



Original article

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-08>

УДК 577.359

СПЕКТРАЛЬНЫЕ И СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ БИОКОМПОЗИТНЫХ ПЛЕНОК ОКСИДА ГРАФЕНА И ДИСУЛЬФИДА МОЛИБДЕНА С МОЛЕКУЛАМИ 5-БРОМУРАЦИЛА И 5-БРОМ-2'-ДЕЗОКСИУРИДИНА

Ю.В. Рубин, А.Ю. Иванов, Л.Ф. Белоус, В.А. Карачевцев

Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б.І. Веркіна Національної академії наук України, просп. Науки, 47, Харків, 61103, Україна

e-mail: rubin@ilt.kharkov.ua

Поступила в редакцію 19 февраля 2020 г.

Принята 6 мая 2020 г.

Актуальность. В последнее время композитные материалы на основе наночастиц и биологических молекул интенсивно исследуются благодаря уникальным физико-химическим и биофизическим свойствам и перспективам применения в различных областях технологий, техники и медицины. Многие лаборатории проводят эксперименты с композитными материалами на основе углеродных наночастиц и различных 2D-наноматериалов с целью создания на их основе чувствительных биосенсоров, разработки новых функциональных материалов для биологии и медицины. Широкий спектр практических применений требует фундаментальных знаний о структуре созданных композитов, энергии взаимодействия между компонентами и их спектральных характеристиках.

Цель работы. Целью работы является исследование структурных особенностей биокompозитных пленок оксида графена (GO) и дисульфида молибдена MoS₂ с молекулами 5-бром урацила (5BrU) и 5-бром-2'-дезоксинуридина (5BrdU) и получение информации о взаимодействии между их компонентами на основании данных инфракрасной Фурье спектроскопии и квантово-химических расчетов.

Материалы и методы. Для измерений использовался вакуумируемый инфракрасный Фурье спектрометр. Композитные пленки создавали капельным методом на основе оксида графена фирмы GRAPHENE, водной суспензии порошка дисульфида молибдена MoS₂, а также биомолекул 5BrU и 5BrdU. Для квантово-химических расчетов модельных структур использовалась программа Gaussian 09, а также программа Firefly 8.0, в которой частично использован код программы GAMESS (USA).

Результаты. Получены частоты и интенсивности инфракрасных полос поглощения биокompозитных пленок (5BrU/GO, 5BrU/MoS₂, 5BrdU/GO и 5BrdU/MoS₂) с разным количеством биомолекул. Проведено отнесение полос поглощения композитных пленок к соответствующим типам нормальных колебаний. Определены энергии взаимодействия в модельных структурах. Установлена аморфность (разупорядоченность) структуры кластеров 5BrU в композитах 5BrU/GO при низкой концентрации биомолекул. Показано, что композиты MoS₂ являются более неоднородными, чем композиты GO.

Выводы. Полоса поглощения колебаний νCO с частотой 1783 см⁻¹, а также полосы внеплоскостных деформационных колебаний γNH 5BrU чувствительны к структуре кластеров 5BrU в композитных пленках. Продемонстрировано, что в композитных пленках оксид графена влияет на конформационное равновесие 5BrdU. Установлено, что структуры со стэкингом между пиримидиновым кольцом нуклеозида и базальной плоскостью оксида графена являются наиболее энергетически выгодными.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: основания ДНК; нуклеозиды; графен; оксид графена; дисульфид молибдена; квантово-механические расчеты; ИК-Фурье спектроскопия.

СПЕКТРАЛЬНІ І СТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ БІОКОМПОЗИТНИХ ПЛІВОК ОКСИДУ ГРАФЕНУ І ДИСУЛЬФІДУ МОЛІБДЕНУ З МОЛЕКУЛАМИ 5-БРОМУРАЦИЛУ ТА 5-БРОМ-2'-ДЕЗОКСИУРИДИНУ

Ю.В. Рубін, О.Ю. Іванов, Л.Ф. Белоус, В.О. Карачевцев

Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б.І. Веркіна Національної академії наук України, просп. Науки 47, Харків, 61103, Україна

Актуальність. Останнім часом композитні матеріали на основі наночастинок і біологічних молекул інтенсивно досліджуються завдяки унікальним фізико-хімічним і біофізичними властивостями і перспективам застосування в різних областях технологій, техніки і медицини. Багато лабораторій проводять експерименти з композитними матеріалами на основі вуглецевих наночастинок і різних 2D-наноматеріалів з метою створення на їх основі чутливих біосенсорів, розробки нових функціональних матеріалів для біології та медицини. Широкий спектр практичних застосувань вимагає фундаментальних знань про структуру створених композитів, енергії взаємодії між компонентами та їх спектральні характеристики.

Мета роботи. Метою роботи було дослідження структурних особливостей біокомпозитних плівок оксиду графену (GO) и дисульфиду молибдену MoS_2 з молекулами 5-бромурацила (5BrU) і 5-бром-2'-дезоксиридина (5BrdU) і отримання інформації про взаємодію між їх компонентами на підставі даних інфрачервоної Фур'є спектроскопії та квантово-хімічних розрахунків.

Матеріали та методи. Для вимірювань використовувався вакуумуємий інфрачервоний Фур'є-спектрометр. Композитні плівки створювалися крапельним методом на основі оксиду графену фірми GRAPHENEА, водної суспензії порошку дисульфиду молибдену MoS_2 , а також біомолекул 5BrU і 5BrdU. Для квантово-хімічних розрахунків модельних структур була задіяна програма Gaussian 09, а також програма Firefly 8.0, в якій частково використаний код програми GAMESS (USA).

Результати. Отримано частоти та інтенсивності інфрачервоних смуг поглинання біокомпозитних плівок (5BrU/GO, 5BrU/ MoS_2 , 5BrdU/GO і 5BrdU/ MoS_2) з різною кількістю біомолекул. Проведено віднесення смуг поглинання композитних плівок до відповідних типів нормальних коливань. Визначено енергії взаємодії в модельних структурах. Встановлено аморфність (розупорядкованість) структури кластерів 5BrU в композитах 5BrU/GO при низькій концентрації біомолекул. Показано, що композити MoS_2 є більш неоднорідними, ніж композити GO.

Висновки. Смуга поглинання коливань ν_{CO} з частотою 1783 cm^{-1} , а також смуги позаплощинних деформаційних коливань γ_{NH} 5BrU чутливі до структури кластерів 5BrU в композитних плівках. Продемонстровано, що в композитних плівках оксид графену впливає на конформаційну рівновагу 5BrdU. Встановлено, що структури зі стекінгом між піримідиновим кільцем нуклеозиду і базальною площиною оксиду графену є найбільш енергетично вигідними.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: основи ДНК; нуклеозиди; графен; оксид графену; дисульфід молибдену; квантово-механічні розрахунки; ІЧ-Фур'є спектроскопія.

SPECTRAL AND STRUCTURAL FEATURES OF BIO-COMPOSITE FILMS OF GRAPHENE OXIDE AND MOLYBDENUM DISULPHIDE WITH MOLECULES OF 5-BROMOURACYL AND 5-BROMO-2'-DEOXYURIDINE

Yu.V. Rubin, A.Yu. Ivanov, L.F. Belous, V.A. Karachevtsev

*B. Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine,
47 Nauky Avenue, Kharkiv, 61103, Ukraine*

Background: Recently, composite materials based on nanoparticles and biological molecules have been intensively studied due to the unique physicochemical and biophysical properties and prospects of application in various fields of technology, engineering and medicine. Many laboratories conduct experiments with composite materials based on carbon nanoparticles and various 2D nanomaterials in order to create sensitive biosensors based on them, to develop new functional materials for biology and medicine. A wide range of practical applications requires fundamental knowledge about the structure of the created composites, the interaction energy between the components and their spectral characteristics.

Objectives: The purpose of the work was to study the structural features of biocomposite films of graphene oxide (GO) and molybdenum disulfide MoS_2 with 5-bromouracil (5BrU) and 5-bromo-2'-deoxyuridine (5BrdU) and to obtain information on the interaction between their components based on data from the infrared Fourier spectroscopy and quantum chemical calculations.

Materials and methods: For the measurements, a vacuum infrared Fourier spectrometer was used. The composite films were created by the drop casting method based on graphene oxide from GRAPHENEА, an aqueous suspension of MoS_2 molybdenum disulfide powder, as well as 5BrU and 5BrdU biomolecules. For the quantum-chemical calculations of model structures the Gaussian 09 and the Firefly 8.0 programs were used. In last one the GAMESS (USA) program code was partially used.

Results: The frequencies and intensities of infrared absorption bands of the biocomposite films (5BrU/GO, 5BrU/ MoS_2 , 5BrdU/GO and 5BrdU/ MoS_2) with different numbers of biomolecules were obtained. The absorption bands of composite films are assigned to the corresponding types of normal

vibrations. The interaction energies in model structures are determined. The amorphous (disordered) structure of 5BrU clusters in 5BrU/GO composites at a low concentration of biomolecules has been established. It is shown that the MoS₂ composites are more heterogeneous than the GO composites.

Conclusions: The absorption band of CO vibrations with a frequency of 1783 cm⁻¹ as well as the bands of the out-of-plane deformation vibrations γ_{NH} of 5BrU are sensitive to the structure of 5BrU clusters in composite films. It has been demonstrated that graphene oxide in the composite films affects the conformational equilibrium of 5BrdU. It has been established that structures with stacking between the pyrimidine ring of a nucleoside and the basal plane of graphene oxide are the most energetically favorable.

KEY WORDS: DNA bases; nucleosides; graphene; graphene oxide; molybdenum disulfide; quantum mechanical calculations; infrared Fourier-transform spectroscopy.

Наноматериалы на основе графена и графеноподобных 2D-материалов, а также биокomпозитные материалы на их основе представляют большой интерес для различных областей современной науки и техники. Проводятся интенсивные исследования углеродных наноматериалов — нанотрубки, графен и оксид графена (GO) — для создания биосенсоров, разработки новых агентов для методов фототермальной терапии, доставки лекарств, секвенирования ДНК и т.д. [1, 2]. Новый импульс получили исследования таких широко известных дихалькогенидов, как дисульфид молибдена (MoS₂) [3, 4]. Перспективным компонентом бионанокomпозитных материалов может быть ряд галогенпроизводных азотистых оснований ДНК/РНК. Эти биологически активные молекулы демонстрируют широкий спектр биофизических эффектов [5–8]. Например, все 5-галогенпроизводные урацила способны замещать тимин в молекулах ДНК, и это широко применяют в различных исследованиях. Так, благодаря эффективному ингибированию синтеза тимина 5-фторурацил (5FU) используют как противораковый препарат. 5Cl-, 5I- и 5Br-урацил используют в исследованиях процессов мутагенеза [6] и радиационного повреждения ДНК [7]. Кроме того, 5-бром урацил (5BrU) интересен для создания фоточувствительных электронных наноустройств на основе ДНК [8].

Известно, что даже незначительная модификация азотистого основания или фуранозного кольца может оказать существенное влияние на конформационную структуру и биологические функции нуклеозида. Например, такой модифицированный нуклеозид, как 5Br-2'-дезоксинуридин (5BrdU) может конкурировать с тимидином за включение в состав ДНК, что приводит к мутациям в ДНК и подавлению пролиферации клеток. Благодаря такой биологической активности этот нуклеозид используют, как во врачебной практике, так и в биомедицинских исследованиях. Также молекулы 5BrdU демонстрируют радиосенсибилизирующий эффект, подавляя восстановление радиационно-индуцированных разрывов в двухцепочечной ДНК. Создание композитной структуры нуклеозида с наночастицей может быть одним из путей реализации управления биологической активностью нуклеозида. Поэтому, изучение взаимодействия галогенпроизводных урацила с наночастицами представляет интерес для создания композитных наноструктур с различными биотехнологическими и биомедицинскими функциями. Исходя из опыта наших предыдущих исследований композитных пленок [9–11], в качестве объектов данного исследования были выбраны биокomпозитные пленки: 5BrU/GO, 5BrU/MoS₂, 5BrdU/GO и 5BrdU/MoS₂.

Целью работы является исследование структурных особенностей биокomпозитных пленок и получение информации о взаимодействии между их компонентами на основании данных инфракрасной Фурье спектроскопии и квантово-химических расчетов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Измерения инфракрасных Фурье спектров проводились на установке для спектроскопии низкотемпературной матричной изоляции. Особенности этой спектральной установки рассмотрены в ряде наших предыдущих работ [12–15]. Для создания композитов был использован GO фирмы GRAPHENEA (Spain) в виде водного коллоидного раствора с концентрацией около 2 мг/мл, а также порошок MoS₂ (Sigma-Aldrich Europe), обработанный ультразвуковым диспергатором УЗДН в коллоидном растворе с такой же концентрацией. Вещества 5BrU и 5BrdU были приобретены у компании Sigma-Aldrich Europe. Композитные пленки получали из смеси растворов отдельных компонентов с последующим нанесением на зеркала оптического блока криостата капельным методом. Перед нанесением применялась ультразвуковая обработка в промежуточной емкости в стандартной очистной ультразвуковой ванне (digital ultrasonic cleaner или DUC). Высушивание капель диаметром около 12 мм проводилось при температуре 30–40°C. После нанесения пленок зеркала помещались в вакуумную камеру криостата, которая откачивалась до форвакуума. ИК-Фурье спектры измерялись в оптической схеме «на отражение» [10] в диапазоне 2700–500 см⁻¹ с аподизированным разрешением 3,0 см⁻¹.

Кроме того, для отнесения полос поглощения в спектрах пленок были также получены спектры молекул 5BrU, изолированных в матрице Ag. Для формирования матрицы молекулярные потоки вещества и инертного газа одновременно осаждались на плоском медном зеркале при температуре 10 К. Процесс осаждения молекулярных потоков контролировался с помощью низкотемпературных кварцевых микровесов [15]. Аппроксимации полос поглощения экспериментальных спектров функциями Гаусса или Лоренца, для оценки их интегральных интенсивностей, выполнялась с помощью программы “Fityk” [16].

Для квантово-химических расчетов модельных структур использовалась программа Gaussian 09 [17], а также программа Firefly (версия 8.0) [18], в которой частично использован код программы GAMESS (USA) [19]. Расчеты выполнялись на объединенном грид-кластере Института монокристаллов и Института сцинтилляционных материалов НАН Украины, грид-кластере ФТИНТ им. Б.И. Веркина НАН Украины, а также с помощью польской грид-инфраструктуры PLGrid Plus (VO Gaussian, интерфейс QCG-Now).

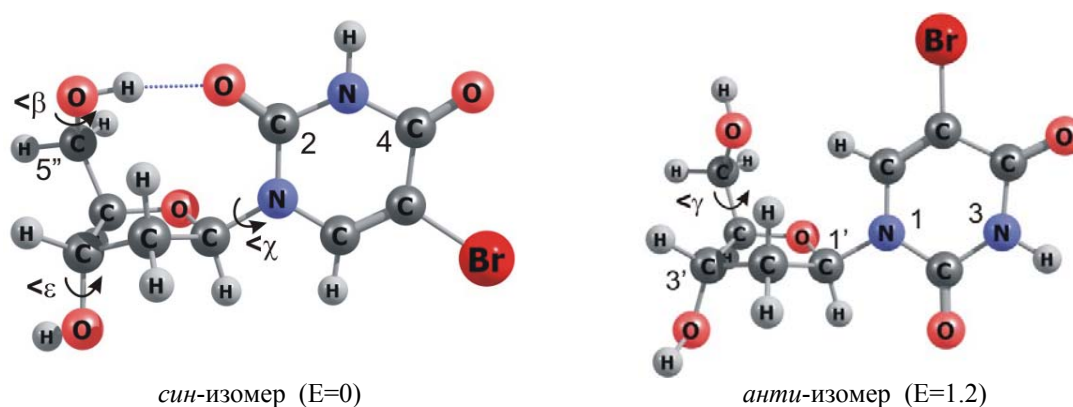


Рис. 1. Нумерация атомов, торсионные углы и наиболее стабильные структуры основных син- и анти-конформационных изомеров 5BrdU с обозначением в скобках относительных энергий E (ккал/моль), рассчитанных методом MP2/6-311++G (df, pd).

Оптимизация молекулярных структур 5BrU, 5BrdU (Рис. 1) и GO проводилась методом теории функционала плотности DFT/B3LYP с различными базисными

наборами: от 6-31G(d) до 6-311++G(df,pd). Базис 6-31G(d) использовался для фрагмента GO. Энергия взаимодействия между 5BrU и GO, а также между 5BrdU и GO рассчитывалась с BSSE коррекцией. Также для всех расчетов модельных структур с оксидом графена использовалась эмпирическая дисперсионная коррекция D3(BJ) [20].

Для 5BrU мы рассматривали только дикето-форму, как доминирующую структуру для изолированного состояния молекулы [21]. Расчеты показали, что относительные энергии и заселенность конформационных изомеров 5BrdU достаточно близки к параметрам аналогичных изомеров, рассмотренных нами для 2'-дезоксидеуридина и тимидина [13, 14, 22]. Наиболее характерные представители *син*- и *анти*-подмножеств конформационных изомеров 5BrdU показаны на Рис. 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнение спектров 5BrU в Ag матрице и композитной пленке демонстрирует сильное уширение полос поглощения, а также сильный сдвиг частот (Рис. 2), тем не менее, надежное отнесение полос поглощения в пленке возможно. В диапазоне 1800–1000 см^{-1} находятся полосы поглощения валентных колебаний νCO , пиримидинового кольца и плоскостных деформационных колебаний (Рис. 2).

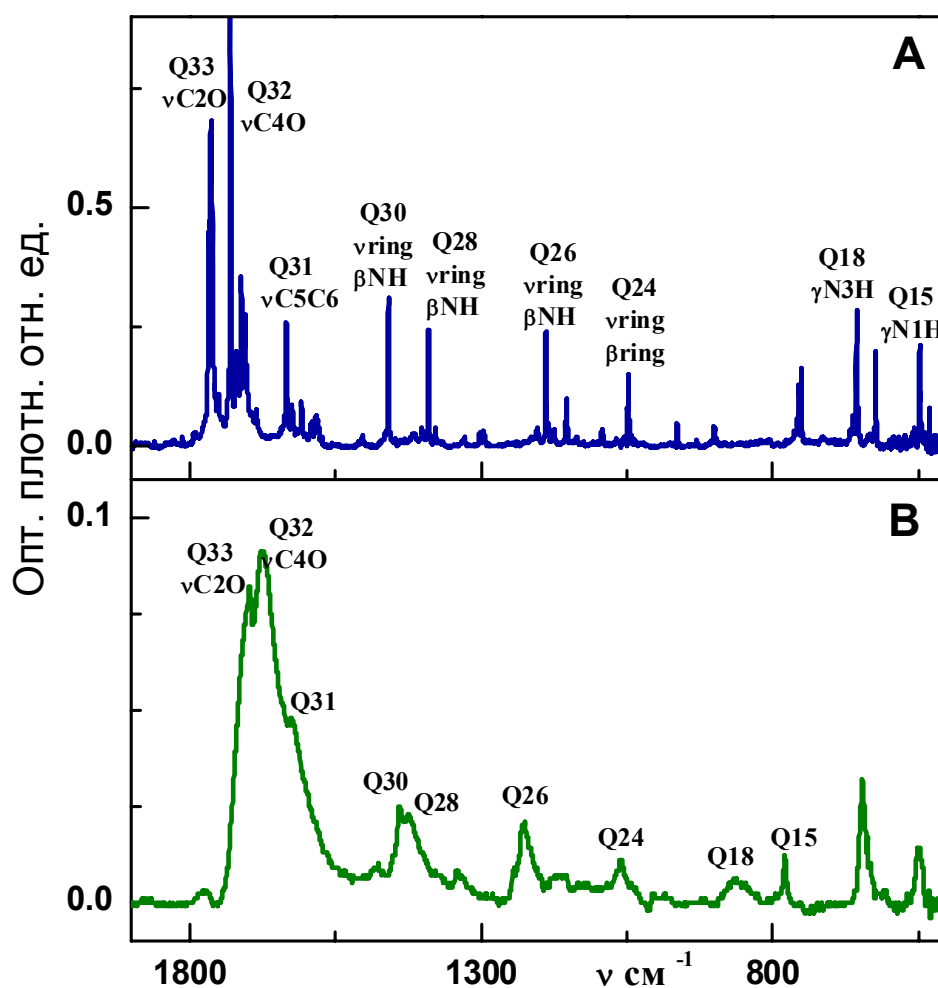


Рис. 2. Сравнение ИК-Фурье спектров молекул 5BrU в различном окружении в “fingerprint” области 1900–500 см^{-1} : А — Ag матрица при 10K; В — композитная пленка 5BrU/GO с плотностью 5BrU $50 \cdot 10^{-6} \text{ г/см}^2$. Из спектра композитной пленки вычтен спектр контрольной пленки GO (плотность $100 \cdot 10^{-6} \text{ г/см}^2$).

При образовании межмолекулярных водородных связей в пленке частоты полос валентных колебаний νCO смещаются в низкочастотную область (Рис. 2). Частота валентного колебания кольца $\nu(\text{C5}=\text{C6})$ практически не меняется (Рис. 2). Частоты большинства остальных интенсивных полос поглощения в этой области незначительно смещаются в высокочастотную область (Рис. 2). Результаты отнесения полос совпадают с данными, полученными ранее для пленок 5-хлорурацила (5ClU) [11].

Можно предположить, что частоты плоскостных деформационных колебаний низкочастотного диапазона ($<1000\text{ см}^{-1}$) также будут изменяться незначительно. Однако, в этом диапазоне находятся полосы поглощения внеплоскостных колебаний экзоциклических групп пиримидиновых оснований [11, 12]. Из литературных данных известно, что при образовании сетки водородных связей в кристаллической структуре урацила наблюдается увеличение частот полос поглощения внеплоскостных колебаний γN1H , γN3H на $200\text{--}250\text{ см}^{-1}$ [23]. Расчеты и эксперименты в инертных матрицах показывают, что для изолированных молекул урацила, 5ClU и 5BrU частоты колебаний γNH отличаются незначительно. По аналогии с урацилом, на основании данных для поликристаллических образцов урацила [23] и 5ClU [11], широкую полосу поглощения 5BrU с частотой около 867 см^{-1} в композитной пленке мы отнесли к колебанию Q18(γN3H), а полосу с частотой 780 см^{-1} к Q15(γN1H). Отнесение γNH было также подтверждено результатом расчета колебательного спектра модельной структуры с димером 5BrU (см. ниже Рис. 6).

Расчеты показывают, что энергия стэкинг взаимодействия между 5BrU и фрагментом лепестка GO находится на уровне 18 ккал/моль (Рис. 3 А). Эта величина значительно выше энергии стэкинга в димерах 5BrU и других пиримидиновых оснований [24]. Если 5BrU образует межмолекулярную водородную связь с эпокси-группой оксида графена, то энергия взаимодействия возрастает до 22 ккал/моль (Рис. 3 Б).

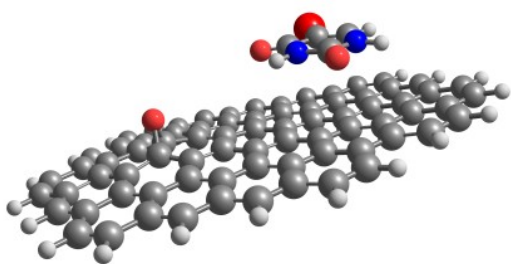


Рис. 3 А. Структура модельного кластера 5BrU/GO без межмолекулярной водородной связи NH ... O и энергией взаимодействия E (стэкинг) = $-18,5$ ккал/моль.

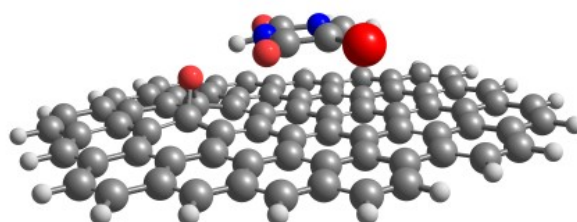


Рис. 3 Б. Структура модельного кластера 5BrU/GO с межмолекулярной водородной связью NH ... O и энергией взаимодействия E (полная) = $-22,6$ ккал/моль.

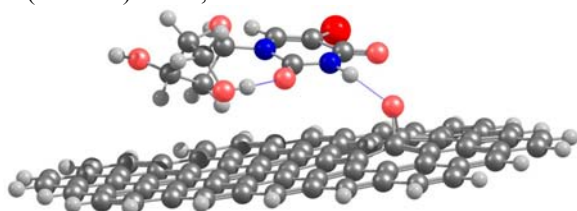


Рис. 3 В. Структура модельного кластера 5BrdU/GO с *син*-конформацией нуклеозида и энергией взаимодействия E (полная) = $-25,4$ ккал/моль.

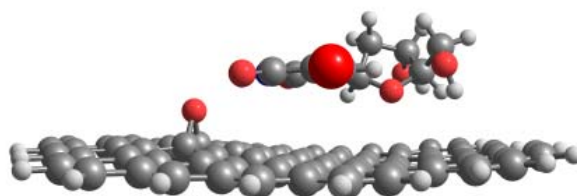


Рис. 3 Г. Структура модельного кластера 5BrdU/GO с *анти*-конформацией нуклеозида и энергией взаимодействия E (полная) = $-31,4$ ккал/моль.

Можно предположить, что взаимодействие с эпокси-группами будет существенно влиять на ассоциацию молекул 5BrU в композитных пленках. Для анализа этого влияния были получены спектры композитных пленок 5BrU/GO с разной концентрацией молекул 5BrU (Рис. 4). В спектре пленки с самой большой концентрацией 5BrU часть полос поглощения имеет асимметричную форму (Рис. 4 А). Асимметрию может вызывать отражение инфракрасного излучения от достаточно больших микрокристаллов 5BrU, образовавшихся в композитной пленке в процессе высыхания. При уменьшении концентрации молекул 5BrU асимметрия полос практически исчезает (Рис. 4 Б). Также уменьшается интенсивность полос поглощения, но, не пропорционально концентрации. Это говорит об уменьшении размеров кластеров 5BrU и их более равномерном распределении в композитной пленке. Соответственно возрастает влияние эпокси-групп на структуру кластеров 5BrU. Можно предположить, что стохастический разброс эпокси-групп по поверхности графена приведет к большому числу вариантов структуры кластеров 5BrU. При дальнейшем двукратном уменьшении концентрации молекул 5BrU в экспериментальном спектре наблюдается уширение полос поглощения деформационных колебаний и снижении их пиковой интенсивности, особенно для полос с частотами меньше 1000 см^{-1} (Рис. 4 В). Полоса поглощения колебания Q18 практически исчезает, а пиковая интенсивность полосы колебания Q15 сильно уменьшается (Рис. 4 В).

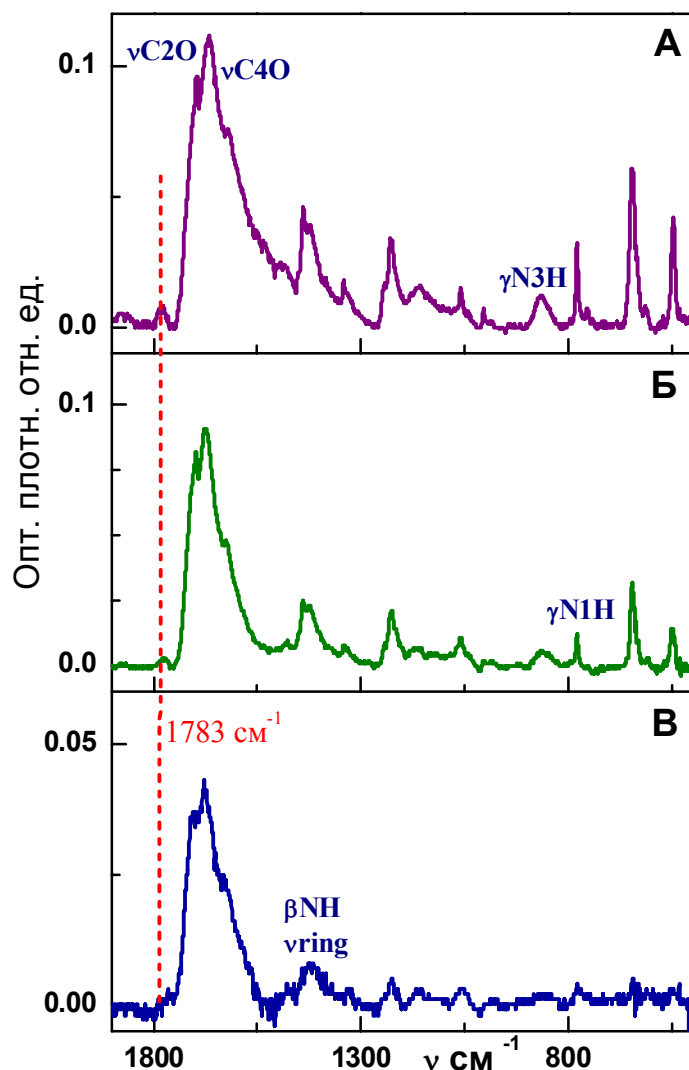


Рис. 4. ИК-Фурье спектры композитных пленок 5BrU/GO при различной плотности биомолекул в области $1900\text{--}500\text{ см}^{-1}$:

А — плотность 5BrU $50 \cdot 10^{-6}\text{ г/см}^2$;

Б — плотность 5BrU $25 \cdot 10^{-6}\text{ г/см}^2$;

В — плотность 5BrU $12 \cdot 10^{-6}\text{ г/см}^2$.

Из спектров композитных пленок вычтен спектр контрольной пленки GO (плотность $100 \cdot 10^{-6}\text{ г/см}^2$).

Ранее, с помощью спектров пленок 5CIU, полученных осаждением на зеркало с температурой 10 К [11], было показано, что подобные спектральные изменения являются признаками аморфной (с неупорядоченным расположением молекул) структуры кластеров. В спектрах композитов 5BrU/GO эти изменения проявляются заметнее, чем в спектрах композитов 5CIU/GO [11]. Как и для 5CIU, хорошим показателем кристалличности структуры кластеров 5BrU в композите является полоса поглощения с частотой 1783 см^{-1} . Эта полоса была четко видна не только в спектрах поликристаллических пленок 5CIU, но и в спектрах композитных пленок 5CIU/GO с высокой концентрацией 5CIU [11]. По мере уменьшения концентрации 5BrU полоса с частотой 1783 см^{-1} практически исчезает из спектра (Рис. 4 А, В). Необходимо отметить отсутствие полосы с частотой 1783 см^{-1} в спектрах пленок 5BrdU/GO (Рис. 5).

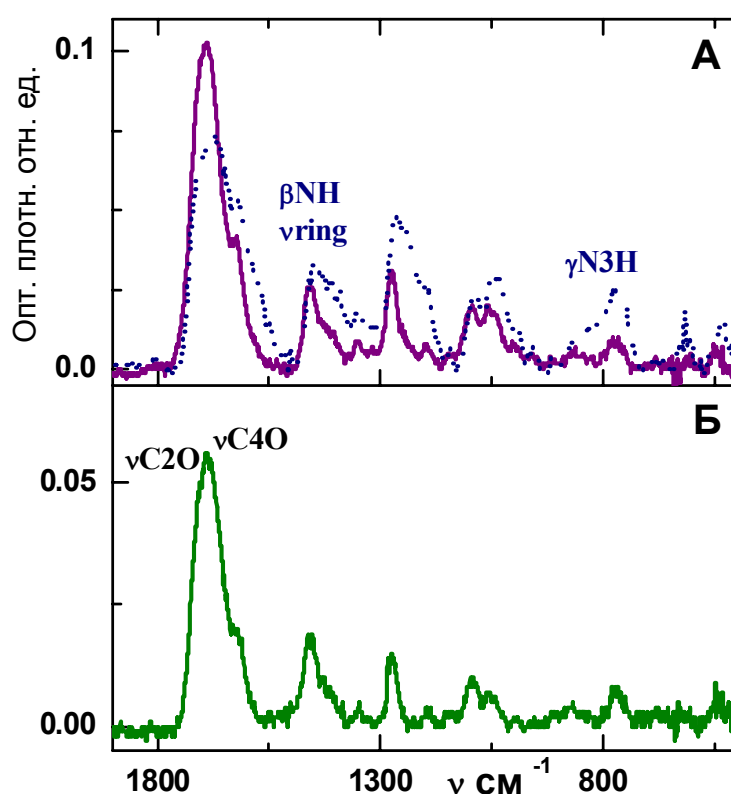


Рис. 5. ИК-Фурье спектры композитных пленок 5BrdU/GO при различной плотности биомолекул в области $1900\text{--}500\text{ см}^{-1}$: А — плотность 5BrdU $100\cdot 10^{-6}\text{ г/см}^2$; Б — плотность 5BrdU $50\cdot 10^{-6}\text{ г/см}^2$; пунктир — пленка 5BrdU на зеркале. Из спектров композитных пленок вычтен спектр контрольной пленки GO (плотность $100\cdot 10^{-6}\text{ г/см}^2$).

Замена основания на нуклеозид приводит к некоторым изменениям в инфракрасных спектрах пленок 5BrdU/GO. Если ширина полос почти не изменяется в области $1800\text{--}1300\text{ см}^{-1}$, то в диапазоне $1300\text{--}500\text{ см}^{-1}$ полосы поглощения немного шире, чем в композитных пленках 5BrU/GO (Рис. 5). Уширение полос можно объяснить наличием полос поглощения деформационных колебаний дезоксирибозного кольца в спектре нуклеозидного композита. В тоже время, полосы поглощения в пленке чистого нуклеозида 5BrdU оказываются заметно шире полос в спектре композита 5BrdU/GO (Рис. 5 А) во всем диапазоне $1800\text{--}1300\text{ см}^{-1}$. На возможную причину этого эффекта указывают результаты расчетов модельных структур (Рис. 3 В, Г). Расчеты показывают, что структуры со стэкинг- (или $\pi\text{-}\pi$ -) взаимодействием между пиримидиновым кольцом нуклеозида и базальной плоскостью GO значительно

выгоднее энергетически (Рис. 3 Г). Это, несомненно, сужает конформационное многообразие 5BrdU в композитной пленке и соответственно уменьшает ширину полос поглощения. Возможно, такая энергетика стэкинг-взаимодействия также приводит к доминированию стэкинг-комплексов 5BrdU/GO по сравнению с 5BrU/GO.

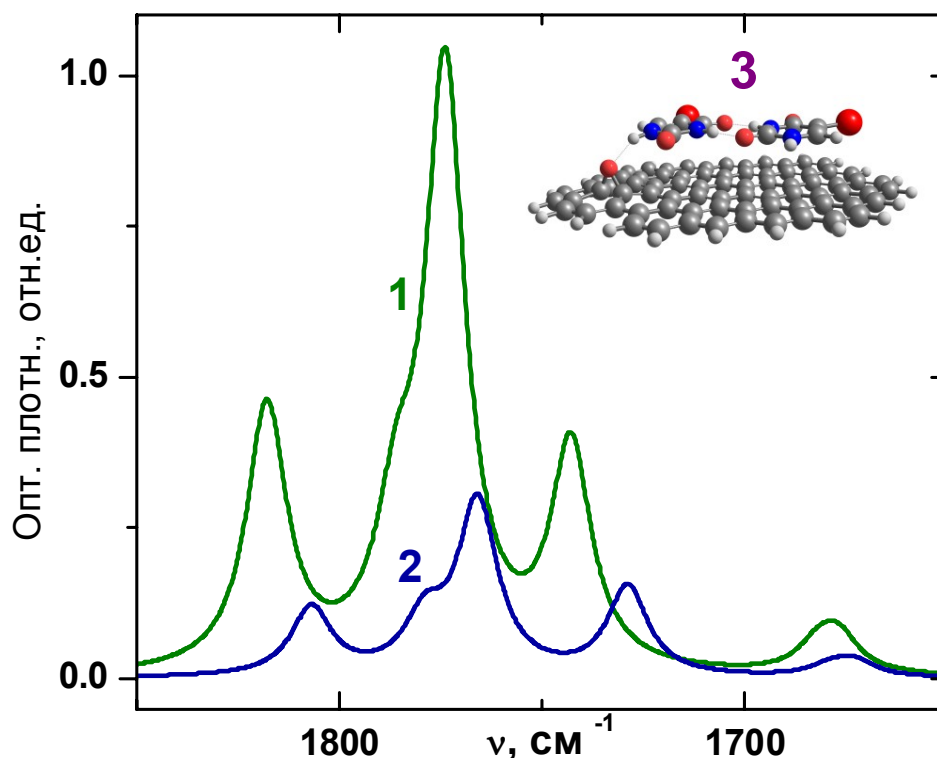


Рис. 6. Сравнение инфракрасных колебательных спектров модельных структур, рассчитанных методом DFT/B3LYP/6-31+G(d) в области 1850–1650 см^{-1} : 1 — димер 5BrU; 2 — комплекс димер 5BrU/GO; 3 — структура модельного комплекса.

Основанием для такой гипотезы является снижение интенсивности полос поглощения ν_{CO} в экспериментальных спектрах 5BrdU/GO (Рис. 5 Б) по сравнению 5BrU/GO (Рис. 4 Б). Поглощение в спектре пленки 5BrdU/GO меньше, несмотря на то, что молекул 5BrdU на 25% больше, чем молекул 5BrU в пленке 5BrU/GO (с учетом концентрации и молекулярного веса). Причиной этого снижения интенсивности, согласно данным расчетов, может быть большой гипохромный эффект (Рис. 6, кривая 2) для валентных колебаний пиримидинового кольца в модельной стэкинг-структуре (Рис. 6, структура 3).

Существенные отличия от GO при взаимодействии с биомолекулами можно ожидать от дисульфида молибдена. Но вначале рассмотрим подробнее метод капельного осаждения пленок. Известно, что при капельном осаждении пленок часто появляется особенность в виде кольцевого утолщения на краю пленки. Такое кольцевое утолщение (или "coffee ring") присуще многим пленкам, полученным капельным испарением коллоидного раствора [25, 26]. Эффект "coffee ring" вызывают потоки жидкости от центра к краю капли, обусловленные испарением жидкости и пиннингом, или, другими словами, фиксацией границы раздела фаз. При пиннинге площадь контакта капли с подложкой остается постоянной, а краевой угол капли постоянно уменьшается в процессе испарения. В результате градиенты концентрации изучаемого вещества в пленке резко усложняют количественные спектральные измерения.

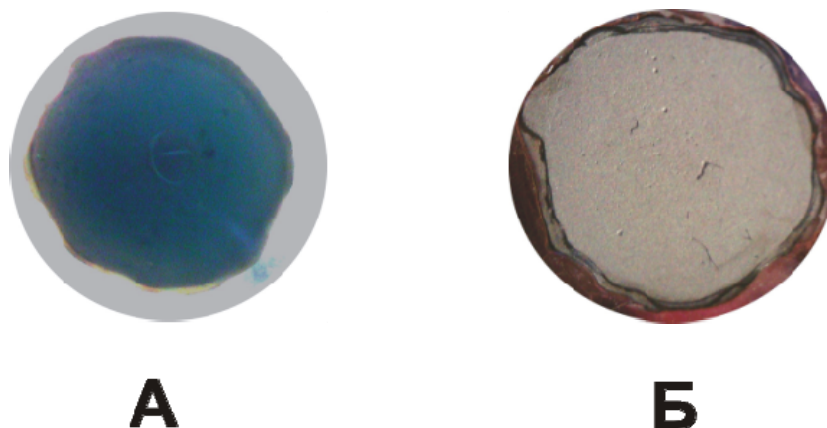


Рис. 7. Изображение композитной пленки 5BrU/GO (А) и композитной пленки 5BrU/MoS₂ (Б), которые были нанесены капельным методом на зеркала. Пленка Б демонстрирует кольцеобразный осадок ("coffee ring"), обусловленный пиннингом границы раздела фаз при высыхании.

Образцы 5BrU/GO демонстрируют практическое отсутствие "coffee ring", и соответственно возможность количественных измерений (Рис. 7 А). Но для образцов композитных пленок 5BrU/MoS₂ (а также 5BrdU/MoS₂) эффект "coffee ring" является более выраженным (Рис. 7 Б).

Кроме этого эффекта, у MoS₂ есть особенности, которые могут повлиять на межмолекулярные взаимодействия в композитной пленке. Поскольку уже длительное время исследуют сенсорные возможности MoS₂, было проведено немало расчетов энергетического взаимодействия многих молекул с этими наночастицами. Как показывают литературные данные [27], энергии взаимодействия между основаниями ДНК и базальной плоскостью лепестков MoS₂ находятся в диапазоне 16–25 ккал/моль и практически близки к энергиям взаимодействия с GO. Но эти энергии значительно вырастают при адсорбции на активные сайты атомов Mo, доступные на боковых гранях нанолепестков. Так, хемосорбция молекул NO₂ и CO на лепестки MoS₂ доказана экспериментально. При адсорбции молекул CO, частота валентного колебания этой молекулы уменьшается с 2143 см⁻¹ (газовая фаза) до 2135 см⁻¹ (адсорбция на базальную плоскость) и далее до 2100 см⁻¹, и даже до 2070 см⁻¹ при хемосорбции [28]. С учетом этих данных, было проведено сравнение ИК-спектров композитных пленок MoS₂ с разной суммарной площадью базальной поверхности, со спектрами композитов GO (Рис. 8).

Если суммарная площадь базальной поверхности нанолепестков MoS₂ достаточно большая (для достижения этого проводили 30 минутное интенсивное ультразвуковое измельчение на УЗДН), то в спектре композита 5BrdU/MoS₂ видны четкие полосы поглощения 5BrdU (Рис. 8 А). Частоты этих полос достаточно хорошо согласуются со спектром 5BrdU/GO, но интенсивности значительно меньше (Рис. 8 А, кривые 1 и 2). Снижение интенсивности можно объяснить меньшей адсорбционной емкостью MoS₂ по сравнению с GO, и выводом «лишних» молекул 5BrdU с помощью эффекта "coffee ring" на границу композитной пленки. В то же время, по сравнению со спектром 5BrdU/GO, можно увидеть некоторое относительное увеличение интенсивности поглощения спектральных полос с частотами 1580 см⁻¹, 1245 см⁻¹ и 1040 см⁻¹ (Рис. 8 А, кривые 1 и 2). Для получения композитов с уменьшенной площадью базальной поверхности проводилась обработка суспензии MoS₂ малоинтенсивным ультразвуком с помощью DUC в течение 30 минут. Учитывая вышесказанное, дальнейшее уменьшение площади базальной поверхности MoS₂ должно приводить к снижению адсорбционной

емкости MoS_2 и соответственно интенсивности FTIR спектра. Действительно, в таких композитах резко уменьшается интенсивность полос поглощения, но при этом выделяются новые полосы поглощения с частотами 1580 см^{-1} , 1245 см^{-1} и 1040 см^{-1} (Рис. 8 А, кривая 3). Можно предположить, что эти полосы принадлежат молекулам 5BrdU, модифицированным за счет сильного взаимодействия с MoS_2 (хемосорбция). Более четко влияние хемосорбции проявляется для полос поглощения карбонильных групп 5BrdU в виде относительного уменьшения поглощения вблизи 1700 см^{-1} (Рис. 8 А, кривая 3). Полосы поглощения с частотами 1245 см^{-1} и 1040 см^{-1} могут иметь отношение к колебаниям пиримидинового кольца, так как при хемосорбции карбонильных групп, полосы колебаний сахарного кольца нуклеозида должны испытывать меньшее влияние.

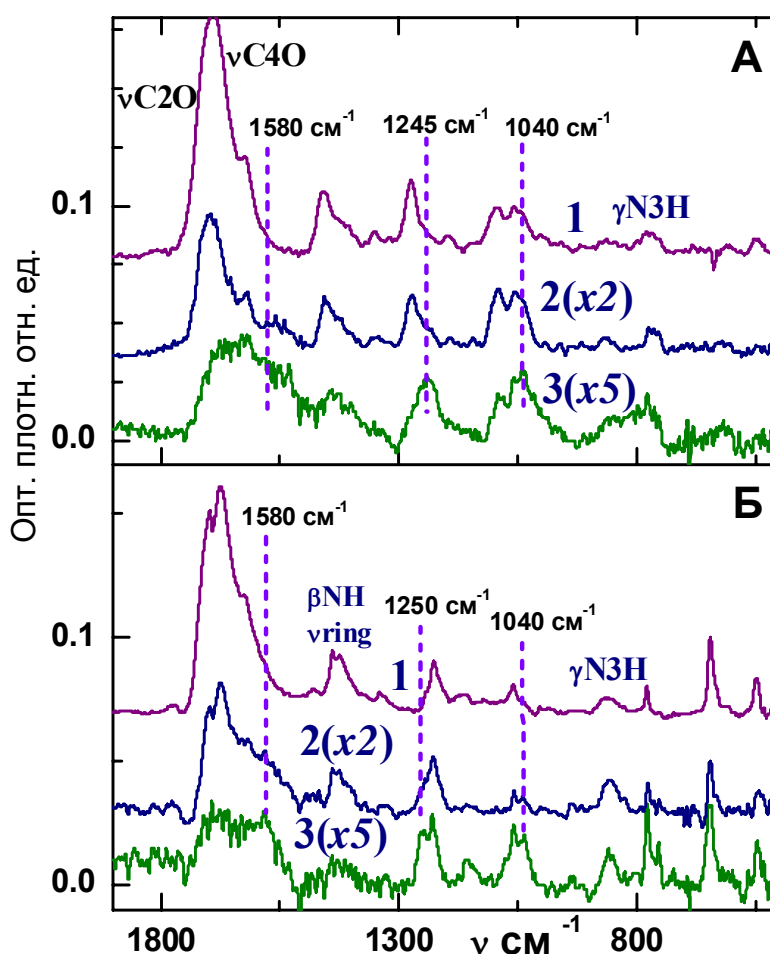


Рис. 8. ИК-Фурье спектры композитных пленок в области $1900\text{--}500\text{ см}^{-1}$ при различной плотности биомолекул: А) 1 — 5BrdU/GO с плотностью 5BrdU $100 \cdot 10^{-6}\text{ г/см}^2$; 2 — 5BrdU/ MoS_2 с плотностью 5BrdU $50 \cdot 10^{-6}\text{ г/см}^2$ (30 мин. УЗДН для MoS_2), интенсивность увеличена в 2 раза; 3 — 5BDU/ MoS_2 с плотностью 5BrdU $100 \cdot 10^{-6}\text{ г/см}^2$ (30 мин. DUC для MoS_2), интенсивность увеличена в 5 раз; Б) 1 — 5BrU/GO с плотностью 5BrU $25 \cdot 10^{-6}\text{ г/см}^2$; 2 — 5BrU/ MoS_2 с плотностью 5BrU $50 \cdot 10^{-6}\text{ г/см}^2$ (30 мин. УЗДН для MoS_2), интенсивность увеличена в 2 раза; 3 — 5BrU/ MoS_2 с плотностью 5BrU $100 \cdot 10^{-6}\text{ г/см}^2$ (30 мин. DUC для MoS_2), интенсивность увеличена в 5 раз.

Для сравнения с этими данными были получены композиты 5BrU/ MoS_2 . Для композитов с относительно большой площадью базальной поверхности частиц MoS_2 спектры пленки 5BrU/ MoS_2 хорошо согласуются со спектрами композита 5BrU/GO

(Рис. 8 Б, кривые 1 и 2). Как и в спектре 5BrdU/MoS₂ (Рис. 8, кривая 2), в спектре 5BrU/MoS₂ можно увидеть рост полос поглощения практически с теми же частотами 1580 см⁻¹, 1250 см⁻¹ и 1040 см⁻¹ (Рис. 8 Б, кривая 2). Уменьшение площади базальной поверхности MoS₂ также приводит к дальнейшему относительному росту интенсивности этих полос поглощения (Рис. 8 Б, кривая 3). Фактически в композите 5BrU/MoS₂ растут те же полосы, что и в композите 5BrdU/MoS₂. Все это позволяет предположить, что возможная хемосорбция 5BrU и 5BrdU происходит преимущественным образом через карбонильные группы пиримидинового кольца.

Таким образом, изучены некоторые механизмы взаимодействия в композитных пленках биологически активных молекул 5BrU и 5BrdU с актуальными в настоящее время наноструктурами.

ВЫВОДЫ

В работе исследованы структурные особенности биокompозитных пленок, включающих биомолекулы 5BrU и 5BrdU и широко используемые наноструктуры (графен и дисульфид молибдена) и получена информация о взаимодействии между их компонентами на основании данных инфракрасной Фурье спектроскопии и квантово-химических расчетов. Проведенные исследования показали перспективность использованного авторами экспериментально-теоретического подхода для изучения структуры и механизмов взаимодействия в биокompозитных пленках.

Продемонстрирована возможность формирования простым капельным методом достаточно однородных композитных пленок на основе оксида графена с пиримидиновыми основаниями и нуклеозидами. Впервые были получены инфракрасные спектры поглощения композитных пленок 5BrU/GO, 5BrU/MoS₂, 5BrdU/GO и 5BrdU/MoS₂ и проведен их анализ. Выявлены полосы поглощения инфракрасного спектра, наиболее чувствительные к изменению структуры кластеров биомолекул в таких композитных пленках.

Установлено, что при образовании комплексов в композитных пленках, межмолекулярное взаимодействие с оксидом графена может изменять конформационное равновесие молекул 5-Br-2'-дезоксигуанидина по сравнению с изолированными молекулами. Показано, что результаты квантово-химических расчетов, даже для относительно простых модельных комплексов, позволяют успешно анализировать экспериментальные спектры.

Анализ ИК-спектров позволяет предположить возможность хемосорбции 5BrU и 5BrdU в пленках с дисульфидом молибдена. Показано, что инфракрасные спектры пленок композитов дисульфида молибдена с биомолекулами можно использовать для экспресс-контроля измельчения частиц в суспензиях дисульфида молибдена.

Полученные результаты могут быть использованы для создания на основе биокompозитных пленок чувствительных биосенсоров, разработки новых функциональных материалов для биологии и медицины.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Национальной Академии Наук Украины (грант №0120U100157). Авторы благодарят объединенный грид-кластер Института монокристаллов и Института сцинтилляционных материалов НАН Украины, грид-кластер ФТИНТ им. Б.И. Веркина НАН Украины, а также польскую грид-инфраструктуру PLGrid Plus (VO Gaussian, интерфейс QCG-Now) за предоставленное программное обеспечение и машинное время.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы не имеют конфликта интересов.

AUTHORS' ORCID ID

A.Yu. Ivanov  <https://orcid.org/0000-0002-2975-3052>

V.A. Karachevtsev  <https://orcid.org/0000-0003-4580-6465>

REFERENCES

1. Yin PT, Shah S, Chhowalla M, Lee K-B. Design, synthesis, and characterization of graphene–nanoparticle hybrid materials for bioapplications. *Chem. Rev.* 2015;115(7):2483–532. <http://doi.org/10.1021/cr500537t>
2. Heerema SJ, Dekker C. Graphene nanodevices for DNA sequencing. *Nature Nanotechnology.* 2016;11: 127–36. <https://doi.org/10.1038/nnano.2015.307>
3. Xiao L, Xu L, Gao Ch, Zhang Yu, Yao Q, Zhang G-J. A MoS₂ nanosheet-based fluorescence biosensor for simple and quantitative analysis of DNA methylation. *Sensors.* 2016;16:1561–71. <https://doi.org/10.3390/s16101561>
4. Yadav V, Roy S, Singh P, Khan Z, Jaiswal A. 2D MoS₂-based nanomaterials for therapeutic, bioimaging, and biosensing applications. *Small.* 2019;15:1803706–39. <https://doi.org/10.1002/sml.201803706>
5. Saenger W. *Principles of Nucleic Acids Structure.* Springer-Verlag: New York; 1984. 556 p. [https://doi.org/10.1016/0307-4412\(85\)90046-9](https://doi.org/10.1016/0307-4412(85)90046-9)
6. Danilov VI, van Mourik T, Kurita N, Wakabayashi H, Tsukamoto T, Hovorun DM. On the mechanism of the mutagenic action of 5-bromouracil: a DFT study of uracil and 5-bromouracil in a water cluster. *J. Phys. Chem. A.* 2009;113:2233–35. <https://doi.org/10.1021/jp811007j>
7. Abdoul-Carime H, Huels MA, Illenberger E, and Sanche L. Sensitizing DNA to secondary electron damage: resonant formation of oxidative radicals from 5-halouracils. *J. Am. Chem. Soc.* 2001;123:5354–55. <https://doi.org/10.1021/ja003952d>
8. Hashiya F, Saha A, Kizaki S, Li Y, Sugiyama H. Locating the uracil-5-yl radical formed upon photoirradiation of 5-bromouracil-substituted DNA. *Nucleic Acids Research.* 2014;42(22):13469–73. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1133>
9. Ivanov AYu, Leontiev VS, Belous LF, Rubin YuV, Karachevtsev VA. Infrared spectra of 5-fluorouracil molecules isolated in inert Ar matrices, and their films on graphene oxide at 6K. *Low Temperature Physics.* 2017;43:400–8. <https://doi.org/10.1063/1.4979957>
10. Ivanov AYu, Plokhhotnichenko AM, Karachevtsev VA. Enhancement of the absorption bands in the infrared spectra of low-temperature uracil films by interference. *Low Temperature Physics.* 2018;44(11):1215–18. <https://doi.org/10.1063/1.5062163>
11. Ivanov AYu, Rubin YuV, Belous LF, Karachevtsev VA. Structures and infrared spectra of 5-chlorouracil molecules in the low-temperature inert Ar, Ne matrices and composite films with oxide graphene. *Low Temperature Physics.* 2018;44(8):847–55. <https://doi.org/10.1063/1.5049170>
12. Ivanov AYu, Plokhhotnichenko AM, Radchenko ED, Sheina GG, Blagoi YuP. FTIR spectroscopy of uracil derivatives isolated in Kr, Ar and Ne matrices: matrix effect and Fermi resonance. *J. Mol. Struct.* 1995;372:91–100. [https://doi.org/10.1016/0022-2860\(95\)08976-4](https://doi.org/10.1016/0022-2860(95)08976-4)
13. Ivanov AYu, Krasnokutski SA, Sheina GG. Molecular structures of thymidine isomers isolated in low-temperature inert matrices. *Low Temp. Phys.* 2003;29:809–14. <https://doi.org/10.1063/1.1614199>
14. Ivanov AYu, Karachevtsev VA. FTIR spectra and conformations of 2'-deoxyuridine in Kr matrices. *Low Temp. Phys.* 2007;33:590–5. <https://doi.org/10.1063/1.2755193>
15. Ivanov AYu, Plokhhotnichenko AM. A low-temperature quartz microbalance. *Instr. Experim. Techn.* 2009;52:308–11. <https://doi.org/10.1134/S0020441209020341>
16. Wojdyr M. Fityk: a general purpose peak fitting program. *J. Appl. Cryst.* 2010;43:1126–8. <https://doi.org/10.1107/S0021889810030499>
17. Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, et al. *Gaussian 16, Revision B.01,* Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.
18. Granovsky Alex A. Firefly Version 7.1.G [Internet]. 2009 [cited 2020 May 29]. Available from: <http://classic.chem.msu.su/gran/firefly/index.html>
19. Schmidt MW, Baldrige KK, Boatz JA, Elbert ST, Gordon MS, Jensen JH, et al. General atomic and molecular electronic structure system. *J. Comput. Chem.* 1993;14:1347–63. <https://doi.org/10.1002/jcc.540141112>
20. Grimme S, Ehrlich S, Goerigk L. Effect of the damping function in dispersion corrected density functional theory. *J. Comput. Chem.* 2011;32:1456–65. <https://doi.org/10.1002/jcc.21759>

21. Ivanov AYu, Rubin YuV, Egupov SA, Belous LF, Karachevtsev VA. Fermi resonance in Ne, Ar and Kr-matrix infrared spectra of 5-bromouracil. *Low Temp. Phys.* 2013;39:546–56.
<https://doi.org/10.1063/1.4811260>
22. Ivanov AYu, Stepanian SG, Karachevtsev VA, Adamowicz L. Nucleoside conformers in low-temperature argon matrices: Fourier transform IR spectroscopy of isolated thymidine and deuteriothymidine molecules and quantum-mechanical calculations. *Low Temp. Phys.* 2019;45:1008–18.
<https://doi.org/10.1063/1.5121271>
23. Rozenberg M, Shoham G, Reva I, Fausto R. Low temperature Fourier transform infrared spectra and hydrogen bonding in polycrystalline uracil and thymine. *Spectrochimica Acta Part A*, 2004;60:2323–36.
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2003.12.006>
24. Holroyd LF, van Mourik T. Stacking of the mutagenic base analogue 5-bromouracil: energy landscapes of pyrimidine dimers in gas phase and water. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2015;17:30364–70.
<https://doi.org/10.1039/C5CP04612B>
25. Deegan RD, Bakajin O, Dupont TF, Huber G, Nagel SR, Witten TA. Capillary flow as the cause of ring stains from dried liquid drops. *Nature*. 1997;389:827–9. <https://doi.org/10.1038/39827>
26. Deegan RD, Bakajin O, Dupont TF, Huber G, Nagel SR, Witten TA. Contact line deposits in an evaporating drop. *Phys. Rev. E*. 2000;62:756–65. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.62.756>
27. Vovusha H, Sanyal B. Adsorption of nucleobases on 2D transition-metal dichalcogenides and graphene sheet: a first principles density functional theory study. *RSC Adv.* 2015;5:67427–34.
<https://doi.org/10.1039/C5RA14664J>
28. Tsyganenko AA, Can F, Travert A, Maugé F. FTIR study of unsupported molybdenum sulfide — *in situ* synthesis and surface properties characterization. *Applied Catalysis A: General*. 2004;268:189–97.
<https://doi.org/10.1016/j.apcata.2004.03.038>