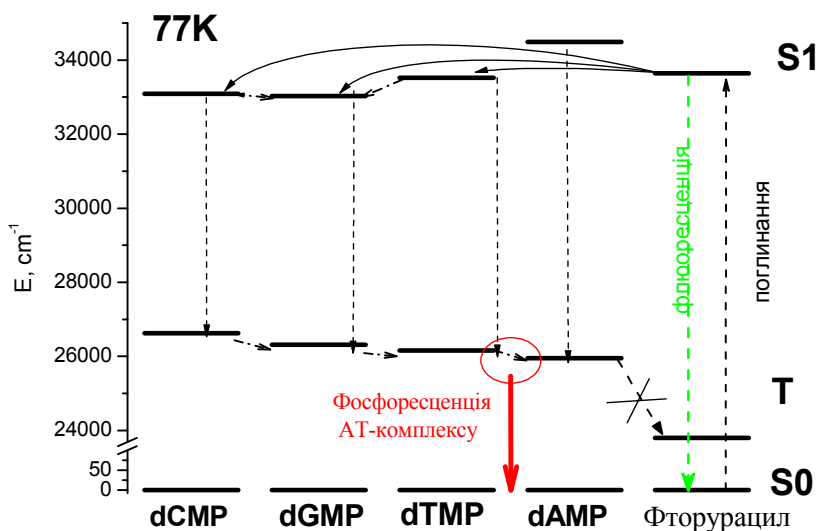


Рис.17 запропонована, на основі отриманих спектральних даних, схема передачі енергії електронного збудження в препараті Поліплатилен.

деактивується з АТ-комплексів. Наявність платини, за рахунок ефекта «важкого атома» (атома з великим зарядом ядра) підвищує кількість інтеркомбінаційних переходів на триплетні рівні, а значить і заселеність триплетних рівнів. Як наслідок спостерігається велика інтенсивність фосфоресценції та значна фотохімічна активність препарату.

При дослідженні фотостабільності препарату встановлено, що фотодеградація поліплатилену відбувається з значно більшою швидкістю, ніж це спостерігається для чистої ДНК. Крім того, аналіз спектральних даних (рис. 18б) свідчить про те що в препараті спочатку фотодеградує фторурацил, Після повного руйнування фторурацилу, починається деградація ДНК.

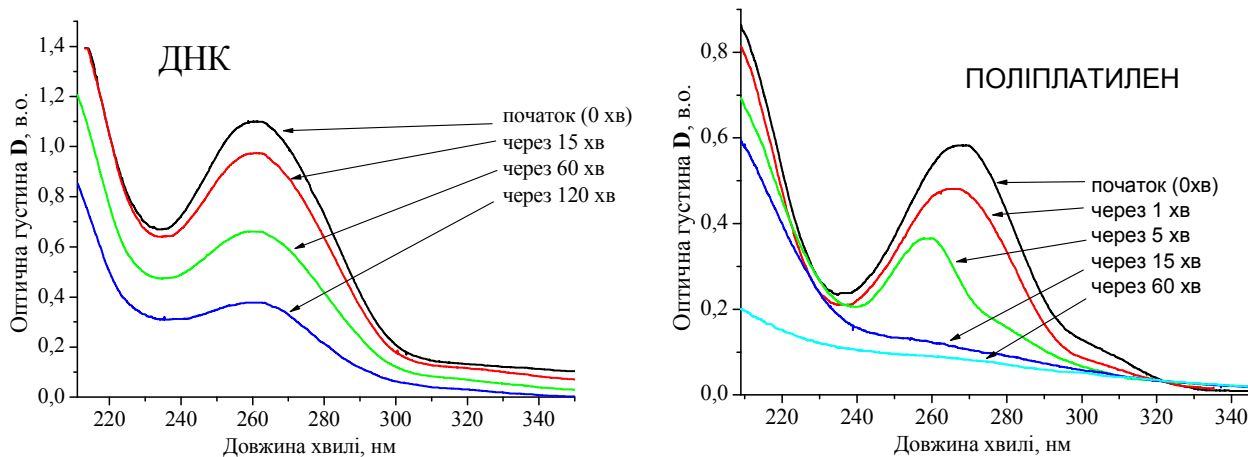


Рис.18 Зміна з часом спектру поглинання водних розчинів ДНК (а) та поліплатилену (б) при опроміненні в залежності від часу опромінення ультрафіолетовим світлом ртутної лампи (смуга випромінювання 254 нм, потрапляє в область поглинання ДНК).

Даний ефект пояснюється підвищеною заселеністю триплетних станів Поліплатилену, і збільшенням кількості фотодеструктивних реакцій.

Дана властивість препарату може бути використана для додаткової методики використання поліплатилену, а саме комбінації хімічної дії препарату з фотодинамічною або рентгено-динамічною терапією.

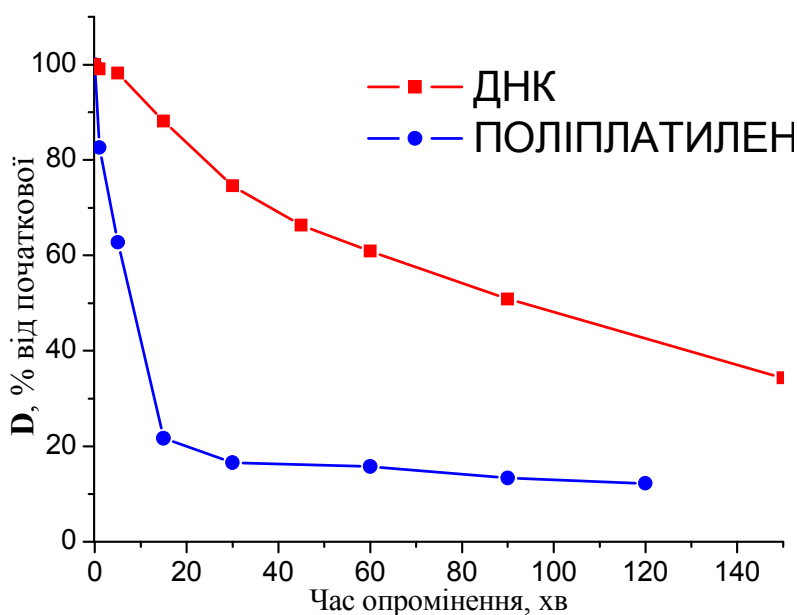


Рис.19 Зміна оптичної густини в максимумі поглинання водних розчинів ДНК та поліплатилену в залежності від часу опромінення.

Основні результати підрозділу 4.2 наступні:

- Встановлено що фосфоресценція Поліплатилену визначається фосфоресценцією ДНК, а збільшення інтенсивності пов'язано із ефектом важкого атома – платини.

- Визначено енергію перших збуджених синглетного та триплетного рівнів допоміжного компоненту препарату поліплатилен - фторурацилу і запропоновано схему передачі енергії електронного збудження в поліплатилени.
- Підвищена швидкість фотодеградації поліплатилену порівняно з чистою ДНК (спричинена значною заселеністю триплетного рівня ДНК завдяки присутності платини) може бути використана для реалізації додаткової методики застосування даного препарату.

Загальні **висновки** дисертаційної роботи сформульовано наступні:

1. Іони нікелю, кобальту, магнію і заліза зв'язуються з ДНК на периферії макромолекули (можливо електростатичне зв'язування з фосфорними групами), що приводить до того що вплив цих іонів на спін-орбітальну взаємодію в π -електронних системах основ ДНК є незначним і не призводить до значного збільшення заселеності їх триплетних станів. Експерименти по фотодеградації додатково підтверджують даний висновок.
2. Для систем ДНК-кобальт, ДНК-нікель встановлено факт перенесення мобільних триплетних електронних збуджень та оцінено довжину їх вільного пробігу, яка близька до такої ж величини для чистої ДНК.
3. Іони срібла суттєво впливають на форму спектрів (поява аденінової структури) та інтенсивність (зростання в сотні разів) фосфоресценції водних розчинів ДНК що може свідчити про те що дані йони інтеркалюють в простір між основами макромолекули ДНК, і таким чином істотно впливають на спін-орбітальну взаємодію π -електронних системах основ ДНК.
4. Атоми платини в складі цисплатину в водному розчині ДНК також знаходяться досить близько до π -електронних систем основ макромолекули ДНК, підвищуючи ймовірність інтеркомбінаційних переходів, що проявляється у зростанні інтенсивності фосфоресценції.
5. На основі отриманих спектральних даних побудована енергетична діаграма складових компонент препарат "Поліплатилен" та запропонована схема перенесення енергії електронного збудження в даному препараті.
6. Препарат Поліплатилен проявляє підвищену швидкість фотодеградації порівняно з чистою ДНК, що відкриває шлях до застосування його як компонента ліків сучасного покоління, для фотоактивованої хіміотерапії та рентгенодинамічної терапії.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ:

Статті у наукових фахових виданнях:

1. **Dmytro Gryn, Valeriy Yashchuk, and Elvira Sereda** "Effect of Ni ions on the DNA spectral properties and photostability", *Low Temperature Physics/Fizika Nizkikh Temperatur*, **47** (3), 248–253 (2021). (особистий внесок автора: приготування зразків для досліджень, проведення експерименту,

- інтерпретація отриманих даних, участь у написанні статті) (Видання входить в перелік наукових фахових видань України, **категорія А**)
2. Anna Grebinyk, Valeriy Yashchuk, Nataliya Bashmakova, **Dmytro Gryn**, Tobias Hagemann, Antonina Naumenko, Nataliya Kutsevol, Thomas Dandekar, Marcus Frohme, «A new triple system DNA-Nanosilver-Berberine for cancer therapy». *Appl Nanosci* **9**, 945–956 (2019). (особистий внесок автора: виготовлення зразків ДНК-срібло, проведення експерименту з визначення їх спектральних характеристик, участь в обробці та інтерпретації отриманих даних, участь у написанні статті) (Видання входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus**)
 3. Kravchenko, V. M., Rud, Y. P., Buchatski, L. P., Stepanenko, Y. Y., **Gryn, D. V.**, & Yashchuk, V. M., “Spectroscopic Studies of Infectious Pancreatic Necrosis Virus, Its Major Capsid Protein, and RNA”. *Ukr. J.Phys.*, **64**(2), 120. (2019). (особистий внесок автора: проведення експерименту, участь в обробці та інтерпретації отриманих даних, участь у написанні статті) (Видання входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus**)
 4. **Gryn, D.**, Yashchuk, V. and Sereda, E. "Effect of Co Ions on the Spectral Properties and Photostability of DNA", *Macromol. Symp.*, **336**, 25–29. (2014) (особистий внесок автора: виготовлення зразків для досліджень, проведення експерименту, інтерпретація отриманих даних, участь у написанні статті) (Видання входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus**)
 5. V. Yashchuk, V. Kudrya, **D. Gryn**, L. Yatsenko, I. Volchenskova, A. Naumenko, N. Yevtushenko, "The effect of noble metal atom incorporation on DNA spectral properties and its stability under irradiation", *J. Mol. Liq.*, **153**, 159-161 (2010) (особистий внесок автора: приготування зразків для досліджень, проведення експерименту, інтерпретація отриманих даних, участь у написанні статті) (Видання входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus**)
 6. Pivovarenko Y.V., **Gryn D.V.**, Shablykin O.V., Yashchuk V.M., "The spectral manifestation of molecular hydrogen presence in aqua solution", *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv Series Physics & Mathematics*, **3**, 155-158, (2016) (особистий внесок автора: виготовлення зразків, планування та проведення експерименту, участь в обробці, обговоренні та інтерпретації отриманих даних, участь у написанні статті) (Видання входить в перелік наукових фахових видань України, **категорія Б**)
 7. Nikolai Galunov, **Dmytro Gryn**, Nataliya Karavaeva, Ilarion Khromiuk, Igor Lazarev, Oleksandr Navozenko, Antonina Naumenko, Oleg Tarasenko, Valeriy Yashchuk, "Delayed radioluminescence of some heterostructured organic scintillators", *Journal of Luminescence*, **226**, 117477, (2020) (особистий внесок автора: вибір параметрів запису спектрів, проведення експерименту, участь у написанні статті) (Видання входить до міжнародної наукометричної бази **Scopus**)

Наукові праці (тези доповідей на наукових конференціях) які засвідчують апробацію дисертації:

8. **Гринь Д.В.**, Науменко А.П. Ізомерно-залежні оптичні властивості водних розчинів препаратів платини.// Матеріали Науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Об'єднані наукою: перспективи міждисциплінарних досліджень», 12–13 листопада 2020, Київ, Матеріали конференції, с.163-166
9. **Gryn D.V.**, Yashchuk V.M. Influence of AG+ ions on DNA spectral properties // International research and practice conference: NANOTECHNOLOGY AND NANOMATERIALS (NANO-2020), Book of Abstracts, 26-29 August 2020, Lviv, Ukraine, p.294
10. **Gryn D.V.**, Yashchuk V.M., Tkachuk Z.U Some peculiarities of spectral properties of various compounds of adenine nucleotide and polynucleotide. // XII International Conference "Electronic Processes in Organic and Inorganic Materials" (ICEPOM-12) Book of abstracts, 1-5 June 2020, Kamianets-Podilskiy, Ukraine, ,p.16
11. Anna Grebinyk, Valeriy Yashchuk, Tobias Hagemann, Nataliya Bashmakova, **Dmytro Gryn**, Antonina Naumenko, Nataliya Kutsevol, Thomas Dandekar, Marcus Frohme, Berberine Anticancer Activity through Nanocomplex with DNA and Metallic Nanoparticles, //international research and practiceconference: NANOTECHNOLOGY AND NANOMATERIALS (NANO-2017), Book of Abstracts, 23-26 August 2017, Chernivtsi, Ukraine, p.605
12. **Dmytro V. Gryn**, Valeriy M. Yashchuk, Kutsevol N.V., Yeschenko O.A., Bashmakova N.V., Malynovskiy M.B. The Peculiarities of DNA-Ag Nanoparticles Spectral Properties // The Jubilee10-th International Conference «Electronic processes in organic and inorganic materials» (ICEPOM–10), Book of abstracts Ternopil, Ukraine, May 23-27, 2016, p.61
13. **D.V.Gryn**, V.M.Yashchuk, E.V. Sereda, dna-cisplatin aqua solution: the spectral properties and photostability // International Conference "Physics of Liquid Matter: Modern Problems" (PLMMP-2014), Kyiv, May 23-27, 2014. - Book of Abstracts.- 2-28.P, p.68
14. **D.V.Gryn**, V.M.Yashchuk, E.V.Sereda. THE Co AND Ni IONS EFFECT ON THE DNA MACROMOLECULE SPECTRAL PROPERTIES AND PHOTOSTABILITY // XXI Galyna Puchkovska International School-Seminar SPECTROSCOPY OF MOLECULES AND CRYSTALS Book of Abstracts, September 22 – 29, Beregove, Crimea, Ukraine -2013. -P.3. -P.246
15. **D.V. Gryn**, V.M. Yashchuk, E.V. Sereda The effect of ni ions incorporation on the dna macromolecule spectral properties and its stability under irradiation // Electronic processes in organic materials 9th international conference ICEPOM-9, Book of Abstracts, May 20-24, Lviv, Ukraine, 2013, p.43
16. **D.V. Gryn**, V.M. Yashchuk, E.V. Sereda, The effect of Co ions incorporation on the DNA macromolecule spectral properties and its stability under irradiation // 9th International IUPAC Conference in Polymer-solvent

- Complexes and Intercalates POLYSOLVAT-9, Book of Abstracts, September 11-14, Kiev, Ukraine, 2012, p.63
17. V.M.Yashchuk, V.Yu.Kudrya, **D.V.Gryn**, V.Ya.Degoda, L.D.Yatsenko, I.I.Volyanskova, N.V.Yevtushenko. The Different Origin DNA with Incorporated Noble Metal Atoms: the Spectral Properties and the Photostability // International Conference "Physics of Liquid Matter: Modern Problems" (PLMMP-2010), Kyiv, May 21-24, 2010. - Book of Abstracts.- 6-39.P, p.275
18. V.M.Yashchuk, V.Yu.Kudrya, **D.V.Gryn**, N.V.Yevtushenko, L.D.Yatsenko. The Effect of Noble Metal Atoms on the Spectral Properties of the Polynucleotides // XIX International School-Seminar "Spectroscopy of Molecules and Crystals» (devoted to the 175th Anniversary of Kyiv Taras Shevchenko University).- September 20-27, 2009, Beregove, Crimea, Ukraine.- Book of Abstracts, P.286
19. V.M.Yashchuk, V.Yu.Kudrya, N.V.Yevtushenko, V.Ya.Degoda, L.D.Yatsenko, I.I.Volyanskova, **D.V.Gryn**. The Effect of Noble Metal Atoms Incorporation on the DNA Spectral Properties and its Stability Under Irradiation // International Conference "Physics of Liquid Matter: Modern Problems" (PLMMP-2008), Kyiv, 23-26 May 2008. - Book of Abstracts.- 6-29P, p.212.

АННОТАЦІЯ

Гринь Д.В. Спектральні прояви взаємодії ДНК з іонами металів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 01.04.05 – оптика, лазерна фізика. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Міністерство освіти і науки України, Київ, 2021.

В роботі досліджено та проаналізовано спектральні прояви взаємодії іонів металів Co, Ni, Fe, Mg, Ag, Pt з ДНК в оптичному діапазоні енергій. Вивчено спектри оптичного поглинання, флюоресценції, фосфоресценції, збудження фосфоресценції макромолекули ДНК та лікарських препаратів та їх складових компонентів на їх основі.

Показано що збурюючий вплив іонів кобальту та нікелю (так само як іонів заліза та магнію досліджених в попередніх роботах) на спін-орбітальну взаємодію в π -електронних системах основ ДНК є незначним, що проявляється в відсутності помітних проявів ефекту «важкого атому» в оптичних властивостях, та експериментах по фотодеградації вказаних систем. На основі цього зроблено висновок, що іони Co та Ni (досліджені в даній роботі) та Fe та Mg (досліджені в попередніх роботах) зв'язуються з фосфорними групами на периферії макромолекули ДНК. В той же час ланки ДНК із зв'язаними з ними іонами цих металів, грають роль пасток мігруючих в макромолекулі ДНК триплетних збуджень, що проявляється в істотному гасінні фосфоресценції ДНК іонами Co та Ni. Отримана в роботі довжина пробігу триплетного

збудження складає приблизно 50 А (18-20 пар основ ДНК), що співпадає з оцінкою цієї величини, отриманої в попередніх роботах.

На відміну від іонів Co, Ni, Fe, Mg іони срібла істотно (в сотні разів) підвищують інтенсивність фосфоресценції ДНК та призводять до появи аденіно-подібної структури в спектрах фосфоресценції ДНК, що пояснюється проникненням цих іонів в простір між основами ДНК. Таке проникнення призводить до значного збурення спин-орбітальної взаємодії π -електронів основ ДНК і таким чином прояву ефекту «важкого атому».

Прикладна частина роботи пов'язана з дослідженням впливу цисплатину (сполуки на основі платини, що є антираковим лікарським препаратом першого покоління) на спектральні властивості ДНК, спектральних властивостей та ефектів фотодеградації лікарського препарату Поліплатилен (що є комплексом ДНК з цисплатином – антираковим препаратом 2-го покоління). На підставі результатів досліджень запропоновано схему передачі електронного збудження в даному препараті. Зроблені висновки щодо впливу наявності металів на фотостабільність ДНК та їх токсичний вплив на ДНК.

Ключові слова: ДНК, іони металів, спектроскопія, поглинання, люмінесценція, флюоресценція, фосфоресценція.

АННОТАЦІЯ

Гринь Д.В. Спектральные проявления взаимодействия ДНК с ионами металлов. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.05 – оптика, лазерная физика. – Киевский национальный университет имени Тараса Шевченка, Министерство образования и науки Украины, Киев, 2021.

В работе исследованы и проанализированы спектральные проявления взаимодействия ионов металлов Co, Ni, Fe, Mg, Ag, Pt с ДНК в оптическом диапазоне энергий (ультрафиолетовый и видимый диапазон). Изучены спектры оптического поглощения, флюоресценции, фосфоресценции, возбуждения фосфоресценции макромолекулы ДНК, а также лекарственных препаратов на их основе.

Показано что возмущающее влияние ионов кобальта и никеля (аналогично как и ионов железа и магния, исследованных в предыдущих работах) на спин-орбитальное взаимодействие в π -электронных системах оснований ДНК незначительно, что проявляется в отсутствии заметных проявлений эффекта «тяжелого атома» как в оптических свойствах, так и в экспериментах по фотодеградации указанных систем. На основе этого сделан вывод, что ионы Co и Ni (исследованы в данной работе) и Fe и Mg (исследованы в предыдущих работах) связываются с фосфорными группами на периферии макромолекулы ДНК. В то же время, основания ДНК со связанными с ними ионами этих металлов, играют роль ловушек для мигрирующих в макромолекуле ДНК триплетных возбуждений, что проявляется в существенном тушении фосфоресценции ДНК в присутствии ионов Co и Ni. Полученная в работе длина

пробега триплетного возбуждения составляет примерно 50 Å (18-20 пар оснований ДНК), что совпадает с оценкой этой величины, полученной в предыдущих работах.

В отличие от ионов Co, Ni, Fe, Mg ионы серебра значительно (в сотни раз) повышают интенсивность фосфоресценции ДНК и проявляют аденин-подобную структуру, что объясняется проникновением (интеркаляцией) этих ионов в пространство между основаниями ДНК.

Из анализа изменения спектра фосфоресценции показано, что взаимодействие с ионами серебра происходит в три этапа, на первом этапе, при малой концентрации ионов серебра, в спектрах наблюдаются эффекты, аналогичные зафиксированным в системах ДНК-кобальт, ДНК-никель, а именно уменьшение интенсивности одновременно и флюо- и фосфоресценции, а значит, ионы серебра при малых концентрациях взаимодействуют с внешней стороной фосфорных групп на периферии макромолекулы ДНК. При дальнейшем увеличении концентрации ионов серебра наблюдается дальнейшее уменьшение интенсивности флюоресценции, но в то же время интенсивность фосфоресценции ДНК значительно возрастает. Это может быть связано с проникновением ионов серебра в борозенку и, за счет близкого расстояния с π -электронными системами, их возмущение. При дальнейшем увеличении количества ионов серебра, интенсивность продолжает расти, но наблюдается появление структуры связанной с аддитивным вкладом фосфоресценции адениновой основы ДНК. Это может быть связано с тем, что ионы серебра проникают непосредственно в промежуток между основаниями макромолекулы ДНК и такое проникновение приводит к значительному возмущению спин-орбитального взаимодействия π -электронов оснований ДНК и таким образом проявляется эффект «тяжелого атома».

Прикладная часть работы связана с исследованием влияния цисплатина (соединения на основе платины, само по себе являющееся антираковым лекарственным препаратом первого поколения) на спектральные свойства ДНК; спектральных свойств и фотодеградация лекарственного препарата Полиплатилен (представляющий собой комплекс ДНК с цисплатином - антираковым препаратом 2-го поколения). Несмотря на то, что цисплатин не проникает в промежуток между базами макромолекулы ДНК, влияние на спин-орбитальное взаимодействие π -электронов баз ДНК значительное. Исследованы отдельные компоненты лекарственного препарата Полиплатилен и на основании результатов данных исследований предложена схема передачи электронного возбуждения в данном лекарственном препарате. Сделанные выводы о влиянии наличия металлов на фотостабильность ДНК и их токсическое воздействие на ДНК.

Ключевые слова: ДНК, ионы металлов, спектроскопия, поглощение, люминесценция, флюоресценция, фосфоресценция,

ABSTRACT

Gryn D.V. Spectral manifestations of DNA-metal interaction. – Manuscript.

Thesis for the Candidate of science in Physics and Mathematics in specialty 01.04.05 – Optics, physics of lasers. Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2021.

The spectral manifestations of the interaction between metal ions Co, Ni, Fe, Mg, Ag, Pt and DNA in the optical energy range (ultraviolet and visible range) were investigated and analyzed. The spectra of optical absorption, fluorescence, phosphorescence, phosphorescence excitation of the DNA macromolecule, DNA-metal solutions and drugs based on them were studied.

It is shown that the disturbing effect of cobalt and nickel ions (as well as iron and magnesium ions studied in previous works) on the spin-orbit interaction in π -electronic systems of DNA bases is insignificant, which is manifested in the absence of noticeable effects of "heavy atom" on DNA spectral properties. The experiments on photodegradation of these systems were performed. Based on obtained results, it is concluded that Co and Ni ions (studied in this work) and Fe and Mg (studied in previous works) binds to phosphorus groups on the periphery of the DNA macromolecule. At the same time, DNA with associated ions of these metals, play the role of traps for migrating triplet excitations in the DNA macromolecule, which is shown by the quenching of DNA phosphorescence with presence of Co and Ni ions. The length of triplet excitation obtained in the work is approximately 50 Å (18-20 pairs of DNA bases), which coincides with the estimate of this value obtained in previous works.

Unlike Co, Ni, Fe, Mg ions, the silver ions significantly (hundreds of times) increase the intensity of DNA phosphorescence and reveal an adenine-like structure in it, which is explained by the ability of penetration these ions into the space between the DNA bases. Such penetration leads to a significant perturbation of the spin-orbit interaction of the π -electrons of the DNA bases and to the influence of the "heavy atom" effect.

The applied part of the work is related to the study of the effect of cisplatin (a platinum-based compound that is a first-generation anticancer drug) on the spectral properties of DNA; spectral properties and photodegradation effects of the existing drug "Polyplatylene" (a complex of DNA with cisplatin - anticancer drug, which is second-generation drug). Based on the results of research, a scheme of electron excitation transmission in this drug is proposed, and conclusions were made on the influence of the presence of metals to the photostability of DNA and their toxic effect on DNA.

Keywords: DNA, metal ions, spectroscopy, absorbtion, luminescence, fluorescence, phosphorescence.