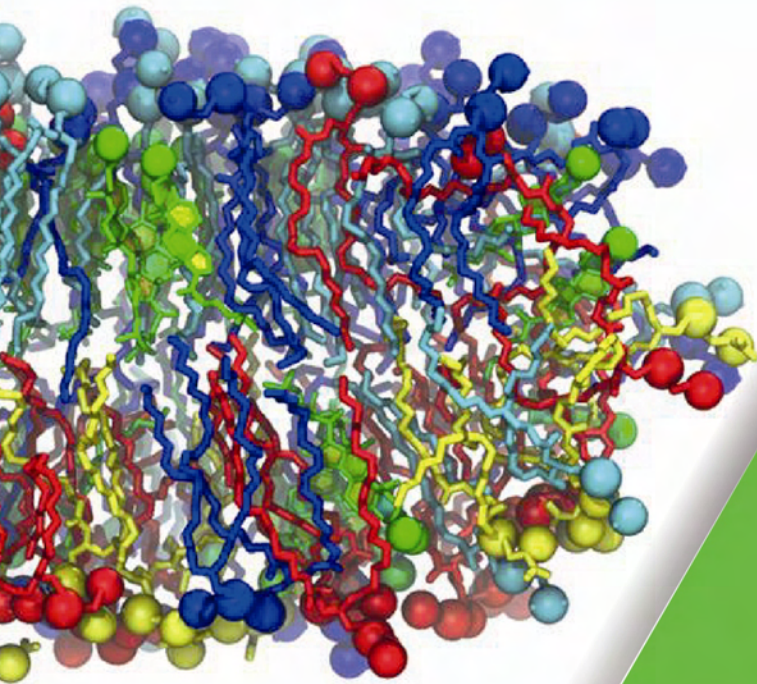


ISSN 2075-3810 (Print)  
ISSN 2075-3829 (Online)



**KARAZIN UNIVERSITY**  
**CLASSICS AHEAD OF TIME**

43'2020

**BIOPHYSICAL BULLETIN**

БІОФІЗИЧНИЙ ВІСНИК

ISSN 2075-3810 (print)  
ISSN 2075-3829 (online)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

# Біофізичний Вісник

**Випуск 43**

Заснований 1998 р.

**Харків 2020**

**Біофізичний вісник** публікує наукові статті, короткі повідомлення та огляди, які містять оригінальні результати розв'язання фізико-математичних та інженерно-технічних проблем, що відносяться до біологічних систем різного рівня організації, методами експериментальної і теоретичної фізики, математичного та комп'ютерного моделювання. Журнал виходить 2 рази на рік.

**Свідоцтво про державну реєстрацію:** KB № 11007 від 17.02.2006.

**ISSN 2075-3829** (Online)

**ISSN 2075-3810** (Print)

**Біофізичний вісник** є фаховим виданням України категорії «Б» у галузях наук: 10 Природничі науки за спеціальностями 104 Фізика та астрономія, 105 Прикладна фізика та наноматеріали; 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія; 16 Хімічна та біоінженерія за спеціальністю 163 Біомедична інженерія (Наказ Міністерства освіти і науки України № 1643 від 28.12.2019).

Всі статті проходять внутрішнє та зовнішнє подвійне сліпе рецензування.

Номер затверджено до друку рішенням Вченої ради Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна (протокол № 9 від 25.05.2020).

Журнал має Digital Object Identifier: **10.26565/2075-3810**.

#### *Головний редактор*

**Косевич М. В.**, Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б.І. Веркіна НАН України, Україна

#### *Заступник головного редактора*

**Катрич В. О.**, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна

#### *Відповідальний секретар*

**Берест В. П.**, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна

#### *Члени редколегії*

**Аврунін О. Г.**, Харківський національний університет радіоелектроніки, Україна

**Бараник Є. О.**, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна

**Бондаренко В. А.**, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна

**Говорун Д. М.**, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Україна

**Горбенко Г. П.**, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна

**Довбешко Г. І.**, Інститут фізики НАН України, Україна

**Злепко С. М.**, Вінницький національний технічний університет, Україна

**Карачевцев В. О.**, Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б.І. Веркіна НАН України, Україна

**Кнігавко В. Г.**, Харківський національний медичний університет, Україна

**Осецький О. І.**, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Україна

**Павлов С. В.**, Вінницький національний технічний університет, Україна

**Перський Є. Е.**, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна

**Семенов М. О.**, Інститут радіофізики та електроніки ім. О. Я. Усикова НАН України, Україна

**Соляник Г. І.**, Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Україна

**Степаньян С. Г.**, Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б.І. Веркіна НАН України, Україна

**Ткачук Р. А.**, Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя, Україна

**Трусова В. М.**, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна

**Узленкова Н. Є.**, Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва НАМН України, Україна

**Шестопалова Г.В.**, Інститут радіофізики та електроніки ім. О. Я. Усикова НАН України, Україна

**Андрущенко В.**, Інститут органічної хімії та біохімії Чеської Академії Наук, Чеська Республіка

**Беднарчик П.**, Варшавський університет сільського господарства, Польща

**Біндер Х.**, Лейпцизький університет, Німеччина

**Буркіна В.**, Університет Південної Богемії в Чеських Будейовицях, Чеська Республіка

**Доманов Є.**, Центр Досліджень та інновацій Л'Ореаль, Франція

**Фельдман Ю.**, Єврейський університет в Єрусалимі, Ізраїль

**Мірошниченко Д.**, Онкологічний центр та науково-дослідний інститут ім. Х. Лі Моффіта, США

**Рева І.**, Університет Коїмбри, Португалія

**Руткаускас Д.**, Центр фізичних наук і технологій, Литва

**Штис Д.**, Університет Південної Богемії в Чеських Будейовицях, Чеська Республіка

**Яковенко С.**, Університет Західної Вірджинії, Медичний факультет, США

**Замаратська Г.**, Шведський Університет аграрних наук, Швеція

**Горобченко О. О.**, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна – *технічний редактор*

**Жигалова Н. М.**, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна – *технічний секретар*

**Біофізичний вісник індексується:** Національною бібліотекою України імені В.І. Вернадського; Directory of Open Access Journals (DOAJ); Бібліографічною базою даних WorldCat; CAS (Chemical Abstracts Service); Google Scholar; ResearchBib; Ulrichsweb; Bielefeld Academic Search Engine (BASE); Index Copernicus.

#### **Адреса редколегії та видавництва:**

Кафедра молекулярної і медичної біофізики,  
Факультет радіофізики, біомедичної електроніки та комп'ютерних систем,  
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна,  
майдан Свободи, 4, Харків, 61022, Україна

**Tel:** +38-057-707-55-76

**E-mail:** biophys-visnyk@karazin.ua

**Web-page:** <http://periodicals.karazin.ua/biophysvisnyk>

**ISSN 2075-3810 (print)**  
**ISSN 2075-3829 (online)**

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE  
V. N. Karazin Kharkiv National University

# Biophysical Bulletin

**Issue 43**

Founded in 1998

**Kharkiv 2020**



**Biophysical Bulletin** publishes original scientific articles, short communications and reviews dealing with physical, mathematical, and engineering problems pertaining to biological systems and solved by methods of experimental and theoretical physics, mathematical modeling and computer simulation. The journal is published twice a year.

**Certificate of state registration:** KB № 11007 of 17.02.2006.

**ISSN 2075-3829** (Online)

**ISSN 2075-3810** (Print)

All manuscripts are double blind peer-reviewed by at least two reviewers.

Approved for publication by the Academic Council of V. N. Karazin Kharkiv National University (May 25, 2020, Protocol No. 9).

Biophysical Bulletin has Digital Object Identifier: **10.26565/2075-3810**.

#### **Editor-in-Chief**

**M. V. Kosevich**, B. Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering of the NAS of Ukraine, Ukraine

#### **Deputy Editor-in-Chief**

**V. A. Katrich**, V. N. Karazin Kharkiv National University,  
Ukraine

#### **Executive Secretary**

**V. P. Berest**, V. N. Karazin Kharkiv National University,  
Ukraine

#### **Editorial Board**

**O. G. Avrunin**, Kharkiv National University of Radio Electronics,  
Ukraine

**E. O. Barannik**, V. N. Karazin Kharkiv National University,  
Ukraine

**V. A. Bondarenko**, V. N. Karazin Kharkiv National University,  
Ukraine

**G. P. Gorbenko**, V. N. Karazin Kharkiv National University,  
Ukraine

**D. M. Govorun**, Institute of Molecular Biology and Genetics of the  
NAS of Ukraine, Ukraine

**G. I. Dovbeshko**, Institute of Physics of the NAS of Ukraine,  
Ukraine

**V. O. Karachevtsev**, B. Verkin Institute for Low Temperature  
Physics and Engineering of the NAS of Ukraine, Ukraine

**V. G. Knigavko**, Kharkiv National Medical University, Ukraine

**A. I. Osetski**, Institute for Problems of Cryobiology and  
Cryomedicine of the NAS of Ukraine, Ukraine

**S. V. Pavlov**, Vinnytsia national technical university, Ukraine

**Ye. E. Perskiy**, V. N. Karazin Kharkiv National University,  
Ukraine

**M. O. Semenov**, O. Ya. Usikov Institute for Radio Physics and  
Electronics of the NAS of Ukraine, Ukraine

**A. V. Shestopalova**, O. Ya. Usikov Institute for Radio Physics and  
Electronics of the NAS of Ukraine, Ukraine

**G. I. Solyanik**, R. E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology,  
Oncology and Radiobiology of the NAS of Ukraine, Ukraine

**S. G. Stepanian**, B. Verkin Institute for Low Temperature Physics  
and Engineering of the NAS of Ukraine, Ukraine

**R. A. Tkachuk**, Ternopil Ivan Puluj National Technical University,  
Ukraine

**V. M. Trusova**, V. N. Karazin Kharkiv National University,  
Ukraine

**N. E. Uzlenkova**, SI "Grigoriev Institute for Medical  
Radiology of National Academy for Medical Sciences",  
Ukraine

**S. M. Zlepko**, Vinnytsia national technical university, Ukraine

**V. Andrushchenko**, Institute of Organic Chemistry and  
Biochemistry of the Academy of Science of Czech  
Republic, Czech Republic

**P. Bednarczyk**, Warsaw University of Life Sciences, Poland

**H. Binder**, Leipzig University, Germany

**V. Burkina**, University of South Bohemia in České  
Budějovice, Czech Republics

**Ye. Domanov**, L'Oréal Research & Innovation, France

**Yu. Feldman**, The Hebrew University of Jerusalem, Israel

**D. Miroshnichenko**, H. Moffitt Cancer Center and Research  
Institute, USA

**I. Reva**, Universidade de Coimbra, Portugal

**D. Rutkauskas**, Centre for Physical Sciences and Technology,  
Lithuania

**D. Štys**, University of South Bohemia in České Budějovice,  
Czech Republics

**S. Yakovenko**, West Virginia University, School of Medicine,  
USA

**G. Zamaratskaia**, Swedish University of Agricultural  
Sciences, Sweden

**O. O. Gorobchenko**, V. N. Karazin Kharkiv National  
University, Ukraine – *Technical Editor*

**N. M. Zhyhalova**, V. N. Karazin Kharkiv National  
University, Ukraine – *Technical Secretary*

**Biophysical Bulletin is indexed in:** Vernadsky National Library of Ukraine; Directory of Open Access Journals (DOAJ); WorldCat; CAS (Chemical Abstracts Service); Google Scholar; ResearchBib; Ulrichsweb; Bielefeld Academic Search Engine (BASE); Index Copernicus.

#### **Editorial Office and Publisher:**

Department of Molecular and Medical Biophysics  
School of Radio Physics, Biomedical Electronics and Computer Systems  
V. N. Karazin Kharkiv National University,  
4 Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine

**Tel:** +38-057-707-55-76

**E-mail:** [biophys-visnyk@karazin.ua](mailto:biophys-visnyk@karazin.ua)

**Web-page:** <http://periodicals.karazin.ua/biophysvisnyk>

© V. N. Karazin Kharkiv National University, 2020

© S. O. Yesylevskyy, membrane image on the first page of the cover, 2020

## ЗМІСТ

## РЕДАКЦІЙНА СТАТТЯ

- G. I. Dovbeshko, V. A. Karachevtsev, V. P. Berest, M. V. Kosevich**  
6th International conference “Nanobiophysics: fundamental and applied aspects” 9–13

## БІОФІЗИКА КЛІТИНИ

- Peyman Fahimi, Mohamed A. Nasr, Lázaro A. M. Castanedo, Youji Cheng, Cyrus A. Toussi, Chérif F. Matta**  
A note on the consequences of a hot mitochondrion: some recent developments and open questions 14–21

## МАТЕРІАЛИ ДЛЯ БІОМЕДИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ

- B. Berzina, L. Trinkler, V. Korsaks, R. Ruska**  
Luminescent AlN:Mn nanoparticles for optical imaging of biological materials 22–29
- M. Olenchuk, T. Hanulia, O. Perederii, A. Negriyko, G. Dovbeshko**  
Synthesis and properties of SiO<sub>2</sub> photonic crystals modified by DNA 30–38
- A. Damin, P. Ivanchenko, M. Fabbiani, G. Martra**  
Effective SERS substrate obtained by Au deposition at silica surfaces through a top down method 39–44
- M. B. Malynovskyi, M. M. Sevryukova, Yu. P. Piryatinski**  
Fluorescence of molecular composites that consist of nematic liquid crystal and merocyanins 45–56

## БІОФІЗИКА СКЛАДНИХ СИСТЕМ

- N. V. Sigareva, V. A. Barbash, O. V. Yashchenko, S. V. Shulga, D. L. Starokadomsky, B. M. Gorelov**  
Influence of cellulose particles on chemical resistance, mechanical and thermal properties of epoxy composites 57–70
- Ю. В. Рубин, А. Ю. Иванов, Л. Ф. Белоус, В. А. Карачевцев**  
Спектральные и структурные особенности биокomпозитных пленок оксида графена и дисульфида молибдена с молекулами 5-бромурцила и 5-бром-2'-дезоксинуридина 71–84
- F. Cecchet**  
Interfacial water at synthetic and natural lipid bilayers probed by vibrational sum-frequency generation spectroscopy 85–95

### МЕТОДИ БІОФІЗИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

- С. В. Кривець, Я. П. Лазоренко, В. П. Міщай, С. О. Мамілов**  
Флуоресцентні властивості поверхневих тканин яблук різних сортів  
в зеленій області спектру 96–102

### МОЛЕКУЛЯРНА БІОФІЗИКА

- V. A. Pashynska, M. V. Kosevich, A. Gomory**  
Mass spectrometry study of noncovalent complexes formation of antibiotic  
cycloserine with N-acetyl-D-glucosamine and ascorbic acid 103–110
- O. Zhytniakivska, U. Tarabara, A. Kurutos, A. Zabrudska, K. Vus,  
V. Trusova, G. Gorbenco, T. Deligeorgiev**  
Novel cyanine dye as competitive ligand for probing the drug–nucleic acid  
interactions 111–120
- Е. С. Крячко**  
Гипотеза Уотсона-Крика о редкой таутомерной мутации и реальность 121–132

### ДІЯ ФІЗИЧНИХ ФАКТОРІВ НА БІОЛОГІЧНІ ОБ'ЄКТИ

- О. В. Ангельський, К. Ю. Зенкова, Д. І. Іванський**  
Вплив компонент оптичного імпульсу та спіну еванесцентних хвиль  
на мікро- та нанооб'єкти (огляд) 133–147

### ДИСКУСІЙНІ МАТЕРІАЛИ

- Е. С. Крячко**  
Водородная связь и ДНК: 66-летняя ретроспектива  
(в кратком изложении) 148–173

### ХРОНІКА

- О. В. Жолос, О. Ф. Мороз, В. П. Берест**  
Восьмий з'їзд Українського біофізичного товариства 174–176
- Г. П. Горбенко, К. О. Вус, О. А. Житняківська, М. В. Косевич**  
Премія від фонду L'Oréal-UNESCO «Для жінок в науці – 2019» 177–180
- О. М. Близнюк, В. П. Берест, О. О. Горобченко, Д. В. Безрукавий,  
В. А. Дорохина, В. О. Карачевцев, М. В. Косевич, Ю. В. Малюкін**  
Пам'яті професора Олександра Миколайовича Огурцова 181–187

## CONTENTS

## EDITORIAL

- G. I. Dovbeshko, V. A. Karachevtsev, V. P. Berest, M. V. Kosevich**  
6th International conference “Nanobiophysics: fundamental and applied aspects” 9–13

## БІОФІЗИКА КЛІТИНИ

- Peyman Fahimi, Mohamed A. Nasr, Lazaro A. M. Castanedo, Youji Cheng, Cyrus A. Toussi, Chérif F. Matta**  
A note on the consequences of a hot mitochondrion: some recent developments and open questions 14–21

## MATERIALS FOR BIOMEDICAL USING

- B. Berzina, L. Trinkler, V. Korsaks, R. Ruska**  
Luminescent AlN:Mn nanoparticles for optical imaging of biological materials 22–29
- M. Olenchuk, T. Hanulia, O. Perederii, A. Negriyko, G. Dovbeshko**  
Synthesis and properties of SiO<sub>2</sub> photonic crystals modified by DNA 30–38
- A. Damin, P. Ivancheenko, M. Fabbiani, G. Martra**  
Effective SERS substrate obtained by Au deposition at silica surfaces through a top down method 39–44
- M. B. Malynovskyi, M. M. Sevryukova, Yu. P. Piryatinski**  
Fluorescence of molecular composites that consist of nematic liquid crystal and merocyanins 45–56

## BIOPHYSICS OF COMPLEX SYSTEMS

- N. V. Sigareva, V. A. Barbash, O. V. Yashchenko, S. V. Shulga, D. L. Starokadomsky, B. M. Gorelov**  
Influence of cellulose particles on chemical resistance, mechanical and thermal properties of epoxy composites 57–70
- Yu. V. Rubin, A. Yu. Ivanov, L. F. Belous, V. A. Karachevtsev**  
Spectral and structural features of bio-composite films of graphene oxide and molybdenum disulphide with molecules of 5-bromouracyl and 5-bromo-2'-deoxyuridine 71–84
- F. Cecchet**  
Interfacial water at synthetic and natural lipid bilayers probed by vibrational sum-frequency generation spectroscopy 85–95

**BIOPHYSICAL METHODS**

- S. V. Kryvets, Ya. P. Lazorenko, V. P. Mitsai, S. O. Mamilov**  
Fluorescent properties of surface tissues of apples of different varieties  
in the green area of spectrum 96–102

**MOLECULAR BIOPHYSICS**

- V. A. Pashynska, M.V. Kosevich, A. Gomory** 103–110  
Mass spectrometry study of noncovalent complexes formation of antibiotic  
cycloserine with N-acetyl-D-glucosamine and ascorbic acid
- O. Zhytniakivska, U. Tarabara, A. Kurutos, A. Zabrudska, K. Vus,  
V. Trusova, G. Gorbenko, T. Deligeorgiev** 111-120  
Novel cyanine dye as competitive ligand for probing the drug–nucleic acid  
interactions
- E. S. Kryachko** 121–132  
The Watson-Crick rare tautomer hypothesis of mutations and reality

**ACTION OF PHYSICAL AGENTS ON BIOLOGICAL OBJECTS**

- O. V. Angelsky, C. Yu. Zenkova, D. I. Ivanskyi** 133–147  
Influence of components of optical momentum and spin of evanescent waves  
on micro- and nanoobjects (review)

**DISCUSSIONS**

- E. S. Kryachko** 148–173  
Hydrogen bonding and DNA: 66-year retrospective (in brief)

**CHRONICLE**

- A. V. Zholos, O. F. Moroz, V. P. Berest** 174–176  
Eighth Congress of Ukrainian Biophysical Society
- G. P. Gorbenko, K. O. Vus, O. A. Zhytniakivska, M. V. Kosevich** 177–180  
LOREAL-UNESCO Award "For Women in Science — 2019"
- O. N. Bliznjuk, V. P. Berest, O. A. Gorobchenko, D. V. Bezrukavyy,  
V. A. Dorokhyna, V. A. Karachevtsev, M. V. Kosevich, Yu. V. Malyukin** 181–187  
In memory of Professor A. N. Ogurtsov



<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-01>

## 6<sup>th</sup> INTERNATIONAL CONFERENCE “NANOBIOPHYSICS: FUNDAMENTAL AND APPLIED ASPECTS”

**6<sup>th</sup> International Conference “NANOBIOPHYSICS: Fundamental and Applied Aspects” – NBP-2019 took place on October 1–4, 2019 in Kyiv, Ukraine, at the Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Ukraine.**

“NanoBioPhysics” conference series was jointly launched in 2009 by B. Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine and the Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Ukraine. Previous five conferences were organized on biennial basis in Kyiv and Kharkiv alternatively.

The NBP-2019 conference brought together the scientists working in the fields of nanoscience, nanotechnologies and molecular biophysics and dealing with the biological macromolecules or/and their complexes with any kind of nanoparticles or nanostructured media. The goal of the conference was to discuss recent achievements and to push forward this innovative area of science and technology.

In the conference 63 scientists arrived from 14 countries (Photo 1), they made 36 lectures, including 17 invited speakers, and 27 poster presentations. Book of abstract with 107 pages was published [1]. The lectures were delivered by famous scientists from Ukraine, Belarus, Italy, France, Latvia, Lithuania, Estonia, Germany, Poland, Czech Republic, Canada, Denmark, USA and Egypt.



Photo 1. Participants of the 6th International Conference “NANOBIOPHYSICS: Fundamental and Applied Aspects”, the Institute of Physics of 2019, Kyiv, Ukraine.



The latest achievements and advances in both academic and commercial aspects of NanoBioPhysics were enlightened in the following sessions:

- Physical properties of biomolecular nanosystems;
- Interactions of biomolecules with nanoparticles and nanostructured surfaces;
- Enhancement of optical processes in biomolecules by nanostructured metal surfaces;
- Biomolecules, hybrids of biomolecules with carbon nanostructures (graphene, nanotubes, fullerenes, and other carbon nanoparticles);
- Theory and computer modeling of nanoscopic biological systems;
- BioNano-materials, -composites and their applications.

Urgent subjects of nonobiophysical research were covered in the plenary invited lectures. In the framework of the subject of experimental investigations and computer modeling of physical properties of biomolecular nanosystems Professor **Rinken A.** (*Tartu, Estonia*) reported about characterization of single molecule interactions between proteins and their ligands using total internal reflection fluorescence (TIRF) microscopy; Professor **Kryachko E.S.** (*Kyiv, Ukraine*) discoursed the retrospective of exploration of point tautomeric mutations in the base pairs of DNA.

A number of lectures enlightened achievements in scrutinizing of interaction of biomolecules with carbon nanostructures and nanoparticles and their promising applications. Professor **Demchenko A.P.** (*Kyiv, Ukraine*) surveyed application of fluorescent carbonic nanoparticles (C-dots) as efficient instruments in molecular and cellular research. Professor **Strek W.** (*Wroclaw, Poland*) told about laser stimulated lighting of graphene materials. Professor **Karachevtsev V.A.** (*Kharkiv, Ukraine*) delivered a talk about photoluminescence from single-walled carbon nanotubes for biosensing and biomedical applications. Dr. **Biloivan O.A.** (*Kyiv, Ukraine*) described utilization of carbon nanomaterials in design of electrochemical biosensors. Dr. **Stepanian S.G.** (*Kharkiv, Ukraine*) reported on computational study of MoS<sub>2</sub> complexes with nucleic acid bases.

Phenomena that accompany interactions of biomolecules with nanostructured surfaces and nanoparticles formed the basis for so called surface-enhanced techniques. Professor **Bandarenka H.** (*Minsk, Belarus*) compared the results of macromolecules analysis using metallic nanoparticles and nanovoids by exploiting surface enhanced Raman scattering spectroscopy (SERS). Dr. **Damin A.** (*Turin, Italy*) highlighted aspects of synthesis and characterization of Au/SiO<sub>2</sub> systems for SERS. Professor **Dragan A.I.** (*Kyiv, Ukraine*) described recent progress and perspectives of metal-enhances fluorescence (MEF) in biomedical studies. Dr. **Boiko V.** (*Wroclaw, Poland*) told about potentialities of near-infrared persistent luminescence phosphors nanoparticles for optical imaging of biological tissues. Professor **Berzina B.** (*Riga, Latvia*) discussed applications of luminescent nanoparticles for optical imaging of biological materials and tracing the processes occurring in biomaterials. Professor **Lukowiak A.** (*Wroclaw, Poland*) reported about luminescent bioactive glasses and composites.

Physical properties of complex biomolecular nanosystems were exemplified at the cell and biomembrane levels. Professor **Martra G.** (*Turin, Italy*) covered the issue of the interactions of silica nanoparticles with membranes and discussed the insights on surface features responsible for membranolysis. Dr. **Berest V.P.** (*Kharkiv, Ukraine*) reported about membranotropic action of Gramicidin S and its relation to lipid membrane composition. Dr. **Artemenko A.** (*Prague, Czech Republic*) told about biocompatible substrate on the basis of nanocrystalline diamond films for proteins absorption. Professor **Yesylevskyy S.A.** (*Kyiv, Ukraine; Besancon, France*) described recent methodological advances in molecular

dynamics simulation of the curved membranes. In the lectures of Dr. *Nasr M.* (Zewail, Egypt), Professor *Dovbeshko G.I.* (Kyiv, Ukraine) and Professor *Matta C.F.* (Halifax, Canada) (last in format of video presentation) the problems of biophysical role of mitochondria, its vibrational markers and controlled thermogenesis in mitochondrion were considered. Dr. *Ilchenko O.* (Lyngby, Denmark) told about a new generation of Raman instruments and an application of Raman spectroscopy for mapping of orientation of semiconductor crystals and pharmaceutical tablet formulation (via Skype).

In the framework of the conference special sessions devoted to the progress of collaborative projects related to NanoBioPhysics subjects were organized. A round table dedicated to HORIZON 2020 project “Asymmetry of biological membrane: theoretical, experimental and applied aspects” (690853 — assymcurv - H2020 – MSCA - RISE-2015) was moderated by the project coordinator Professor *Dovbeshko G.I.* (Kyiv, Ukraine). NATO SPS 985291 project Workshop “Towards getting of “lipid passport” of pathogenic microorganisms by physical and computational lipidomics” was conducted by the coordinator Professor *Bogdanov M.* (Houston, USA) under the motto “Moving from conventional lipidomics to physical and computational lipidomics, e.g. building of supramolecular lipid structures”. In the lecture of Professor *Bogdanov M.* the challenging questions were raised: “What new strategies do successful pathogenic bacteria deploy to “camouflage” their surface such that it is not recognized either by infected host or “man made” surveillances systems? What strategies can be developed by us?” A number of urgent topics were surveyed at the Workshop in the presentations of Professor *Dovbeshko G.I.* (Kyiv, Ukraine) “IR and Raman markers of artificial and real membranes and their changes under external stimuli”, Professor *Rinken A.* (Tartu, Estonia) “Possibilities of fluorescent spectroscopy for visualization of supramolecular lipid structures”, Professors *Ramseyer C.* and *Yesylevskyy S.A.* (Besancon, France) “Computer-aided molecular dynamic simulations of supramolecular lipid structures”.

The best posters were awarded: on the first day, poster presented by *Cheropkina H.* (Turin, Italy) “Electrochemical detection of pesticides by human flavin-containing monooxygenase 1” was recognized as the best one (chairman Dr. *Berest V.P.*); on the second day *Tarabara's U.* (Kharkiv, Ukraine) poster “Competitive DNA binding of europium coordination complexes and trimethine cyanine dyes” was the best one (chairman Professor *Lukowiak A.*).

The conference was partially sponsored by the HORIZON 2020 project, NATO 985291 SPS project “A novel method of detection of biohazards”, and the Project 11/1 2019 of National Academy of Sciences of Ukraine “Development of 2D materials and “smart” sensors for biomedical and biological purposes”.

The next conference of the series is expected to be organized in autumn 2021 in Kharkiv.

In this issue *Biophysical Bulletin* publishes some articles based on materials presented at the NBP-2019 Conference.

**Acknowledgement:** the NBP-2019 logotype on the front cover of this issue is developed by Professor *Yesylevskyy S.A.*

**Conflict of interests:** the authors declare that there is no conflict of interest.

#### REFERENCES

1. Book of abstracts of the 6th International Conference “Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects” 2019 October 1-4); Kyiv: Institute of Physics of NAS of Ukraine, 2019, 107 p. Available from: [https://www.researchgate.net/profile/Vitalii\\_Boiko2/publication/340023674\\_Book\\_of\\_abstracts\\_6th\\_International\\_Conference\\_Nanobiophysics\\_fundamental\\_and\\_applied\\_aspects/links/5e7348ca299bf1571848cd19/Book-of-abstracts-6th-International-Conference-Nanobiophysics-fundamental-and-applied-aspects.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Vitalii_Boiko2/publication/340023674_Book_of_abstracts_6th_International_Conference_Nanobiophysics_fundamental_and_applied_aspects/links/5e7348ca299bf1571848cd19/Book-of-abstracts-6th-International-Conference-Nanobiophysics-fundamental-and-applied-aspects.pdf)

**G.I. Dovbeshko<sup>1</sup> (Guest Editor), V.A. Karachevtsev<sup>2</sup>, V.P. Berest<sup>3</sup>, M.V. Kosevich<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup> Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Ukraine, 46 Nauky Avenue, Kyiv, 03028, Ukraine

<sup>2</sup> B. Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine, 47 Nauky Avenue, Kharkiv, 61103, Ukraine

<sup>3</sup> V.N. Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody Square, Kharkiv, 61022, Ukraine

G.I. Dovbeshko  <https://orcid.org/0000-0002-7701-0106>

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

V.P. Berest  <https://orcid.org/0000-0001-7779-154X>

M.V. Kosevich  <https://orcid.org/0000-0003-0257-4588>

### 6-та МІЖНАРОДНА КОНФЕРЕНЦІЯ

#### «НАНОБІОФІЗИКА: ФУНДАМЕНТАЛЬНІ ТА ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ»

**Г.І. Довбешко<sup>1</sup>, В.О. Карачевцев<sup>2</sup>, В.П. Берест<sup>3</sup>, М.В. Косевич<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup> Інститут фізики Національної академії наук України, пр. Науки, 46, Київ, 03028, Україна

<sup>2</sup> Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б.І. Веркіна Національної академії наук України, пр. Науки, 47, Харків, 61103, Україна

<sup>3</sup> Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, 61022, Україна

Шоста міжнародна конференція «НАНОБІОФІЗИКА: фундаментальні та прикладні аспекти» (NBP-2019) відбулася 1–4 жовтня 2019 р. в Інституті фізики Національної академії наук України (Київ, Україна). Попередні п'ять конференцій, починаючи з 2009 року, проводилися один раз на два роки спільними зусиллями Фізико-технічного інституту низьких температур ім. Б.І. Веркіна НАН України та Інституту фізики НАН України по черзі у Харкові та Києві. У конференції взяли участь 63 провідних науковця з 14 країн світу, зокрема з України, Білорусі, Італії, Франції, Латвії, Литви, Естонії, Німеччини, Польщі, Чеської Республіки, Канади, Данії, США та Арабської Республіки Єгипет. Було представлено 36 наукових доповідей та понад сотні стендових презентацій. Метою конференції став обмін інформацією стосовно новітніх досягнень у галузі нанобіофізики, спрямований на стимулювання подальшого розвитку як фундаментальних досліджень, так і інновацій у відповідних галузях нанотехнології. Дружній формат наукового зібрання забезпечив обмін ідеями у рамках таких актуальних тематик як фізичні властивості біомолекулярних наносистем, взаємодія біомолекул з наночастинками та наноструктурованими поверхнями, посилення оптичних процесів у біомолекулах внаслідок їх взаємодії з наноструктурованими металевими поверхнями, створення наногібридів біомолекул з вуглецевими наноструктурами, теорія та комп'ютерне моделювання наноскопічних біологічних систем, практичне застосування біонаноматеріалів та біонанокompatитів. У рамках конференції було організовано спеціальні сесії для спілкування учасників поточних міжнародних проектів за програмами HORIZON 2020 та NATO Workshop. Матеріали конференції NBP-2019 видано у збірці тез.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** нанобіофізика; біомолекулярні наносистеми; біонаноматеріали; біонанокompatити; наноструктуровані поверхні; міжмолекулярні взаємодії; комп'ютерне моделювання.

### 6-я МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

#### «НАНОБИОФИЗИКА: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ»

**Г.И. Довбешко<sup>1</sup>, В.А. Карачевцев<sup>2</sup>, В.П. Берест<sup>3</sup>, М.В. Косевич<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup> Институт физики Национальной академии наук Украины, пр. Науки, 46, Киев, 03028, Украина

<sup>2</sup> Физико-технический институт низких температур им. Б.И. Веркина Национальной академии наук Украины, пр. Науки, 47, Харьков, 61103, Украина

<sup>3</sup> Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, 61022, Украина

Шестая международная конференция «НАНОБИОФИЗИКА: фундаментальные и прикладные аспекты» (NBP-2019) состоялась 1–4 октября 2019 г. в Институте физики Национальной академии наук Украины (Киев, Украина). Первые пять конференций, начиная с 2009 года, проводились с двухгодичным интервалом совместными усилиями Физико-технического института низких температур им. Б.И. Веркина НАН Украины и Института физики НАН Украины поочередно в Харькове и Киеве. В конференции приняли участие 63 ведущих ученых из 14 стран, в частности, Украины, Беларуси, Италии, Франции, Латвии, Литвы, Эстонии, Германии, Польши, Чешской Республики, Канады, Дании, США и Арабской Республики Египет. Было представлено 36 научных докладов и более сотни стендовых презентаций. Целью конференции являлся обмен

информацией о новых достижениях в области нанобиофизики, направленный на моделирование дальнейшего развития как фундаментальных исследований, так и инноваций в соответствующих областях нанотехнологии. Обсуждение проходило в рамках таких актуальных тематик как физические свойства биомолекулярных наносистем, взаимодействие биомолекул с наночастицами и наноструктурированными поверхностями, усиление оптических процессов в биомолекулах вследствие их взаимодействия с наноструктурированными металлическими поверхностями, создание наногрибидов биомолекул с углеродными наноструктурами, теория и компьютерное моделирование наноскопических биологических систем, практическое применение бionanomaterialов и бionanocomposites. В рамках конференции была организована специальная сессия для общения участников текущих международных проектов по программам HORIZON 2020 и NATO Workshop. По материалам конференции NBP-2019 издан сборник тезисов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** нанобиофизика; биомолекулярные наносистемы; бionanomaterialы; бionanocomposites; наноструктурированные поверхности; межмолекулярные взаимодействия; компьютерное моделирование.

**6th INTERNATIONAL CONFERENCE  
“NANOBIOPHYSICS: FUNDAMENTAL AND APPLIED ASPECTS”  
G.I. Dovbeshko<sup>1</sup>, V.A. Karachevtsev<sup>2</sup>, V.P. Berest<sup>3</sup>, M.V. Kosevich<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup> *Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Ukraine, 46 avenu Nauki, Kyiv, 03028, Ukraine*

<sup>2</sup> *B. Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine, 47 Nauky Avenue, Kharkiv, 61103, Ukraine*

<sup>3</sup> *V.N. Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody Square, Kharkiv, 61022, Ukraine*

6<sup>th</sup> International conference “NANOBIOPHYSICS: Fundamental and Applied Aspects” (NBP-2019) took place on October 1–4, 2019 at the Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kyiv, Ukraine). Previous five conferences, starting from 2009, were organized due to joint efforts of B. Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering of the NAS of Ukraine and Institute of Physics of the NAS of Ukraine on biennial basis in Kyiv and Kharkiv alternatively. 63 leading scientists from 14 countries took part in the conference, Ukraine, Belarus, Italy, France, Latvia, Lithuania, Estonia, Germany, Poland, Czech Republic, Canada, Denmark, USA and Arab Republic of Egypt were represented. 36 scientific lectures, including 17 invited, and 27 poster presentations were made. The goal of the conference was in exchange of information concerning recent achievements in the field of nanobiophysics, aimed at the inspiration of further advancement of basic investigations as well as innovations in the related areas of nanotechnology. Friendly format of the scientific meeting provided the exchange of ideas in such urgent topics as physical properties of biomolecular nanosystems, interactions of biomolecules with nanoparticles and nanostructured surfaces, enhancement of optical processes in biomolecules by nanostructured metal surfaces, formation of nanohybrids of biomolecules with carbon nanostructures, theory and computer modeling of nanoscopic biological systems, applications of bionanomaterials and bionanocomposites. In the framework of the conference special sessions for communications between the participants of the current international projects HORIZON 2020 and NATO Workshop were organized. Book of abstract based on NBP-2019 materials was published.

**KEY WORDS:** nanobiophysics; biomolecular nanosystems; bionanomaterials; bionanocomposites; nanostructured surfaces; intermolecular interactions; computer simulation.



Invited paper (mini review)

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-02>

UDC 576.311.347

## A NOTE ON THE CONSEQUENCES OF A HOT MITOCHONDRION: SOME RECENT DEVELOPMENTS AND OPEN QUESTIONS<sup>1</sup>

Peyman Fahimi<sup>a,b</sup>, Mohamed A. Nasr<sup>a,c</sup>, Lázaro A. M. Castanedo<sup>a,d</sup>, Youji Cheng<sup>a,d</sup>,  
Cyrus A. Toussi<sup>a,e</sup>, Chérif F. Matta<sup>a-d,f,\*</sup>

<sup>a</sup>Department of Chemistry and Physics, Mount Saint Vincent University, Halifax, Nova Scotia, Canada B3M2J6

<sup>b</sup>Département de chimie, Université Laval, Québec, Québec, Canada G1V 0A6

<sup>c</sup>Center of Excellence for Stem Cells and Regenerative Medicine (CESC), Zewail City of Science and Technology, 6th of October City 12588, Egypt

<sup>d</sup>Department of Chemistry, Saint Mary's University, Halifax, Nova Scotia, Canada B3H3C3

<sup>e</sup>Department of Biomedical Engineering, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran

<sup>f</sup>Department of Chemistry, Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia, Canada B3H4J3

\* Tel.: +1-(902)-457-6142; Fax: +1-(902)-457-6134; E-mail: [cherif.matta@msvu.ca](mailto:cherif.matta@msvu.ca)

Submitted November 14, 2019

Accepted January 16, 2020

**Background:** Chrétien and co-workers (PLOS Biology. 2018;16(1):e2003992) recently suggested that the mitochondrion might possibly be hotter than its surrounding (by as much as 10°C).

**Objectives:** To examine the validity of this claim and review the possible implications and repercussion of such a claim – if true – on some aspects of mitochondrial biochemistry and biophysics.

**Results:** Both the chemical gradient and the electrical gradient Gibbs energy terms in the central equation of chemiosmotic theory are temperature dependent, the first explicitly and the second implicitly. A hotter mitochondrion – as claimed – would imply a 3% correction in the chemical gradient term, but we cannot estimate the corresponding effect on the electrical term at this time since the functional dependence of the voltage on the temperature is not known to the best of the authors' knowledge. Further, if this claim is true and to the extent claimed (10°C), this may imply some heat-engine character for mitochondrial thermodynamic operation albeit this may only represent 4% at most.

**Conclusions:** Doubts and criticisms regarding the suggestion of a hotter mitochondrion have been raised and are briefly discussed. These doubts are contrasted with some data and considerations that support the claim of a hotter mitochondrion. It is concluded that the mitochondrion is probably hotter than its environment but not to the extent claimed by Chrétien *et al.* and that the thermodynamic efficiency and the mode of operation of the mitochondrion as an electrochemical battery are very slightly perturbed by even the maximum claimed revision of the temperature of its operation.

**KEY WORDS:** hot mitochondrion; mitochondrial biophysics; ATP synthase; Maxwell demon; chemiosmotic theory.

## ЩОДО ГАРЯЧИХ МІТОХОНДРІЙ: ДЕЯКІ НОВІ РОЗРОБКИ ТА ВІДКРИТІ ПИТАННЯ

Пейман Фахімі<sup>a,b</sup>, Мохамед А. Наср<sup>a,c</sup>, Лазаро А. М. Кастанедо<sup>a,d</sup>,  
Йодзі Ченг<sup>a,d</sup>, Сайрус А. Туссі<sup>a,e</sup>, Шериф Ф. Матта<sup>a-d,f,\*</sup>

<sup>a</sup>Факультет хімії та фізики, Університет Маунт-Сент-Вінсент, Галіфакс, Нова Шотландія, Канада B3M2J6

<sup>b</sup>Кафедра хімії, Університет Лаваль, Квебек, Квебек, Канада G1V 0A6

<sup>c</sup>Центр передового досвіду зі стовбурових клітин і регенеративної медицини (CESC), Місто науки і техніки Зевейл, Місто імені 6 жовтня 12588, Єгипет

<sup>d</sup>Хімічний факультет, Університет Святої Марії, Галіфакс, Нова Шотландія, Канада B3H3C3

<sup>1</sup> This communication is patterned after the presentation of the corresponding author (C.F.M.) entitled "Controlled Thermogenesis in the Mitochondrion" presented at the 6<sup>th</sup> International Conference on Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects (NBP-2019) held at the Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Ukraine in Kyiv (Ukraine), 1-4 October 2019.

<sup>e</sup>Кафедра біомедичної інженерії, Університет Хакім Сабзевари, Сабзевар, Іран  
<sup>f</sup>Хімічний факультет, Університет Далхаузі, Галіфакс, Нова Шотландія, Канада V3H4J3  
<sup>\*</sup>Тел.: + 1- (902) -457-6142; Факс: + 1- (902) -457-6134; E-mail: cherif.matta@msvu.ca

**Актуальність.** Кретъєн та його колеги (Chrétien *et al.*, PLOS Biology. 2018; 16(1): e2003992) нещодавно припустили, що мітохондрії можуть бути теплішими, ніж їх оточення на цілих 10°C.

**Мета роботи:** розглянути обґрунтованість цього твердження та, якщо воно вірне, переглянути його можливі наслідки для деяких аспектів біохімії і біофізики мітохондрій.

**Результати.** У центральному рівнянні хеміосмотичної теорії обидва члени, як хімічного, так і електричного, градієнтів енергії Гібса залежать від температури: перший явно та другий неявно. Гаряча мітохондрія, як стверджується, передбачає 3% поправку для хімічного градієнта, проте наразі ми не можемо оцінити відповідний внесок в електричну складову, оскільки, як відомо авторам, функціональна залежність напруги від температури не відома. Крім того, якщо це твердження вірно і відповідає заявленому значенню у 10°C, це може означати певну подібність до теплового двигуна для виконання мітохондрією термодинамічної роботи, хоча цей внесок може складати не більше ніж 4%.

**Висновки.** Висловлено та коротко обговорено сумнівні і критичні зауваження щодо припущення існування гарячих мітохондрій. Ці сумніви суперечать деяким даним і міркуванням, що підтверджують ідею про гарячі мітохондрії. Робиться висновок, що мітохондрії, ймовірно, є більш теплими, ніж навколишнє внутрішньоклітинне середовище, але не в тій мірі, як стверджують Кретъєн зі співавторами, та що термодинамічна ефективність і спосіб функціонування мітохондрії як електрохімічної батареї дуже незначно змінюються навіть при максимальній заявленій зміні її робочої температури.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** гаряча мітохондрія, біофізика мітохондрій, АТФ-синтаза, демон Максвелла, хеміосмотична теорія.

## К ВОПРОСУ О ГОРЯЧИХ МИТОХОНДРИЯХ: НОВЫЕ РАЗРАБОТКИ И ОТКРЫТЫЕ ВОПРОСЫ

Пейман Фахми<sup>a,b</sup>, Мохамед А. Наср<sup>a,c</sup>, Лазаро А. М. Кастанедо<sup>a,d</sup>,  
 Ёдзи Ченг<sup>a,d</sup>, Сайрус А. Тусси<sup>a,e</sup>, Шериф Ф. Матта<sup>a-d,f,\*</sup>

<sup>a</sup>Кафедра хімії і фізики, Університет Маунт-Сент-Винсент, Галіфакс, Нова Шотландія, Канада V3M2J6

<sup>b</sup>Кафедра хімії, Університет Лаваль, Квебек, Квебек, Канада G1V 0A6

<sup>c</sup>Центр передового опыта по стволовым клеткам и регенеративной медицине (CESC), Город науки и техники Зевейл, Город имени 6 октября 12588, Египет

<sup>d</sup>Хімічний факультет, Університет Святої Марії, Галіфакс, Нова Шотландія, Канада V3H3C3

<sup>e</sup>Кафедра біомедицинської інженерії, Університет Хакім Сабзевари, Сабзевар, Іран

<sup>f</sup>Хімічний факультет, Університет Далхаузі, Галіфакс, Нова Шотландія, Канада V3H4J3

\* Тел.: + 1- (902) -457-6142; Факс: + 1- (902) -457-6134; e-mail: cherif.matta@msvu.ca

**Актуальность.** Кретъєн с соавторами (Chrétien *et al.*, PLOS Biology. 2018;16(1):e2003992) недавно предположили, что митохондрии могут быть теплее, чем окружающая среда на целых 10°C.

**Цель работы:** Рассмотреть обоснованность этого утверждения и, если оно верно, пересмотреть его возможные последствия для некоторых аспектов биохимии и биофизики митохондрий.

**Результаты.** В центральном уравнении хеміосмотической теории оба члена, как химического, так и электрического, градиентов энергии Гиббса зависят от температуры: первый явно и второй неявно. Горячая митохондрия, как утверждается, подразумевает 3%-ю поправку для химического градиента, однако мы не можем сейчас оценить соответствующий вклад в электрическую составляющую, поскольку функциональная зависимость напряжения от температуры, насколько известно авторам, не установлена. Кроме того, если это утверждение верно и разность температур соответствует заявленному значению в 10°C, то можно предположить существование некоего подобия теплового двигателя для выполнения митохондрией термодинамической работы, хотя этот вклад может составлять не больше чем 4%.

**Выводы.** Были выдвинуты и кратко обсуждены сомнения и критические замечания относительно предположения о горячих митохондриях. Эти сомнения противоречат некоторым данным и соображениям, которые поддерживают идею о горячих митохондриях. Делается вывод, что митохондрия, вероятно, является более теплой, чем окружающая ее среда, но не в той степени, как утверждают Кретъєн и соавт., и что термодинамическая эффективность и способ функционирования митохондрии в качестве электрохимической батареи нарушаются весьма незначительно даже при максимальном заявленном изменении ее рабочей температуры.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** горячая митохондрия, биофизика митохондрий, АТФ-синтаза, демон Максвелла, хеміосмотическая теория.



Since Philip Siekevitz coined the term, the mitochondrion has been recognized as the “powerhouse of the cell” [1]. A thermal power-plant’s efficiency  $\eta$  is given by the celebrated Carnot formula:

$$\eta = 1 - \left( \frac{T_{\text{cold}}}{T_{\text{hot}}} \right). \quad (1)$$

However, the living cell is considered to operate under isothermal conditions (at a temperature of 37°C in humans), even though this view may require minor revision. For an isothermal system, the efficiency can be described by the more general equation:

$$\eta = \frac{w}{\Delta G(T)} = \frac{w}{\Delta H - T\Delta S}, \quad (2)$$

that is, the ratio of useful work  $w$  (or energy containing product such as ATP) over the energy content of ingested foodstuffs.

Mitochondrial energy efficiency is important in characterizing and understanding a number of diseases (e.g. in insulin resistance of cells that results in diabetes mellitus [2], or in the well-known switching of metabolism to glycolysis in cancerous cells known as the Warburg effect) and in understanding thermodynamic aspects of biological evolution [3]. Thermodynamic efficiency clearly depends on temperature through  $\Delta G$ ’s dependence on the temperature of the surrounding thermal bath in isothermal conditions (Eq. (2)) or on the difference in the temperatures of two compartments in the case of a heat engine when a temperature gradient exists (Eq. (1)). Hence, knowledge of the temperature of operation of the mitochondrion and its surroundings is crucial for a proper understanding of its thermodynamic efficiency.

Using a molecular thermometer mito thermo yellow (MTY) that distributes preferentially inside the mitochondrial matrix [4], Chrétien *et al.* have recently suggested that the mitochondrion operates at temperatures that are higher than their immediate cellular surroundings, temperatures that can perhaps fetch as high as 50°C [5]. Doubts on the interpretation of the experimental data have been cast by Lane [6] to the effect that it may be just a matter of degree, that is, the mitochondrion is probably hotter than the rest of the cell but perhaps not as hot as Chrétien *et al.* claim.

### PROBLEM FORMULATION

Other concerns have been raised against the used MTY by Arai *et al.* who suggested that MTY fluorescence signal can be affected by several parameters that include pH, oxygen species, membrane potential, viscosity, and ionic strength [4]. Moreover, MTY dye has showed different sensitivity depending on the tissue type. Another concern is the possibility of MTY dye leakage from mitochondria which may give false positive results of increased mitochondrial temperature. This leakage has been attributed to the non-covalent bonding of MTY to the mitochondrial aldehyde dehydrogenase [4]. Although it is known that MTY dye binds to mitochondrial aldehyde dehydrogenase, its precise location inside the mitochondrial matrix is not exactly known [7]. Other possible caveats have been discussed by Lane such as the possibility of MTY fluorescence quenching at high concentrations [6].

The experimental design by Chrétien *et al.* has tackled most of the previously mentioned concerns showing, for example, that the decrease in fluorescence was specific to the increased mitochondrial temperature [5]. Other conceptual and theoretical concerns can be raised not against the increase in the mitochondria temperature but against *the extent* of this increase. Baffou *et al.* have previously shown that that the maximal temperature increase by endogenous thermogenesis in cells cannot exceed  $10^{-5}$  K for the entire cell and  $10^{-4}$  K for mitochondria, later known as the  $10^5$  gap, as a critique for reported temperature elevations

measured by thermosensitive probes [8]. However, other authors have criticized some points that were overlooked by Baffou *et al.* and which may make the  $10^5$  gap unnecessarily true under realistic biological conditions and approximations [9, 10].

Lane applied the  $10^5$  gap criticism of endogenous thermogenesis to the  $10^\circ\text{C}$  increase in mitochondrial temperature, doubting the correctness of the  $10^5$  gap calculations and at the same time doubting the  $10^\circ\text{C}$  increase value [6]. Finally, a conceptual problem was raised by Lane about what the meaning of temperature measurement in mitochondria if a steep temperature gradient ( $10^\circ\text{C}$ ) exists since – by definition – temperature is the average kinetic energy [6].

Much more dramatically, and based on an order of magnitude estimation of the power consumption of a growing bacterial cell and the thermal conductivity of water, Sear challenges the Chrétien *et al.*'s finding and arrives at a maximum estimated energy flux of  $1 \text{ W/m}^2$  which translates into a temperature gradient of a maximum of  $1 \text{ K/m}$ , that is, a maximum gradient of the order of a  $\mu\text{K}$  across the dimensions of the cell [11]. Sear's challenge is to essentially falsify the proposition of any notable temperature difference between cell compartments since at the most these would be in the micro-Kelvin range.

However, the fact remains as to how can one explain away Chrétien *et al.*'s results? And also the fact that other experimenters have come to similar conclusions, albeit not as dramatic as Chrétien *et al.*'s  $10^\circ\text{C}$  gradient. For instance, Shen *et al.* use rhodamine B methyl ester dye as a mitochondrial thermometer to establish that the natural anti-inflammatory autacoid prostaglandin  $\text{E}_2$  ( $\text{PGE}_2$ ) can decrease the intracellular temperature of hepatocytes [12]. These workers argue that Chrétien *et al.*'s findings are consistent with theirs since  $\text{PGE}_2$  downregulates metabolism and, hence, heat production in the hepatocytes [12]. Using fluorescent thermometry, Okabe *et al.* report a  $1^\circ\text{C}$  gradient between the cell nucleus and the cytosol [13, 14]. The presumed existence of (significant) intracellular temperature gradients motivated researchers to develop molecular thermometers that can penetrate mammalian cells and yeast (see for example Ref. [15]).

## DISCUSSION

If indeed the mitochondrion is hotter than its surroundings, even by a few degrees, then some of our understanding of mitochondrial biochemistry and biophysics may possibly need to be slightly revisited. We insist on the adjective “slight” since even in the most extreme case of  $\sim 10^\circ\text{C}$  temperature gradient, this would translate through Eq. (1) into a theoretical maximum of only  $\sim 4\%$  revision of the efficiency, while this number drops to a maximum of  $\sim 0.3\%$  for a  $1^\circ\text{C}$  gradient which is, at best, a perturbation that is much less than any hoped-for precision of intracellular conditions. One has also to consider the local random fluctuation of temperature in very small confined spaces in the spatial dimensions [16] as well as in the temporal dimension [17].

Hence, and more explicitly, such a revision may include a reconsideration of the explicit dependence of the first term ( $\Delta G_{\text{chem.}}$ ) in the Gibbs energy expression of the chemiosmotic energy (Eq. (1)) on  $T$  and also the indirect effect of the temperature on the second electric term ( $\Delta G_{\text{elec.}}$ ):

$$\Delta G = \underbrace{2.3 nRT \Delta \text{pH}}_{\Delta G_{\text{chem.}}} + \underbrace{n \mathcal{F} \Delta \psi}_{\Delta G_{\text{elec.}}}, \quad (3)$$

where  $\Delta \text{pH} = \text{pH}_{\text{in}} - \text{pH}_{\text{out}}$ , and Faraday's constant  $\mathcal{F} = 96.485 \text{ kJ} \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ , which yields for a  $\Delta \text{pH} = 1$  unit and  $37^\circ\text{C}$ :

$$\Delta G = 2.3 RT + \mathcal{F} (0.25 \text{ V}) \approx \underbrace{6 \text{ kJ}}_{\substack{\Delta G_{\text{chem.}} \\ (20\%)}} + \underbrace{24 \text{ kJ}}_{\substack{\Delta G_{\text{elec.}} \\ (80\%)}} \approx 30 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}, \quad (4)$$

where mol here refers to a mole of protons.

Now if we assume a temperature of 320 K (i.e., 47°C, ten degrees higher than normal body temperature), and focusing only on the chemical term (ignoring the potential term since we do not know the functional dependence of the potential on the temperature at this point), the change in  $\Delta G$  per proton would be then:

$$\Delta\Delta G_{\text{chem.}} = (\Delta G_{320\text{ K}} - \Delta G_{310\text{ K}})_{\text{chem.}} = 2.3 \times 1 \times R \times 10 \times 1 \approx 0.2 \text{ kJ.mol}^{-1}, \quad (5)$$

for a  $\Delta\text{pH}$  of one unit, which is a very small correction of the order of 3% of the chemical (minor) term. At this point we have no estimates of the effect of temperature on the dominant electrical term. As for temperature, pH, and concentrations, and in view of the small physical space of the mitochondrial “capacitor”, one must also account for the local and temporal fluctuation of the voltage and its associated electric field across the inner mitochondrial membrane [18, 19]. Furthermore, the obligatory energy dissipation by ATP synthase, a Maxwell demon as it acts as a molecular sorting machine [20–22], should be mildly revised as well whereby the minimum energy of  $k_{\text{B}}T\ln 2$  per proton crossing it should be increased by 10  $k_{\text{B}}T\ln 2$  (which represents a correction of  $\sim 3\%$  at the most). Finally, perhaps one can also consider a minor aspect of a “heat engine” operation in the mitochondrion whereby one can add an energy term proportional to  $[1 - (T_{\text{cold}}/T_{\text{hot}})]$ .

None of the above considerations touch upon another crucial aspect that would be far more (exponentially) sensitive to a temperature difference and that is kinetics aspects. In fact, just from simple Arrhenius law, for a reaction with an activation energy of say 50 kJ/mol, the ratios of the rate constants’ in the two extreme cases of 1°C temperature gradient (37°C  $\rightarrow$  38°C) and 10°C gradient (37°C  $\rightarrow$  47°C) would be bracketed by:

$$\sim 1.06 \text{ (at } 38^\circ\text{C)} \leq \left[ \frac{k_2}{k_1} = e^{\frac{E_a}{R} \left( \frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)} \right] \leq \sim 1.83 \text{ (at } 47^\circ\text{C)}, \quad (6)$$

implying an almost doubling of reactions (with  $E_a = 50$  kJ/mol) in the mitochondrion at the higher end of the temperature gradient scale, and a 6% rise in the rate of this reaction for a 1°C gradient.

Nasr *et al.* have recently examined some of the biological consequences of a possible “hot mitochondrion” [3]. Among the problems that such a higher temperature mitochondrion is representing is that of the instability of mitochondrial macromolecules, particularly proteins and nucleic acids, at elevated temperatures as they can approach or reach their melting temperatures. This is further complicated by the known increase in reactive oxygen species (ROS) production at these higher temperatures (see Ref. [3] and references therein). Nasr *et al.* suggest that heat shock proteins (Hsps), abundant in the mitochondria and primarily thought to act as molecular chaperones to ensure the proper folding of imported proteins, may also act according to their conventional role as stabilizers of protein structures at higher temperatures. These Hsps can also have a secondary role as protectants against the temperature-dependent increase in ROS levels. These propositions are corroborated by the presence of other compatible solutes (known thermoprotectants and stabilizers of protein structures) such as di-*myo*-inositol-1,1’-phosphate, and also by the richness of at least some mitochondrial nucleic acids encoding for Hsps in purine tracks compared to their cytosolic counterparts [3].

Purine tracks are long segments of a nucleic acid that have purine bases stacked one on the top of the next, and - given the larger aromatic rings of purines compared to pyrimidines - this imparts added stability to these nucleic acids presumably to confront the hotter mitochondrial environment [3]. The very presence of these Hsps and their proposed role as structural stabilizers against the insults of the higher temperature argues in favor of the

proposition that the mitochondrion could be indeed “hotter” than its surroundings, but the open question appears to be “by how much?”

Hotter or not, the fact remains that temperature must be maintained within a range that allows for the proper functioning of the mitochondrion. So the next question enquires on how the mitochondrion is capable of maintaining its thermal homeostasis? How does it regulate its temperature within an acceptable range? The authors are proposing a feedback mechanism for the regulation of the temperature of the mitochondrion [23].

The proposed control loop is based on the realization that the rate limiting step of the electron transport chain (ETC) is the lateral diffusion of ubiquinone/ol (in its various oxidation states, collectively referred to as “UQ” species) within the inner mitochondrial membrane [24, 25]. An increase in the rate of heat production will be associated with a rise in the temperature of the mitochondrion, the higher temperature will decrease the viscosity of the membrane which, in turn, increases the diffusion coefficients of UQ. The faster mobility of UQ accelerates the electron transport chain, and as a result enhances the rate of proton pumping into the inter-membrane gap. The higher gradient created as a result will be associated with a stronger (chemiosmotic) electric field perpendicular to the membrane (and larger voltage across the inner mitochondrial membrane). As any capacitor, this electric field exerts a pressure  $P$  over the capacitor dielectric medium (here the phospholipid membrane itself) according to:

$$P = \frac{\varepsilon}{2} E^2, \quad (7)$$

where  $\varepsilon$  is the dielectric constant of the membrane and  $E$  is the magnitude of the electric field normal to the membrane.

This increase in the pressure on the membrane liquid crystal, in turn, increases its viscosity which reduces the diffusion coefficient of UQ putting the breaks on the further pumping of protons and of heat generation. The loop can operate in the opposite mode if the heat production is lower than optimal. This positive/negative feedback mechanism provides an explanation for the thermal homeostasis needed to maintain the mitochondrial temperature within working bounds.

## CONCLUSION

Whether the mitochondrion is hotter than its surrounding remains debated. The literature appears to point to a hotter mitochondrion but with probably a lesser temperature gradient than suggested by Chrétien *et al.* The implications on the thermodynamic efficiency of the mitochondrion are, at best, a small perturbation and probably negligible within the biological context. However, and due to the exponential nature of Arrhenius equation, a small rise in temperature can have a considerable effect on the kinetics of the reactions of the Krebs cycle and of the electron transport chain.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Professor Thank-Tung Nguyen Dang (*Laval University*), Professor Galina I. Dovbeshko (*National Academy of Sciences of Ukraine*), Professor Stephen L. Bearne (*Dalhousie University*), Professor Nagwa El-Badri (*Zewail City of Science and Technology*), and Professor Bohdan L. Luhovyy (*Mount Saint Vincent University*) for helpful discussions and suggestions. The authors also thank Dr. Anthonie W. Muller for his constructive comments at the proofs stage.

The authors are grateful to the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), the Canada Foundation for Innovation (CFI), Mount Saint Vincent University, Université Laval, and Saint Mary’s University for financial and material support.

**CONFLICT OF INTEREST**

The authors declare no conflicts of interest.

**Author's ORCID ID**

Cherif Matta:  <https://orcid.org/0000-0001-8397-5353>

**REFERENCES**

1. Siekevitz P. Powerhouse of the cell. *Sci. Am.* 1957;197(1):131-40.
2. Crescenzo R, Bianco F, Mazzoli A, Giacco A, Liverini G, Iossa S. Mitochondrial efficiency and insulin resistance. *Front. Physiol.* 2014;5:512. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00512>
3. Nasr MA, Dovbeshko GI, Bearne SL, El-Badri N, Matta CF. Heat shock proteins in the "hot" mitochondrion: Identity and putative roles. *BioEssays* 2019;41(9):1900055. <https://doi.org/10.1002/bies.201900055>
4. Arai S, Suzuki M, Park SJ, Yoo JS, Wang L, Kang N-Y, Ha H-H, Chang Y-T. Mitochondria-targeted fluorescent thermometer monitors intracellular temperature gradient. *Chem. Commun.* 2015;51:8044-47. <https://doi.org/10.1039/C5CC01088H>
5. Chrétien D, Bénit P, Ha H-H, Keipert S, El-Khoury R, Chang Y-T, Jastroch M, Jacobs HT, Rustin P, Rak M. Mitochondria are physiologically maintained at close to 50°C. *PLOS Biology.* 2018;16(1):e2003992. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2003992>
6. Lane N. Hot mitochondria? *PLOS Biology.* 2018;16(1):e2005113. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2005113>
7. Kim YK, Lee J-S, Bi X, Ha H-H, Ng SH, Ahn Y-H, Lee J-J, Wagner BK, Clemons PA, Chang Y-T. The binding of fluorophores to proteins depends on the cellular environment. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2011 March 11;50(12):2761-2763. <https://doi.org/10.1002/anie.201007626>
8. Baffou G, Rigneault H, Marguet D, Jullien L. A critique of methods for temperature imaging in single cells. *Nat. Methods.* 2014;11:899-901. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3073>
9. Suzuki M, Zeeb V, Arai S, Oyama K, Ishiwata S. The 10<sup>5</sup> gap issue between calculation and measurement in single-cell thermometry. *Nat. Methods.* 2015;12:802-803. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3551>
10. Baffou G, Rigneault H, Marguet D, Jullien L. Reply to: "Validating subcellular thermal changes revealed by fluorescent thermosensors" and "The 10<sup>5</sup> gap issue between calculation and measurement in single-cell thermometry". *Nat. Methods.* 2015;12:802-3. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3551>
11. Sear RP. Diffusiophoresis in cells: A general nonequilibrium, nonmotor mechanism for the metabolism-dependent transport of particles in cells. *Phys. Rev. Lett.* 2019 Mar 29;122(12):128101. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.122.128101>
12. Shen L, Xie T-R, Yang R-Z, Chen Y, Kang J-S. Application of a dye-based mitochondrion-thermometry to determine the receptor downstream of prostaglandin E2 involved in the regulation of hepatocyte metabolism. *Scient. Rep.* 2018;8:13065. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31356-y>
13. Okabe K, Inada N, Gota C, Harada Y, Funatsu T, Uchiyama S. Intracellular temperature mapping with a fluorescent polymeric thermometer and fluorescence lifetime imaging microscopy. *Nature Commun.* 2012;3:705. <https://doi.org/10.1038/ncomms1714>
14. Hayashi T, Fukuda N, Uchiyama S, Inada N. A cell-permeable fluorescent polymeric thermometer for intracellular temperature mapping in mammalian cell lines. *PLoS ONE.* 2015 Feb 18;10(2):e0117677. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117677>
15. Tsuji T, Yoshida S, Yoshida A, Uchiyama S. Cationic fluorescent polymeric thermometers with the ability to enter yeast and mammalian cells for practical intracellular temperature measurements. *Anal. Chem.* 2013;85:9815-9823. <https://doi.org/10.1021/ac402128f>
16. Johnson HA. Thermal noise and biological information. *Quarter. Rev. Biol.* 1987;62:141-152.
17. Hickman J, Mishin Y. Temperature fluctuations in canonical systems: Insights from molecular dynamics simulations. *Phys. Rev. B.* 2016;94(18):184311. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.94.184311>
18. Procopio J, Fornes J. Fluctuations of the proton-electromotive force across the inner mitochondrial membrane. *Phys. Rev. E.* 1997;55(5):6285. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.55.6285>
19. Procopio J, Fornes JA. Fluctuation-dissipation theorem imposes high-voltage fluctuations in biological ionic channels. *Phys. Rev. E.* 1995 Jan;51(1):829-831. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.51.829>
20. Matta CF, Massa L. Notes on the energy equivalence of information. *J. Phys. Chem. A* 2017; 121(47):9131-9135. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.7b09528>
21. Matta CF, Massa L. Chapter 1: Information Theory and the Thermodynamic Efficiency of Biological Sorting Systems: Case Studies of the Kidney and of Mitochondrial ATP-Synthase. In: Bagchi D, editor. *Sustained Energy for Enhanced Human Functions and Activity.* The Netherlands: Elsevier; 2017. p. 3-29.
22. Matta CF, Massa L. Energy equivalence of information in the mitochondrion and the thermodynamic efficiency of ATP synthase. *Biochemistry.* 2015 Sep 1;54(34):5376-8. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.5b00834>

23. Fahimi P, Castanedo LAM, Nguyen-Dang T-T, Matta CF. Coupled electrical-thermal feedback control of the inner mitochondrial proton gradient. A hypothesis. Submitted for publication (2020).
24. Mathai JC , Sauna ZE, John O, Sitaramam V. Rate-limiting step in electron transport: Osmotically sensitive diffusion of quinones through voids in the bilayer. *J. Biol. Chem.* 1993 Jul 25;268(21):15442-54.
25. Moncelli MR, Herrero R, Becucci L, Guidelli R. Kinetics of electron and proton transfer to ubiquinone-10 and from ubiquinol-10 in a self-assembled phosphatidylcholine monolayer. *Biochim. Biophys. Acta.* 1998 May 27;1364(3):373-84. [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(98\)00061-9](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(98)00061-9)





Original article

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-03>

UDC 577.359

## LUMINESCENT AlN:Mn NANOPARTICLES FOR OPTICAL IMAGING OF BIOLOGICAL MATERIALS

**B. Berzina, L. Trinkler, V. Korsaks, R. Ruska**

*Institute of Solid State Physics, University of Latvia, 8 Kengaraga Str., Riga, LV-1063, Latvia*

*e-mail: [baiber@latnet.lv](mailto:baiber@latnet.lv)*

Submitted November 12, 2019

Accepted January 30, 2020

**Background:** Elaboration of new luminescent nanomaterials for imaging of biological materials including cells of living organisms and their parts is highly actual. These materials must meet a number of requirements such as low toxicity, inherence of intensive luminescence, low costs of raw material and simple synthesis methods. AlN nanopowder is one of such prospective materials fitting the above requirements. Our long time investigations on spectral characteristics for III group element nitrides allows chose of doped AlN nanopowder as prospective candidate for developing of luminescent markers for imaging of biological materials.

**Objectives:** The aim of the present study is spectral characterization of AlN nanopowder doped with Mn and evaluation of its use as luminescent marker for biological materials.

**Materials and methods:** AlN nanopowder with average size of polycrystalline grains of 60 nm and the same doped with Mn were synthesized in Institute of Inorganic Chemistry, Riga Technical University. Photoluminescence and its excitation spectra of the materials were studied at room temperature using a self-made set-up.

**Results:** It was found that in undoped AlN nanopowder at room temperature luminescence of native defects forms a wide and complex band peaking at 415 nm. This blue luminescence can be excited with ultraviolet light from two spectral regions around 315–340 nm and 260 nm. Two luminescence mechanisms are proposed dependent on the spectral region of exciting light. The first of them results in the intra-center luminescence, but the second one is recombination luminescence.

Incorporation of Mn atoms in the crystalline lattice of AlN nanopowder forming AlN:Mn NP results in appearance of intensive red luminescence at 600 nm, which can be excited with light from two excitation bands at 260 and 480 nm. Two mechanisms responsible for an appearance of the red luminescence of Mn are proposed. They are the intra-center luminescence and recombination luminescence mechanisms. In this case the red Mn luminescence prevails and the blue luminescence characterizing the host material has not been observed.

**Conclusions:** AlN nanopowder doped with Mn atoms is a prospective material for use as luminescent marker for imaging of biological materials. Properties of this material are in a good agreement with the main requirements obligated to biological materials: *i)* AlN NP has low toxicity; *ii)* AlN:Mn NP possesses intensive red luminescence at 600 nm, which can be excited either with the ultraviolet light around 260 nm or with visible light around 480 nm; *iii)* it is relatively cheap material and it can be synthesized using simple synthesis methods.

**KEY WORDS:** aluminum nitride; nanopowder; aluminum nitride doped with Mn; photoluminescence; excitation spectra; biological materials.

## ЛЮМІНІСЦЕНТНІ AlN:Mn НАНОЧАСТИНКИ ДЛЯ ОПТИЧНОГО ЗОБРАЖЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ МАТЕРІАЛІВ

**Б. Берзіна, Л. Трінклер, В. Корсакс, Р. Руска**

*Інститут твердого тіла, Університет Латвії, вул. Кенгарага, 8, Рига, LV-1063, Латвія*

**Актуальність.** Розробка нових люмінесцентних наноматеріалів для візуалізації біологічних матеріалів, включаючи клітини та їх складові, є досить актуальною. Ці матеріали повинні відповідати ряду вимог, таких як низька токсичність, висока інтенсивність люмінесценції, низькі витрати сировини та прості методи синтезу. Нанопорошок AlN — один з таких перспективних матеріалів, що відповідають вищезазначеним вимогам. Наші багаторічні дослідження

спектральних характеристик нітридів елементів III групи дозволяють обрати легований нанопорошок AlN для розробки люмінесцентного маркера для візуалізації біологічних матеріалів.

**Мета роботи.** Мета цього дослідження — спектральна характеристика нанопорошку AlN, легovanого Mn, та оцінка можливості його використання як люмінесцентного маркера для біологічних матеріалів.

**Матеріали і методи.** Нанопорошок AlN із середнім розміром полікристалічних зерен 60 нм та Mn такого ж розміру зерен, був синтезований в Інституті неорганічної хімії Ризького технічного університету. Фотолюмінесценцію та спектри збудження матеріалів вивчали при кімнатній температурі за допомогою установки, виготовленої в нашому інституті.

**Результати.** Було встановлено, що в нелегованому нанопорошку AlN при кімнатній температурі люмінесценція нативних дефектів утворює широку і складну смугу на довжині хвилі 415 нм. Ця синя люмінесценція може збуджуватися ультрафіолетовим світлом з двох спектральних областей приблизно 315–340 нм і 260 нм. Запропоновано два механізми люмінесценції залежно від спектральної області збуджуючого світла. Першим з них є внутрішньоцентрова люмінесценція, а другим — рекомбінаційна люмінесценція.

Включення атомів Mn у кристалічну решітку нанопорошку AlN, що утворює AlN:Mn наночастинки, призводить до появи інтенсивної червоної люмінесценції при 600 нм, яка може збуджуватися світлом з двох смуг збудження на 260 та 480 нм. Запропоновано два механізми, що відповідають за появу червоної люмінесценції Mn: внутрішньоцентрова та рекомбінаційна люмінесценція. У цьому випадку переважає червона емісія Mn і не спостерігається синя люмінесценція, що характеризує матеріал нелегований AlN.

**Висновки.** Нанопорошок AlN, легований атомами Mn, є перспективним матеріалом для використання як люмінесцентного маркера для зображення біологічних матеріалів. Властивості цього матеріалу добре узгоджуються з основними вимогами до біологічних маркерів: *i)* AlN наночастинки мають низьку токсичність; *ii)* AlN:Mn наночастинки мають інтенсивну червону люмінесценцію при 600 нм, яку можна збуджувати або ультрафіолетовим світлом близько 260 нм, або видимим світлом близько 480 нм; *iii)* це відносно дешевий матеріал, і його можна отримати за допомогою простих методів синтезу.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** нітрид алюмінію; нанопорошок; нітрид алюмінію, легований Mn; фотолюмінесценція; спектри збудження; біологічні матеріали.

## ЛЮМИНИСЦЕНТНЫЕ AlN:Mn НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ ОПТИЧЕСКОГО ИЗОБРАЖЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Б. Берзина, Л. Тринклер, В. Корсакс, Р. Руска

*Институт твердого тела, Университет Латвии, ул. Кенгарага, 8, Рига, LV-1063, Латвия*

**Актуальность.** Разработка новых люминесцентных наноматериалов для визуализации биологических материалов, включая клетки и их составляющие, является довольно актуальной. Эти материалы должны отвечать ряду требований, таких как низкая токсичность, высокая интенсивность люминесценции, низкие расходы сырья и простые методы синтеза. Нанопорошок AlN — один из таких перспективных материалов, которые отвечают вышеупомянутым требованиям. Наши многолетние исследования спектральных характеристик нитридов элементов III группы позволяют избрать легированный нанопорошок AlN для разработки люминесцентного маркера для визуализации биологических материалов.

**Цель работы.** Цель этого исследования — спектральная характеристика нанопорошка AlN, легированного Mn, и оценка возможности его использования как люминесцентного маркера для биологических материалов.

**Материалы и методы.** Нанопорошок AlN со средним размером поликристаллических зерен 60 нм и Mn с таким же размером зерен, был синтезирован в Институте неорганической химии Рижского технического университета. Фотолюминесценцию и спектры возбуждения материалов изучали при комнатной температуре с помощью установки, изготовленной в нашем институте.

**Результаты.** Было установлено, что в нелегированном нанопорошке AlN при комнатной температуре люминесценция нативных дефектов образует широкую и сложную полосу на длине волны 415 нм. Эта синяя люминесценция может возбуждаться ультрафиолетовым светом из двух спектральных областей приблизительно 315–340 нм и 260 нм. Предлагается два механизма люминесценции в зависимости от спектральной области возбуждающего света. Первым из них является внутринецентровая люминесценция, а вторым — рекомбинационная люминесценция.

Включение атомов Mn в кристаллическую решетку нанопорошка AlN, что образует AlN:Mn наночастицы, приводит к появлению интенсивной красной люминесценции при 600 нм, которая

может возбуждаться светом с двух полос возбуждения на 260 и 480 нм. Предлагается два механизма, которые отвечают за появление красной люминесценции Mn: внутреннецентрированная и рекомбинационная люминесценция. В этом случае преобладает красная эмиссия Mn и не наблюдается синяя люминесценция, которая характеризует материал нелегированный AlN.

**Выводы.** Нанопорошок AlN, легированный атомами Mn, является перспективным материалом для использования в качестве люминесцентного маркера для изображения биологических материалов. Свойства этого материала хорошо согласуются с основными требованиями к биологическим маркерам: *i)* AlN наночастицы имеют низкую токсичность; *ii)* AlN:Mn наночастицы имеют интенсивную красную люминесценцию при 600 нм, которую можно возбуждать или ультрафиолетовым светом вблизи 260 нм, или видимым светом вблизи 480 нм; *iii)* это относительно дешевый материал, и его можно получить с помощью простых методов синтеза.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** нитрид алюминия; нанопорошок; нитрид алюминия, легированный Mn; фотолюминесценция; спектры возбуждения; биологические материалы.

At present elaboration of new luminescent nanomaterials is in progress due to their suitability in different fields of application including smart technologies and life sciences. One direction of this application can be related to biology and medicine. Due to a small size of nanomaterials being much smaller than the dimensions of the cells of living beings, it is possible to use the luminescent nanomaterials as luminescent markers for biological materials or controllable agents for drug transport in medicine. In order to use a particular material as a luminescent marker its properties must satisfy a number of requirements: *i)* low toxicity of the material, *ii)* intensive and controllable luminescence of the material in a convenient spectral region, *iii)* low costs of raw material and simple synthesis methods. Our long-time investigations on spectral properties of III group element nitrides allow prediction that doped AlN nanopowder in general could satisfy these requirements.

Aluminum nitride (AlN) is luminescent wide band gap solid state material with wurtzite crystalline structure possessing a lot of excellent properties such as high thermal stability and hardness, high thermal conductivity and low electrical conductivity [1, 2]. Different forms of AlN material are known including bulk materials such as the single crystals and ceramics, and nanosize ones (nano particles, nanorods, nanotubes etc.). AlN is characterized with a wide band gap exceeding 6 eV [3–5]. Different types of defects are characteristic for this material including point defects, which are mainly responsible for the luminescent properties of the material [6–9]. The main point defects in AlN crystalline lattice can be related to the host material caused by Al or N vacancies ( $v_{Al}$ ,  $v_N$ , respectively), interstitials ( $i_{Al}$ ,  $i_N$ ) and others. Besides, the point defects can be caused by the dopants such as oxygen and carbon atoms substituting for the host nitrogen which are forming the so-called native defects incorporated during the synthesis of the material or specially added dopants. All these defects are forming their energy levels inside the band gap in thus determining optical properties of the material.

The aim of this study is spectral characterization of AlN nanopowder doped with Mn together with evaluation of its use as luminescent marker for biological materials.

## MATERIALS AND METHODS

AlN nanopowder (NP) consisting of polycrystalline grains with average size of 60 nm was synthesized in Institute of Inorganic Chemistry, Riga Technical University by using plasma-chemical synthesis [10]. Raw aluminum powder (99.4%) with particle size in the range of 20–40  $\mu\text{m}$  was injected and evaporated into nitrogen (99.9%) high-frequency plasma flow. In order to promote formation of AlN and to reduce particle growth ammonia was introduced additionally in high temperature flow containing aluminum vapors.

AlN NP doped with Mn — AlN:Mn NP was prepared in similar way by injection of mechanical mixture of aluminum with manganese (Fluka, 99%) into plasma flow.

Photoluminescence (PL) and excitation (PLE) spectra of AlN NP and doped AlN:Mn NP were measured at room temperature (RT) using a home-made set-up, consisting of the

following parts: *i*) a sample holder mounted inside of the sample chamber of a closed cycle refrigerator (CCS-100/204, Janis Research Corporation); *ii*) a light source — a deuterium lamp (LD-400) for luminescence excitation and *iii*) a luminescence recording system containing the grating monochromator (Andor Schamrock SR-303i-B) together with the photomultiplier (Hamamatsu H7468-03). All necessary spectral corrections related to the measurements are taken into account.

## RESULTS AND DISCUSSION

Spectral characteristics of the raw material — AlN NP and doped AlN:Mn NP have been studied at room temperature.

**AlN NP.** Photoluminescence and its excitation spectra of AlN NP are shown on Fig. 1, a, and b, respectively. As it is seen from the Fig. 1, a, irradiation of the AlN NP sample with light from the ultraviolet (UV) spectral region results in appearance of a wide and complex blue luminescence band peaking at 415 nm (the blue luminescence — BL). This BL can be excited within a wide spectral region of UV light consisting of several sub-bands (Fig. 1, b). This spectral region covering the defect-induced absorption in AlN NP can be divided into I and II spectral intervals.

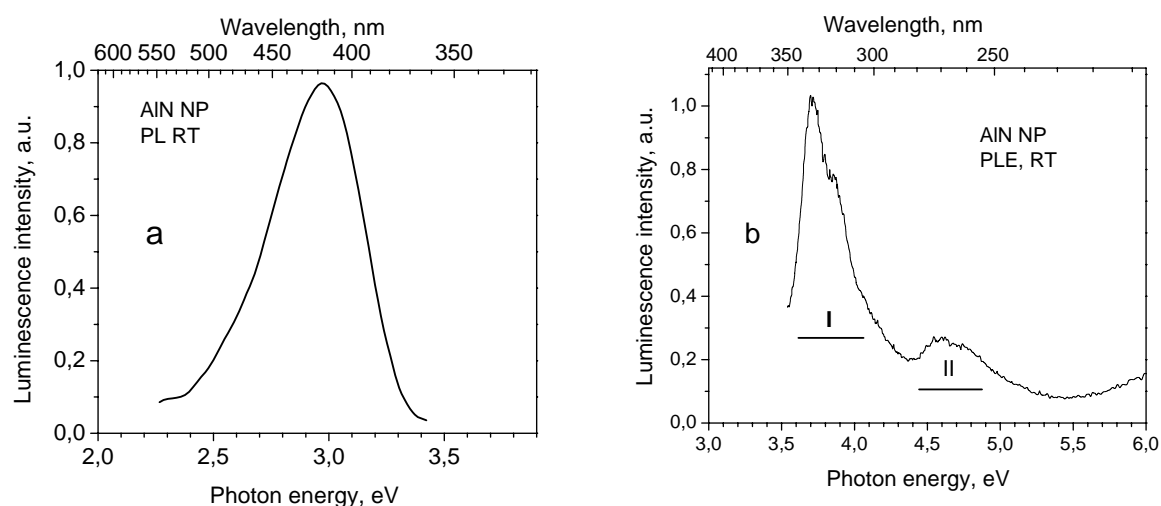


Fig. 1. AlN NP, RT. a — photoluminescence spectrum at 335 nm excitation at room temperature. b — luminescence excitation spectrum.

Analysis of the spectra depicted on Fig. 1, a, and b allows revealing of two mechanisms causing the native defect-induced BL. One of them is intra-center mechanism, when light absorption and emission occur inside one and the same defect. This mechanism is realized when the exciting UV light corresponds to the spectral interval I depicted on Fig. 1, b. This assumption is based on the following facts. Firstly, the maxima of the luminescence and excitation bands are situated very close and difference between them (the so-called Stokes shift) does not exceed 1 eV (Fig. 1, a, and b), which is characteristic for the intra-center processes. Secondly, our recent measurements of luminescence kinetics showed that in this case the BL decay forms an exponential pulse with the decay time of an order of  $10^{-7}$  s, characterizing the intra-center luminescence [11].

When the exciting light is corresponding to the II spectral interval (Fig. 1, b) the BL formation most credibly is caused by the recombination processes. In this case there are two different but mutually interacting defect types, when one of them is responsible for absorption of the exciting light, but the other one — for light emission. There are several observations

speaking in favor of this assumption. *i)* As it is seen from the (Fig. 1), in this case the Stokes shift energy is about 2 eV, considerably exceeding the value typical for the intra-center luminescence processes. *ii)* Besides, it is known that irradiation of bulk AlN (ceramics) with light from the spectral interval of 250–270 nm results in appearance of recombination processes causing the luminescence of oxygen-related defects [12–17] together with an energy storage in material, which can be released via thermally or optically stimulated processes [18–21].

For identification of the defect types responsible for the BL in AlN NP, at first we can exclude the well-known oxygen-related defects observed in bulk AlN, which also emit the blue luminescence [16], because the total PLE spectrum of this luminescence differs from that observed in the present investigation. We assign the native defects, which are responsible for the BL luminescence in AlN NP to nitrogen vacancy type defects known as the so-called F-centers [22]. This assumption is in a good agreement with the results obtained from the theoretical studies of AlN where presence of deep energy levels within the band gap of AlN caused by nitrogen vacancy type defects are revealed [23–25].

The BL mechanisms and involved defects are more detailed discussed in our recent paper [31].

**AlN:Mn NP.** PL and PLE spectra of AlN:Mn NP measured at RT are depicted on Fig. 2, a and b, respectively. The PL spectrum consists of a single band peaking at 600 nm, having an asymmetric long wavelength side extending up to 800 nm, which could include several sub-bands with low intensity. The spectral position of 600 nm for Mn luminescence is in a good agreement with those observed by other authors [26, 27]. The PLE spectrum of Mn luminescence consists of two main bands (Fig. 2, b). One of them at 480 nm with a shoulder at 400 nm can be related to the direct absorption of Mn defects, whereas the PLE band at 260 nm seems to be coincident with excitation of the recombination BL band in AlN NP (Fig. 1, b). It allows assumption that irradiation of AlN:Mn NP with 260 nm light results in 600 nm Mn luminescence caused by recombination processes.

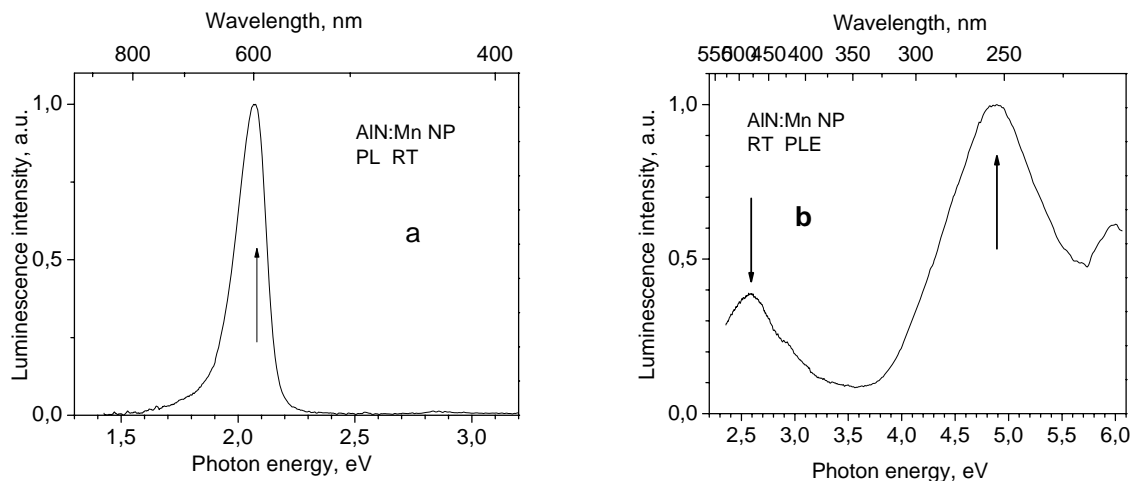


Fig. 2. AlN:Mn NP, RT. a — photoluminescence spectrum under 260 nm excitation. b — luminescence excitation spectrum.

In summary, the results observed allow conclusion that in AlN:Mn NP Mn impurity is forming a luminescence center, which can be excited either directly by 480 nm light absorption accordingly to the intra-center luminescence mechanism, or through absorption of 260 nm light resulting in recombination luminescence mechanism. Besides, for AlN:Mn NP the BL at 415 nm which is characteristic for AlN NP (Fig. 1, a) is not observable. It allows

assumption, that for doped AlN NP the impurity luminescence is usually more intensive than that caused by the nitrogen vacancy type native defects.

Spectral properties of AlN:Mn NP emitting intensive red luminescence are clearing the way of material for application as luminescent markers of biological objects. Besides, it is reasonably to consider, that AlN NP is with low toxicity, because it is never mentioned in the lists of toxic nanomaterials observable in the annual reports of leading supervising companies [28-30]. Nevertheless, it seems reasonable to test the toxicity of AlN NP in future.

In summary, we can conclude that properties of AlN nanopowder doped with Mn atoms are in a good agreement with the main requirements for biological sensors: *i)* it does not belong to the materials with high toxicity; *ii)* AlN:Mn NP possesses intensive red luminescence at 600 nm, which can be excited either with the ultraviolet light around 260 nm or with visible light around 480 nm; *iii)* it is relatively cheap material and it can be synthesized using simple synthesis methods.

### CONCLUSIONS

In summary, the present spectral investigations of AlN nanopowder and the same doped with Mn atoms allow the following conclusions. *i)* In AlN NP the native defect-caused blue luminescence around 415 nm appears, which can be excited either via intra-center processes with UV light from 315–340 nm spectral region or through recombination processes caused by the sample irradiation with light from 250–270 nm spectral region. The luminescent defects responsible for the BL can be related to the so-called F-centers based on nitrogen vacancies. *ii)* For AlN:Mn NP the Mn-caused intensive red luminescence at 600 nm is predominant, which can be excited either by UV light around 260 nm or visible light at 400–480 nm. *iii)* AlN:Mn NP is a prospective material for use as a luminescent marker for imaging of biological materials.

### ACKNOWLEDGMENT

This work has been supported by the HORIZON 2020 project “Asymmetry of biological membrane: theoretical, experimental and applied aspects” (690853-assymcurv-H2020-MSCA-RISE-2015).

### CONFLICT OF INTEREST

The authors report that there is no conflict of interest.

### AUTHORS' ORCID ID

B. Berzina  <https://orcid.org/0000-0003-0896-0199>

L. Trinkler  <https://orcid.org/0000-0003-0477-8736>

### REFERENCES

1. Palmer DW. Electronic Energy Levels in Group-III Nitrides. In: Bhattacharya P, Fornari R, Kamimura H, editors. Comprehensive Semiconductor Science and Technology. Vol. 4, Materials, Preparation, and Properties. Amsterdam: Elsevier; 2011. p. 390–447. <https://doi.org/10.1016/b978-0-44-453153-7.00114-0>
2. Rutz RF. Ultraviolet electroluminescence in AlN. Appl Phys Lett. 1976;28(7):379–81. <https://doi.org/10.1063/1.88788>
3. Feneberg M, Leute RAR, Neuschl B, Thonke K, Bickermann M. High-excitation and high-resolution photoluminescence spectra of bulk AlN. Phys Rev B. 2010 Aug 16;82(7):075208. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.82.075208>
4. Li J, Nam KB, Nakarmi ML, Lin JY, Jiang HX, Carrier P, et al. Band structure and fundamental optical transitions in wurtzite AlN. Appl Phys Lett. 2003 Dec 22;83(25):5163-5. <https://doi.org/10.1063/1.1633965>
5. Silveira E, Freitas JA, Schujman SB, Schowalter LJ. AlN bandgap temperature dependence from its optical properties. J Cryst Growth. 2008 Aug;310(17):4007-10. <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2008.06.015>



6. Tansley TL, Egan RJ. Point-defect energies in the nitrides of aluminum, gallium, and indium. *Phys Rev B*. 1992 May 15;45(19):10942-50. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.45.10942>
7. Gorczyca I, Svane A, Christensen N. Calculated defect levels in GaN and AlN and their pressure coefficients. *Solid State Communications*. 1997 Mar;101(10):747-52. [https://doi.org/10.1016/S0038-1098\(96\)00689-8](https://doi.org/10.1016/S0038-1098(96)00689-8)
8. Mattila T, Nieminen RM. Point-defect complexes and broadband luminescence in GaN and AlN. *Phys Rev B*. 1997 Apr 15;55(15):9571-6. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.55.9571>
9. Koppe T, Hofsäuss H, Vetter U. Overview of band-edge and defect related luminescence in aluminum nitride. *Journal of Luminescence*. 2016 Oct;178:267-81. <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2016.05.055>
10. Grabis J, Steins I, Patmalnieks A, Berzina B, Trinklere L. Preparation and processing of doped AlN nanopowders. *Estonian J Eng*. 2009;15(4):266. <https://doi.org/10.3176/eng.2009.4.03>
11. Stepanov BI, Gribkovskii VP. *Theory of Luminescence*. English edition. Chornet S, editor. London: Iliffe Books Ltd; 1968. 497 p. ISBN-10: 0592050467, ISBN-13: 978-0592050461
12. Slack G.A., Mcnelly T.F. Growth of high purity AlN crystals. *J Cryst Growth*. 1976;34:263–279. [https://doi.org/10.1016/0022-0248\(76\)90139-1](https://doi.org/10.1016/0022-0248(76)90139-1)
13. Youngman RA, Harris JH. Luminescence Studies of Oxygen-Related Defects In Aluminum Nitride. *Journal of the American Ceramic Society*. 1990 Nov;73(11):3238-46. <https://doi.org/10.1111/j.1151-2916.1990.tb06444.x>
14. Berzina B, Trinkler L, Sils J, Palcevskis E. Oxygen-related defects and energy accumulation in aluminum nitride ceramics. *Radiation Effects and Defects in Solids*. 2001 Dec;156(1-4):241-7. <https://doi.org/10.1080/10420150108216900>
15. Berzina B, Trinkler L, Sils J, Atope K. Luminescence mechanisms of oxygen-related defects in AlN. *Radiation Effects and Defects in Solids*. 2002 Jan;157(6-12):1089-92. <https://doi.org/10.1080/10420150215822>
16. Berzina B., Trinkler L., Jakimovica L, Korsaks V, Grabis J, Steins I, Palcevskis E, Belluci S, Chen LC, Chattopadhyay S, Chen K. Spectral characterization of bulk and nanostructured aluminum nitride. *J Nanophoton*. 2009 Dec 1;3(1):031950. <https://doi.org/10.1117/1.3276803>
17. Schweizer S, Rogulis U, Spaeth JM, Trinkler L, Berzina B. Investigation of Oxygen-Related Luminescence Centres in AlN Ceramics. *physica status solidi (b)*. 2000 June 14;219(1):171–180. [https://doi.org/10.1002/1521-3951\(200005\)219:1<171::AID-PSSB171>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/1521-3951(200005)219:1<171::AID-PSSB171>3.0.CO;2-0)
18. Trinkler L, Bos A, Winkelman A, Christensen P, Angersnap Larsen N, Berzina B. Thermally and Optically Stimulated Luminescence of AlN-Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Ceramics after Ionising Irradiation. *Radiation Protection Dosimetry*. 1999 Aug 1;84(1):207-10. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.rpd.a032718>
19. Trinkler L, Bøtter-Jensen L, Christensen P, Berzina B. Stimulated luminescence of AlN ceramics induced by ultraviolet radiation. *Radiation Measurements*. 2001 Oct;33(5):731-5. [https://doi.org/10.1016/S1350-4487\(01\)00093-2](https://doi.org/10.1016/S1350-4487(01)00093-2)
20. Trinkler L, Bøtter-Jensen L, Berzina B. Aluminium Nitride Ceramics: A Potential UV Dosemeter Material. *Radiation Protection Dosimetry*. 2002 Jul 1;100(1):313-6. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.rpd.a005876>
21. Trinkler L, Berzina B. Recombination luminescence in aluminum nitride ceramics. *physica status solidi (b)*. 2014 Mar;251(3):542-8. <https://doi.org/10.1002/pssb.201350090>
22. Schulman JH, Compton WD. *Color Centers in Solids*. Oxford: Pergamon Press; 1962. p.368
23. Stampfl C, Van de Walle CG. Theoretical investigation of native defects, impurities, and complexes in aluminum nitride. *Phys Rev B*. 2002 Apr 15;65(15):155212. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.65.155212>
24. Soltamov V, Ilyin I, Soltamova A, Tolmachev D, Mokhov E, Baranov P. Identification of the deep-level defects in AlN single crystals: EPR and TL studies. *Diamond and Related Materials*. 2011 Jul;20(7):1085-9. <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2011.04.009>
25. Lan Y, Chen X, Cao Y, Xu Y, Xun L, Xu T, et al. Low-temperature synthesis and photoluminescence of AlN. *J Cryst Growth*. 1999 Dec;207(3):247-50. [https://doi.org/10.1016/S0022-0248\(99\)00448-0](https://doi.org/10.1016/S0022-0248(99)00448-0)
26. Lei F, Lei X, Ye Z, Zhao N, Yang X, Shi Z, et al. Photoluminescent properties of AlN:Mn<sup>2+</sup> phosphors. *Journal of Alloys and Compounds*. 2018 Sep;763:466-70. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.05.291>
27. Xu J, Cherepy NJ, Ueda J, Tanabe S. Red persistent luminescence in rare earth-free AlN:Mn<sup>2+</sup> phosphor. *Materials Letters*. 2017 Nov;206:175-7. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2017.07.015>
28. Jeevanandam J, Barhoum A, Chan YS, Dufresne A, Danquah MK. Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein J Nanotechnol*. 2018 Apr 3;9:1050-74. <https://doi.org/10.3762/bjnano.9.98>
29. Zhou L, Zhuang W, Wang X, Yu K, Yang S, Xia S. Potential acute effects of suspended aluminum nitride (AlN) nanoparticles on soluble microbial products (SMP) of activated sludge. *Journal of Environmental Sciences*. 2017 Jul;57:284-92. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.02.001>

30. Zhang XQ, Yin LH, Tang M, Pu YP. ZnO, TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub> and Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles-induced toxic effects on human fetal lung fibroblasts. *Biomed Environ Sci*. 2011 Dec;24(6):661-9. <https://doi.org/10.3967/0895-3988.2011.06.011>
31. Berzina B, Trinkler L, Korsaks N, Ruska R, Kriekle G, Sarakovskis A. F-center Luminescence and Oxygen Gas Sensing Properties of AlN Nanoparticles. *Sensors & Transducers*. 2019 Nov;238(11):87-93. Available from: [https://www.sensorsportal.com/HTML/DIGEST/november\\_2019/Vol\\_238/P\\_3145.pdf](https://www.sensorsportal.com/HTML/DIGEST/november_2019/Vol_238/P_3145.pdf)



Original article

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-04>

UDC 577.359

## SYNTHESIS AND PROPERTIES OF SiO<sub>2</sub> PHOTONIC CRYSTALS MODIFIED BY DNA

**M. Olenchuk, T. Hanulia, O. Perederii, A. Negriyko, G. Dovbeshko**

*Institute of Physics of NASU, 46 Nauky Ave., Kyiv, 03028, Ukraine*

e-mail: [m.olenchuk@yahoo.com](mailto:m.olenchuk@yahoo.com)

Submitted December 21, 2019

Accepted March 10, 2020

**Background:** Photonic crystals are structures characterized by periodic modulations of the refractive index with a period commensurate with the wavelength. This periodicity is associated with the existence of a complete band gap in the spectrum of the electromagnetic states of the crystal. The stop zone is called the band gap for the highlighted direction in the crystal. Globular photonic crystals are called three-dimensional photonic crystals, which consist of the same diameter globules. The pores between the globules in the opal allow one to change the refractive index and optical contrast of the material. The task of controlling the stop-zone frequency limits of a globular photonic crystal without changing its physical structure is of practical interest. The easiest way to control the stop-zone parameters is to fill the pores of the photonic crystals with materials with different refractive indices, for example, DNA. Control of the optical parameters of a globular photonic crystal can be used for the creation of optical detectors, sensors, test systems, a quantum biocomputer as well as analyzing and studying a conformational state of DNA.

**Objectives:** the creation of SiO<sub>2</sub> globular photonic crystals modified by DNA and studying of the influence of DNA on their optical properties.

**Materials and Methods:** Ethyl alcohol, distilled water, ammonium hydroxide, tetraethoxysilane and DNA were used to synthesize SiO<sub>2</sub> photonic crystals. Aqueous DNA solution was used to infiltrate the photonic crystals. We used a visible range spectroscopy for optical experiments and a finite-difference time-domain (FDTD) method for numerical calculations.

**Results:** SiO<sub>2</sub> globular photonic crystals modified by DNA were synthesized with 195 nm globules. The reflection spectra of the obtained photonic crystals were measured. A red-shift of the stop-zone maximum after the infiltration of photonic crystals with DNA molecules was found. The electric field distribution was calculated for the photonic crystal with 200 nm globules.

**Conclusions:** FDTD calculations in the linear mode show that the presence of point defects in the structure of the photonic crystal influences the amplification of the local electric field in the interglobular space of the photonic crystal, which houses the DNA molecule at infiltration. The DNA infiltration into the pores of a photonic crystal changes the effective refractive index of the system by 5.99%. Synthesis of SiO<sub>2</sub> photonic crystals with DNA leads to the formation of a more ordered structure at the macro levels. Thus, DNA serves as a template-like structure for photonic crystals to be assembled on. In this case, the effective refractive index of the system increases by 6.01%.

**KEY WORDS:** SiO<sub>2</sub> globular photonic crystal; stop-zone; a molecule of DNA.

## СИНТЕЗ І ВЛАСТИВОСТІ SiO<sub>2</sub> ФОТОННИХ КРИСТАЛІВ, МОДИФІКОВАНИХ ДНК

**М. Оленчук, Т. Гануля, О. Передерій, А. Негрійко, Г. Довбешко**

*Інститут фізики НАН України, проспект Науки, 46, Київ, 03028, Україна*

**Актуальність.** Фотонними кристалами називають структури, яким властиві періодичні модуляції коефіцієнта заломлення з періодом, співмірним з довжиною світлової хвилі. З наявністю цієї періодичності пов'язане існування повної забороненої зони в спектрі власних електромагнітних станів кристалу. Стоп-зоною називають заборонену зону для виділеного напрямку в кристалі. Особливий інтерес становлять тривимірні фотонні кристали, які складаються з глобул однакового діаметру. Такі структури називають глобулярними фотонними кристалами. Наявність в фотонному кристалі пор між глобулами дозволяє змінювати показник оптичного контрасту матеріалу. Задача керування положенням забороненої зони глобулярного фотонного кристалу без зміни його фізичної структури становить практичний інтерес. Найпростішим способом керування параметрами

забороненої зони є заповнення пор фотонних кристалів матеріалами з різними показниками заломлення, наприклад, ДНК. Керування оптичними параметрами глобулярного фотонного кристалу може бути використано для створення оптичних детекторів, сенсорів, тест-систем, квантового біокомп'ютера, а також аналізу та вивчення конформаційного стану ДНК.

**Мета роботи.** Метою роботи є створення SiO<sub>2</sub> глобулярних фотонних кристалів, модифікованих ДНК, та вивчення впливу ДНК на їх оптичні властивості.

**Матеріали і методи.** Для синтезу SiO<sub>2</sub> фотонних кристалів використовувався спирт етиловий, дистильована вода, гідроксид амонію, тетраетоксисилан, ДНК. Було застосовано оптичну спектроскопію видимого діапазону для експериментальних досліджень та математичний пакет — метод моделювання скінчених різниць в часовій області (FDTD) — для чисельних розрахунків.

**Результати.** Було синтезовано SiO<sub>2</sub> глобулярні фотонні кристали, модифіковані ДНК, з діаметром глобул 195 нм. Виміряно спектри відбивання одержаних фотонних кристалів. Показано зсув в червону область максимуму стоп-зони фотонних кристалів при наявності в них молекул ДНК. Проведено розрахунки розподілу електричного поля в структурі фотонного кристалу з діаметрами глобул 200 нм.

**Висновки.** Розрахунки методом FDTD в лінійному режимі показують, що наявність точкових дефектів в структурі фотонного кристалу впливають на підсилення локального електричного поля в міжглобулярному просторі фотонного кристалу, в якому розміщена молекула ДНК при інфільтрації. Інфільтрація ДНК в SiO<sub>2</sub> фотонний кристал викликає зміни ефективного показника заломлення системи на 5,99%. Синтез SiO<sub>2</sub> фотонного кристалу з ДНК призводить до утворення більш впорядкованої структури фотонного кристалу на макрорівні. Отже, ДНК є своєрідним темплетом при створенні фотонного кристалу. При цьому ефективний показник заломлення системи збільшується на 6,01%.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** SiO<sub>2</sub> глобулярний фотонний кристал; стоп-зона; молекула ДНК.

## СИНТЕЗ И СВОЙСТВА SiO<sub>2</sub> ФОТОННЫХ КРИСТАЛЛОВ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ДНК

М. Оленчук, Т. Гануля, А. Передерий, А. Негрийко, Г. Довбешко

*Институт физики НАН Украины, проспект Науки, 46, Киев, 03028, Украина*

**Актуальность.** Фотонными кристаллами принято называть структуры, которые обладают периодическими модуляциями коэффициента преломления с периодом, сопоставимым с длиной волны. С этой периодичностью связано существование полной запрещённой зоны в спектре собственных электромагнитных состояний кристалла. Стоп-зоной называют запрещённую зону для определённого направления в кристалле. Особый интерес представляют трёхмерные фотонные кристаллы, состоящие из глобул одинакового диаметра. Такие структуры принято называть глобулярными фотонными кристаллами. Наличие в опале пор между глобулами позволяет изменять показатель оптического контраста материала. Задача управления положением запрещённой зоны глобулярного фотонного кристалла без изменения его физической структуры имеет практический интерес. Самым простым способом управления параметрами запрещённой зоны является заполнение пор фотонных кристаллов материалами с разными показателями преломления, например, ДНК. Управление оптическими параметрами глобулярного фотонного кристалла может быть использовано для создания оптических детекторов, сенсоров, тест-систем, квантового биокomпьютера, а также анализа и изучения конформационного состояния ДНК.

**Цель работы.** Целью работы является создание SiO<sub>2</sub> глобулярных фотонных кристаллов, модифицированных ДНК, и изучение влияния ДНК на их оптические свойства.

**Материалы и методы.** Для синтеза SiO<sub>2</sub> фотонных кристаллов использовались этиловый спирт, дистиллированная вода, гидроксид аммония, тетраэтоксисилан, ДНК. Использовалась спектроскопия в видимом диапазоне для оптических экспериментов и математический пакет — метод моделирования конечных разностей во временной области (FDTD) — для расчетов.

**Результаты.** Были синтезированы SiO<sub>2</sub> фотонные кристаллы, модифицированные ДНК, с диаметром глобул 195 нм. Измерены спектры отражения полученных фотонных кристаллов. Показано смещение в красную область максимума стоп-зоны при инфильтрации фотонных кристаллов молекулами ДНК. Проведены расчёты распределения электрического поля в структуре фотонного кристалла с диаметрами глобул 200 нм.

**Выводы.** Расчёты методом FDTD в линейном режиме показывают, что присутствие в структуре фотонного кристалла точечных дефектов влияет на усиление локального электрического поля в межглобулярном пространстве фотонного кристалла, в котором располагается молекула ДНК при инфильтрации. Инфильтрация ДНК в SiO<sub>2</sub> фотонный кристалл приводит к изменению эффективного показателя преломления системы на 5,99 %. Синтез SiO<sub>2</sub> фотонного кристалла с

ДНК приводит к образованию более упорядоченной структуры фотонного кристалла на макроуровне. Таким образом, ДНК может быть своеобразным темплейтом при создании фотонного кристалла. При этом эффективный показатель преломления системы увеличивается на 6,01 %.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** SiO<sub>2</sub> глобулярный фотонный кристалл; стоп-зона; молекула ДНК.

Photonic crystals (PC) are space-periodic structures whose permittivity varies with a period commensurate with the wavelength in the visible and near-infrared ranges. The PC has either a full three-dimensional band gap associated with the periodicity of the structure [1] or a stop-zone (a band gap in a given direction in the crystal) [2]. The interaction of the electromagnetic field with such structures is determined by the interference effects that accompany the diffraction of visible light in three-dimensional periodic lattice, which can be compared with a strong modification of the energy spectrum of the electromagnetic modes [3, 4]. Among the most promising materials for PC formation are synthetic opals formed by monodisperse spherical SiO<sub>2</sub> particles, which form densely packed layers parallel to growth surfaces [2, 5], colloidal structures composed of TiO<sub>2</sub> spherical microparticles [6, 7], and inverted opals [8, 9, 10]. Technological features of the growth of synthetic photonic structures in different laboratories lead to the samples with different properties and different degree of ordering of the crystal lattice. Therefore, studying the effect of the real crystalline structure of the PC on the stop-zone parameters is still an urgent task [11].

Up to 26% of the total volume of a PC makes pores formed between globules [12]. By infiltrating the PC with different substances, e.g. DNA, it is possible to model a new conformation of DNA, namely, stretching DNA [12] and to change drastically the effective refractive index of the system with DNA, and therefore to control its optical parameters [13]. Studies of the active centers infiltrated into a photonic crystal are of fundamental interest and allow us to investigate the unique optical properties of PC composites. Activated by rare earth ions, SiO<sub>2</sub> spheres can be used as active elements in nanosensors, microlasers [14, 15], and luminescent markers [16]. Particles of highly dispersed SiO<sub>2</sub> have an effective ability to adsorb amino acid and DNA molecules onto their surface [17]. Increased interest in such systems is associated with the ability to effectively control the propagation of light inside the PC [2]. Controlling of the optical parameters of a globular PC can be used for creation of optical isolators, modulators, polarization converters, detectors, sensors, optical computers, or test systems.

In this work we study the influence of DNA on the forming of SiO<sub>2</sub> photonic crystal and its stop-zone parameters and do numerical experiments of light propagation through the PC structure.

## MATERIALS AND METHODS

In this work, SiO<sub>2</sub> photonic crystal and DNA-SiO<sub>2</sub> photonic crystal were synthesized.

### *SiO<sub>2</sub> photonic crystal*

In the first stage of the process, the synthesis of a monodisperse suspension of SiO<sub>2</sub> spherical particles was performed using a modified Stöber method [18] by hydrolysis of tetraethoxysilane (TEOS) in alcohol-aqueous medium with ammonium hydroxide as a catalyst. The size of the particles depends on the concentration of the components in the reaction mixture. Specifically, a mixture of C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH (96%) — 25 ml, TEOS-1 ml, H<sub>2</sub>O-13.25 ml, NH<sub>4</sub>OH (25%) — 0.89 ml was used. The resulting aqueous suspension of these particles was placed in a cell for a long period (up to 1 month). Under the action of gravity, SiO<sub>2</sub> particles were deposited at the bottom and self-assembled into a three-dimensional periodic structure. In the second step, the precipitate obtained was dried and annealed in a

muffle furnace for 12 hours: first at 150°C, and then the temperature was elevated to 750°C and the samples were kept at this temperature for 4 hours. The obtained samples have a porous structure with a continuous void network formed between SiO<sub>2</sub> spheres.

### *SiO<sub>2</sub> photonic crystal infiltrated with DNA*

Deoxyribonucleic acid (DNA) sodium salt from salmon testes (Sigma-Aldrich CAS Number 438545-06-3) was used to infiltrate the SiO<sub>2</sub> photonic crystal. 1 mg of DNA was added to 0.5 ml of distilled water. The solution was maintained at 5°C for 24 hours. During this time, it became gel-like. The PC specimens were twice covered with the gel solution with a periodicity of 3 h until complete drying.

### *DNA-SiO<sub>2</sub> photonic crystal*

Another experiment was carried out in such a way that 1 mg of DNA was added to 13.25 ml of distilled water at the first stage of the SiO<sub>2</sub> synthesis-with the same proportions of the remaining components as above. So, we used a mixture of C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH (96%) — 25 ml, TEOS-1 ml, DNA+H<sub>2</sub>O-13.25 ml, NH<sub>4</sub>OH (25%) — 0.89 ml. The resulting aqueous suspension with DNA was placed in a cell for a 1 month for getting three-dimensional periodic structure. However, the precipitate obtained was not dried in an oven but was maintained for 10 days at room temperature. As result we obtained the DNA-SiO<sub>2</sub> photonic crystals.

The photo of the surface of the DNA-SiO<sub>2</sub> photonic crystal is shown in Fig. 1. The photo was obtained with DM 2500M Leica microscope and has a 50x magnification. A clear structure of the synthesized crystals can be observed.

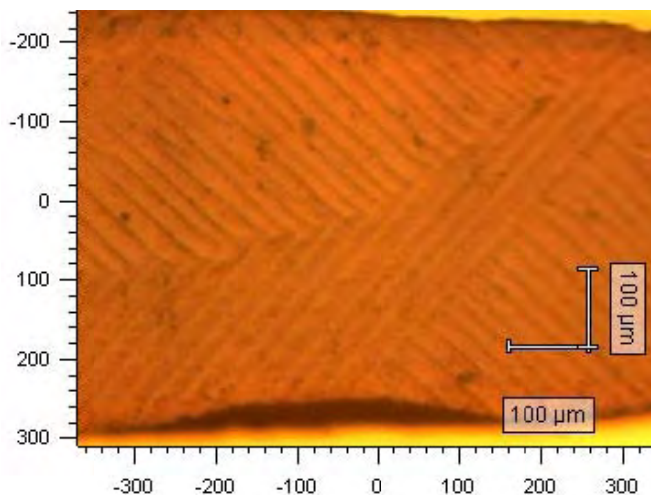


Fig. 1. Microscopic image of DNA-SiO<sub>2</sub> photonic crystal.

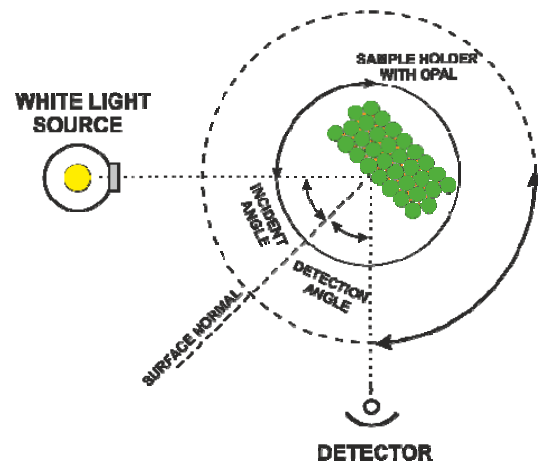


Fig. 2. Optical scheme for the Bragg scattering measuring.

Spectrometer Ocean Optics USB 2000 (USA) was used. The scheme of the optical experiment is presented in Fig. 2. Broadband white light from a halogen lamp was incident onto the PC surface. It was possible to change a sample holder and a detector angular position to get an angular dependence of the PC reflection spectra.

To simulate light wave propagation through PC structure we used Lumerical high-performance photonic simulation software FDTD [19].



## RESULTS AND DISCUSSION

### Optical experiments

We experimentally investigated the optical properties of the SiO<sub>2</sub> photonic crystal as well as the SiO<sub>2</sub> photonic crystal infiltrated with DNA, and DNA-SiO<sub>2</sub> photonic.

Fig.3. shows the reflection spectra measured at different angles of incidence light for: (a) SiO<sub>2</sub> photonic crystal synthesized according standard technology; (b) SiO<sub>2</sub> photonic crystal infiltrated with DNA; (c) DNA-SiO<sub>2</sub> photonic crystal without annealing.

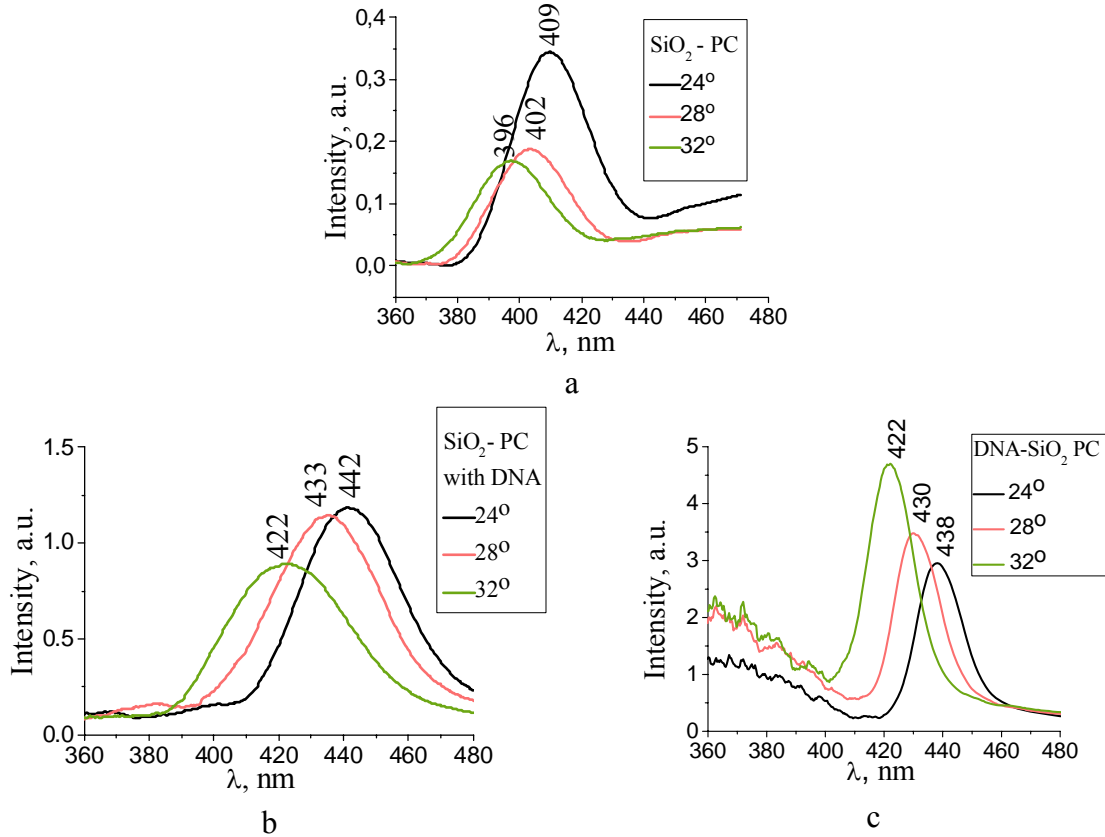


Fig. 3. Reflection spectra of (a) SiO<sub>2</sub> photonic crystal, (b) SiO<sub>2</sub> photonic crystal infiltrated with DNA and (c) DNA-SiO<sub>2</sub> photonic crystals measured at the light incidence angles 24°, 28°, and 32°.

The position of the stop-zone is determined by the angle of incidence light. For pure SiO<sub>2</sub> photonic crystal (Fig. 3a), the stop-zone with a maximum at  $\lambda = 409, 402$  and  $396$  nm is observed at the light incident angles of 24°, 28°, and 32°, respectively. By the formula

$$\lambda_{max} = 2D\sqrt{2/3} \cdot \sqrt{n_{eff}^2(\lambda) - \sin^2(\theta)} \quad (1)$$

we can estimate the size of the PC globules. There,  $\lambda_{max}$  is stop-zone maximum;  $D$  — diameter of PC globules;  $n_{eff}(\lambda)$  — effective refractive index, calculated as

$$n_{eff}(\lambda) = \sqrt{\sum_{i=1}^N n_i^2(\lambda) \cdot f_i} \quad (2)$$

and depending on the refractive index  $n_i(\lambda)$  of  $i$ -components comprising the system, and their volume fraction  $f_i$ ;  $\theta$  — light incident angle. For a pure photonic crystal, we have a two-component system consisting of SiO<sub>2</sub> globules and the air. In publications [20, 21] it was shown that the pores make up 26% of the total PC volume. Therefore, we take  $f_1 = 0.74$  and  $f_2 = 0.26$ . More information about the calculated parameters  $n_{eff}(\lambda)$  and  $D$ , measured values



of  $\lambda_{max}$  at different angles, the refractive indexes taken from work [22], and their volume fraction are presented in Table 1, block “SiO<sub>2</sub>-PC”.

Table 1. Experimental values and calculated parameters of the studied PCs.

Light incidence angle $\Theta$	Stop-zone maximum $\lambda_{max}$ , nm	$n_{SiO_2}$	$f_{SiO_2}$	$n_{air}$	$f_{air}$	$n_{H_2O}$	$f_{H_2O}$	$n_{DNA}$	$f_{DNA}$	$n_{eff}$	$D$ , nm
SiO <sub>2</sub> -PC											
24°	409	1.4692	0.74	1.0003	0.26					1.3629	192.55
28°	402	1.4699	0.74	1.0003	0.26					1.3635	192.32
32°	396	1.4706	0.74	1.0003	0.26					1.3640	192.94
SiO <sub>2</sub> -PC infiltrated with DNA											
24°	442	1.4662	0.74	1.0003	0.02	1.3373	0.18	1.6031	0.06	1.4446	195.26
28°	433	1.4669	0.74	1.0003	0.02	1.3377	0.18	1.6052	0.06	1.4454	193.97
32°	422	1.4679	0.74	1.0003	0.02	1.3381	0.18	1.6079	0.06	1.4446	192.29
DNA-SiO <sub>2</sub> PC											
24°	438	1.4665	0.74	1.0003	0.02	1.3375	0.18	1.6031	0.06	1.4449	193.46
28°	430	1.4672	0.74	1.0003	0.02	1.3378	0.18	1.6052	0.06	1.4456	192.59
32°	422	1.4679	0.74	1.0003	0.02	1.3381	0.18	1.6079	0.06	1.4464	192.03

DNA infiltration into the pores of the PC (Fig. 3b) leads to a red-shift of the stop-zone maximum by 33, 31, and 26 nm at the light incidence angles of 24°, 28°, and 32°, respectively. The studied system should be considered as a four-component one consisting of SiO<sub>2</sub> globules, which occupy 74% of the total volume, as well as air, water and DNA, accounting for 26% of the total volume. In the process of DNA infiltration, the air is displaced from the pores by the DNA aqueous solution. However, within a margin of error, not more than 2% of the air can remain in the pores. DNA and water occupy the remaining 24% of interglobular volume. The calculated data are presented in Table 1, “SiO<sub>2</sub>-PC infiltrated with DNA” block. The effective refractive index of the system “SiO<sub>2</sub>-PC infiltrated with DNA” increases by 5.99%.

The addition DNA into the suspension of spherical SiO<sub>2</sub> particles showed that the stop-zone maximum (Fig. 3c) is red-shifted by 29 nm, 28 nm, and 26 nm at the light incidence angles of 24°, 28°, and 32°, respectively. We observe a peculiarity in the reflection spectra: as the angle of incidence increases, the intensity of the reflected light increases. This is due to the reduction of scattering losses in the presence of aqueous DNA solution in the pores, and due to the PC was not annealed, since the PC annealing at high temperatures would result in DNA burning. The addition of DNA into the PC suspension leads to the formation of a more ordered structure, as evidenced by the narrowing of the half-width of the Bragg peak in the reflection spectrum by 15 nm. The effective refractive index of the system “DNA-SiO<sub>2</sub> PC” increases by 6.01%. So, DNA influence on the forming of structure of photonic crystal. DNA serves as template-like structure for photonic crystals to be assembled on. The calculated data are presented in Table 1, block “DNA-SiO<sub>2</sub> PC”.

Previously, it was shown in work [12] that the introduction of water into the pores of the PC leads to a slight shift of the stop-zone maximum (by 5 nm). Infiltration of DNA aqueous solution into the pores of the PC as well as DNA introduction into the SiO<sub>2</sub> suspension at the stage of synthesis, leads to more significant optical changes.

### Numerical experiments

FDTD is a numerical technique used for modeling computational electrodynamics. It is a really powerful tool for modeling optical and electrical effects in PC. If you want to find field distribution inside the PC, the FDTD method is one of the most advanced. You take a mesh and replace the continuum space by a discrete set of nodes. Then solve the system of Maxwell's equations for the discrete mesh using boundary conditions.

Synthetic opal was built of  $\text{SiO}_2$  spheres packed in a face-centered cubic (FCC) lattice. The calculated refractive index was 1.46, the  $\text{SiO}_2$  sphere diameter was 200 nm, which is comparable with the experimental data. There were 10 layers in Z direction. The plane waves with linear polarization and different wavelengths were incident on the surface in [111] direction.

We first calculated the opal stop-zone wavelength using the Bragg law. After this we calculated the transmission spectrum of a broadband source using FDTD method and compare the results. In both cases the stop-zone wavelength was 440 nm. According to the obtained experimental results, for the further simulation we choose the wavelength 440 nm — as the value that matches the center of the opal stop-zone.

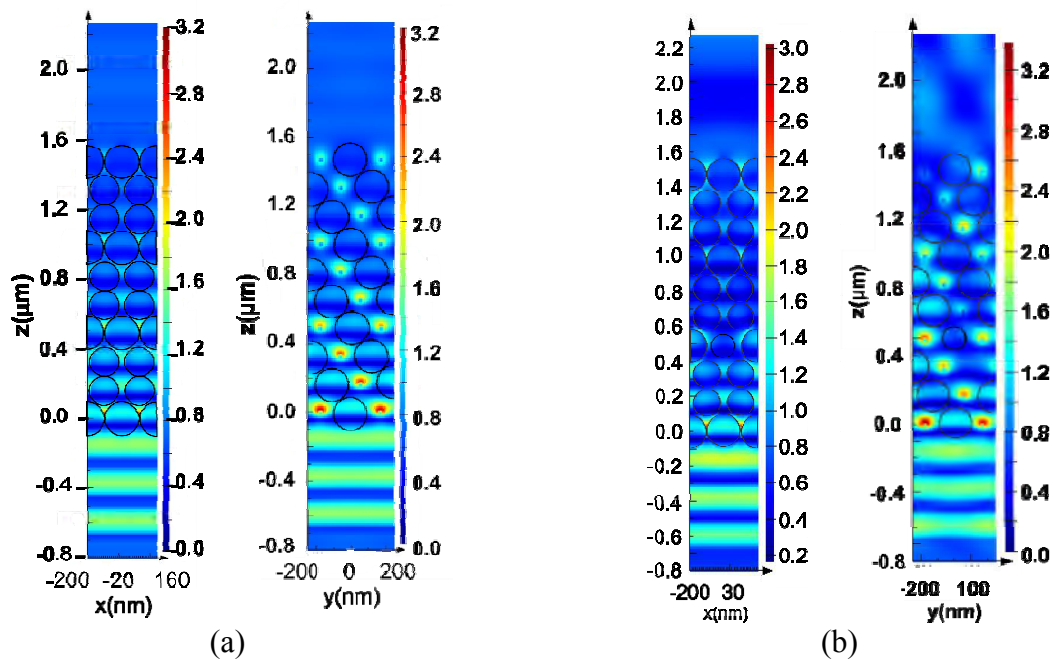


Fig. 4 Electromagnetic field distribution in XZ and YZ opal planes calculated for the wavelength 440 nm propagation in: (a) perfect periodic structure, (b) structure with defects

Near-field electromagnetic field distribution in XZ and YZ opal planes for the wavelength 440 nm was calculated at the following approximations. The electromagnetic pulse propagates in the z-direction, spheres diameter — 200 nm with the refractive index  $n=1.45$  are surrounded by air; light is linearly polarized in the y-direction. Figure 4a presents the simulation results. The right picture (Fig. 4b) corresponds to opal with defects. The left picture (Fig. 4a) corresponds to opal with perfect periodic structure.

The results were taken from three orthogonal plane monitors. The black circles mark the opal silica globules. The color scale shows the intensity of the electric field at different space points. The electric field at some regions of the PC is about 3 times larger than the incoming field. The field energy tends to concentrate in the regions with low permittivity, in our case in the air pores between silica globules.

As a next step, opal periodic structure with two point defects was considered. One sphere was completely removed and the diameter of another adjacent sphere was reduced by one third. The field distribution was calculated for 440 nm wavelength (Fig. 4b). The field pattern was the same. All graphs are depicted in two colour scales — maximum field value for the current plane, and maximum value obtained for all measurements. In the case of structural defects that may be present in any real synthetic opal, it can lead to even greater redistribution of the field intensity (~10 times, not for data presented here) [23] and concentration of light energy in the interglobular space. Though the defects are not good for the opal stop-zone, they may cause higher inhomogeneity of the electromagnetic field distribution in the PC structure.

### CONCLUSION

The photonic crystals made of SiO<sub>2</sub> and DNA were synthesized by the Stöber method and characterized. It has been shown that DNA can be used as a template-like structure for photonic crystals synthesis leading to a more orderly structure on a macroscale, namely hundreds of microns and more.

Computer simulation of light propagation through the PC structure demonstrates the localization of the electromagnetic field in the regions with less refractive index, i.e. in the pores between the globules of synthetic opal. Thus, for certain wavelength in certain points we can expect an enhance a local field inside the photonic crystal up to 3 times in perfect crystal and order more in defect crystal using it for further application.

### ACKNOWLEDGMENTS

This work is supported by Ukrainian-Polish project M/40-2019 and Ukrainian-Polish mobility project between NASU and PAN.

### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest

### AUTHORS' ORCID ID

M. Olenchuk  <https://orcid.org/0000-0002-3710-6349>  
 T. Hanulia  <https://orcid.org/0000-0002-8053-1586>  
 O. Perederii  <https://orcid.org/0000-0003-2861-6934>  
 A. Negriyko  <https://orcid.org/0000-0002-2954-5157>  
 G. Dovbeshko  <https://orcid.org/0000-0002-7701-0106>

### REFERENCES

1. Yablonovitch E, Gmitter TJ, Leung K-M. Photonic band structure: The face-centered-cubic case employing nonspherical atoms. *Phys Rev Lett*. 1991 Oct 21; 67(17):2295–2298. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.67.2295>
2. Joannopoulos JD, Johnson SG, Winn JN, Meade RD. *Photonic crystals. Molding the flow of light*. 2nd ed. Princeton: Princeton University Press; 2008. 288 p. <https://doi.org/10.2307/j.ctvcn4gz9>
3. John S. Localization of light in disordered and periodic dielectrics. *NATO ASI Series B*. 1995;340:523–584. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1963-8\\_18](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1963-8_18)
4. Sakoda K. *Optical properties of photonic crystals*. Berlin: Springer; 2005. 253 p. <https://doi.org/10.1007/b138376>
5. Mayoral R, Requena J, Moya SJ, López C, Cintas A, Míguez H, et al. 3D Long-range ordering in ein SiO<sub>2</sub> submicrometer-sphere sintered superstructure. *Adv Mater*. 1997;9(3):257–260. <https://doi.org/10.1002/adma.19970090318>
6. Wijnhoven JEGJ, Vos WL. Preparation of Photonic Crystals Made of Air Spheres in Titania. *Science*. 1998 Aug 07;281(5378):802–804. <https://doi.org/10.1126/science.281.5378.802>
7. Yu J, Lei J, Wang L, Zhang J, Liu Y. TiO<sub>2</sub> inverse opal photonic crystals: Synthesis, modification, and applications — A review. *J of Alloys and Compounds*. 2018 Jul 31;769:740–757. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.07.357>

8. Busch K., John S. Liquid-Crystal Photonic-Band-Gap Materials: The Tunable Electromagnetic Vacuum. *Phys Rev Lett.* 1999 Aug 02;83(5):967–970. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.83.967>
9. Blanco A, Chomski E, Grabtchak S, Ibsate M, John S, Leonard SW, et al. Large-scale synthesis of a silicon photonic crystal with a complete three-dimensional bandgap near 1.5 micrometres. *Nature.* 2000 May 25;405:437–440. <https://doi.org/10.1038/35013024>
10. Yang L, Carmon T, Min B, Spillane SM, Vahala KJ. Erbium-doped and Raman microlasers on a silicon chip fabricated by the sol-gel process. *Appl Phys Lett.* 2005;86(9):091114. <https://doi.org/10.1063/1.1873043>
11. Vlasov YuA, Astratov VN, Baryshev AV, Kaplyanskii AA, Karimov OZ, Limonov MF. Manifestation of intrinsic defects in optical properties of self-organized opal photonic crystals. *Phys Rev E.* 2000 May 1;61(5):5784. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.61.5784>
12. Boiko VV, Romanyuk VR, Gnatyuk OP, Ilchenko OO, Karakhim SO, Korovin AV, et al. Vibrational spectra of DNA in the confined interglobular volume of photonic crystal. *J Biol Phys.* 2018 Feb 20;44(1):101–116. <https://doi.org/10.1007/s10867-018-9480-0>
13. Severin I., Boiko V., Moiseyenko V., Olenchuk M., Goushcha A., Barillé R., et al. Optical properties of graphene oxide coupled with 3D opal based photonic crystal. *Optical Materials.* 2018;86:326–330. <https://doi.org/10.1016/j.optmat.2018.10.014>
14. Arnaud C, Boustimi M, Brenci M, Feron P, Ferrari M, Nunzi-Conti G, et al. Microsphere laser in Er<sup>3+</sup>-doped oxide glasses. *Proc. SPIE.* 2004 Oct 21;5622:315–320. <https://doi.org/10.1117/12.589474>
15. Hoi PV, Ha CTT, Hung HQ. Long-band emission of microsphere lasers based on erbium-doped sol-gel silica-alumina glasses. *Appl Phys Lett.* 2005 Oct 14;87(16):161110 1–3. <https://doi.org/10.1063/1.2089186>
16. Yang Y, Gao MY. Preparation of Fluorescent SiO<sub>2</sub> Particles with Single CdTe Nanocrystal Cores by the Reverse Microemulsion Method. *Adv Mat.* 2005 Aug 16;17(19):2354–2357. <https://doi.org/10.1002/adma.200500403>
17. Teng Z, Li J, Yan F, Zhao R, Yang W. Highly magnetizable superparamagnetic iron oxide nanoparticles embedded mesoporous silica spheres and their application for efficient recovery of DNA from agarose gel. *J Mater Chem.* 2009 Feb 09;19:1811–1815. <https://doi.org/10.1039/B812367E>
18. Stöber W, Fink A, Bohn E. Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. *J Colloid Interface Sci.* 1968;26(1):62–69. [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(68\)90272-5](https://doi.org/10.1016/0021-9797(68)90272-5)
19. Lumerical Computational Solutions. Lumerical Inc. [Internet] Available from: <https://www.lumerical.com/products/fdtd/>
20. Fudouzi H. Fabricating high-quality opal films with uniform structure over a large area. *Journal of Colloid and Interface Science.* 2004 Feb 27;275(1):277–283. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.01.054>
21. Zhokhlov AA, Masalov VM, Sukhinina NS, Matveev DV, Dolganov PV, Dolganov VK, et al. Photonic crystal microspheres. *Optical Materials.* 2015;49:208–212. <https://doi.org/10.1016/j.optmat.2015.09.019>
22. Refractive index. Info. [Internet]. Refractive Index Database [Retrieved June 20, 2018]. Available from: [https://refractiveindex.info/?shelf=glass&book=fused\\_silica&page=Malitson](https://refractiveindex.info/?shelf=glass&book=fused_silica&page=Malitson)
23. García PD, Sapienza R, Toninelli C, López C, Wiersma DS. Photonic crystals with controlled disorder. *Physical Review A.* 2011;84(2):023813–023821. <https://doi.org/10.1103/PhysRevA.84.023813>



Original article

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-05>

UDC 535.34:546.59:661.682:577.3

## EFFECTIVE SERS SUBSTRATE OBTAINED BY Au DEPOSITION AT SILICA SURFACES THROUGH A TOP DOWN METHOD

**A. Damin, P. Ivanchenko, M. Fabbiani, G. Martra**

*Department of Chemistry and NIS Centre, University of Turin, 7 Via P. Giuria, Turin, 10125, Italy*

*e-mail: [alessandro.damin@unito.it](mailto:alessandro.damin@unito.it)*

Submitted November 15, 2019

Accepted May 08, 2020

**Background:** In the last years some of us developed methods for preparing, through simple synthesis protocols, gold nanoparticles supported on silica surfaces: in that cases, bottom-up approaches has been adopted (*i.e.* starting from  $\text{HAuCl}_4$  precursor) and high surface area silica (Aerosil 300) was chosen as support (together with controlled pH conditions), to facilitate Au dispersion. The obtained substrates showed the ability to enhance Raman signals of dosed molecules pyridine and bi-pyridine and/or of silanols species populating the silica surface. Following this idea, in this paper we will present results concerning surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) activity of substrates obtained by a top-down technique (*i.e.* gold sputtering) which allowed depositing gold nanoparticles at surfaces of silica nanoparticles. Pyridine molecule has been then used as a probe molecule to estimate the SERS activity of the obtained substrates.

**Objectives:** The purpose of the work was to study the SERS activity of the prepared substrates through the estimation of limit of detection (LoD) of pyridine molecule dosed from solutions (benzene was used as solvent) with decreasing pyridine concentration.

**Materials and methods:** For the preparation of the samples AOX50 silica (Evonik Industries, surface area of  $50 \text{ m}^2/\text{g}$ ) in form of pressed disk, a gold target and a K575X Turbo Sputter Coater (Quorum Technologies) were used. Methods applied: UV-Vis-NIR spectroscopy; HR-TEM microscopy; Raman spectroscopy.

**Results:** Prepared Au/AOX50 substrates with nominal Au thickness 10 nm were characterized by the UV-Vis spectroscopy and HR-TEM microscopy. They showed a relatively complex absorption profile extending to the NIR region. The substrates contained gold nanoparticles with diameter in the range of 2.0–3.5 nm. By using the 785 nm exciting laser line (suggested by the results coming from UV-Vis spectroscopy) for recording Raman spectra, it was possible to observe characteristic pyridine Raman signals by contacting Au/AOX50 substrates with vapour phase of benzene solutions with pyridine concentration as low as  $10^{-7} \text{ M}$  comprising LoD. This allowed us to estimate roughly an enhancement factor of  $10^8$ , as compared with 12.4 M pyridine dosed at naked AOX50 silica surface.

**Conclusion:** Through a top-down technique it was possible to prepare effective SERS substrates composed by Au nanoparticles dispersed at AOX50 silica surfaces. LoD for pyridine dosed from the vapour of its benzene solution appeared to be  $10^{-7} \text{ M}$  and the SERS enhancement factor, using as a reference Raman spectra of 12.4 M pyridine interacting with naked AOX50 silica, has been estimated to be approximately  $10^8$ .

**KEY WORDS:** SERS; gold nanoparticles; silica; sputtering.

## ЕФЕКТИВНА ПОВЕРХНЯ ДЛЯ SERS, ОТРИМАНА НАНЕСЕННЯМ ЗОЛОТА НА КРЕМНЕЗЕМ МЕТОДОМ «ЗВЕРХУ ВНИЗ»

**А. Дамін, П. Іванченко, М. Фаббіані, Дж. Мартра**

*Факультет хімії та Центр наноструктурованих інтерфейсів та поверхонь,*

*Університет Турину, вул. П. Джурія, 7, Турин, 10125, Італія*

**Актуальність.** Нещодавно один з нас розробив метод приготування золотих наночастинок на поверхні кремнезему: в цьому випадку було застосовано метод «знизу доверху» (а саме, починаючи із прекурсорі  $\text{HAuCl}_4$ ), використовуючи діоксид кремнію із високою питомою площею поверхні (Аеросил А300) як основу (при контрольованому рН) для покращення дисперсії золота. Отримані матеріали продемонстрували здатність підсилювати раманівські сигнали адсорбованих молекул піридину та біпіридину та/або поверхневих силанолів. Слідуючи цій ідеї, дана робота демонструє результати стосовно активності субстратів для підсиленої поверхнею раманівської спектроскопії

(surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS), підготовлених методом «зверху вниз» (з розпиленням золота), який дозволяє осаджувати наночастинки золота на поверхні наночастинок діоксиду кремнію. Молекули піридину були використані як зонди для оцінки SERS активності отриманих субстратів.

**Мета роботи.** Метою даної роботи є вивчення SERS активності виготовлених субстратів шляхом визначення межі виявлення молекул піридину, нанесених із розчинів (розчинник — бензол) зі зниженням концентрації піридину.

**Матеріали і методи.** Для приготування зразків використовували діоксид кремнію AOX50 (Evonik Industries, питома поверхня  $50 \text{ м}^2/\text{г}$ ) у формі пресованих дисків, золоту мішень та розпилювач K575X Turbo Sputter Coater (Quorum Technologies). Використані методи: УФ- та видима спектроскопія, HR-ТЕМ мікроскопія, Раманівська спектроскопія.

**Результати.** Приготовані субстрати Au/AOX50 (номінальна товщина золота 10 нм) були охарактеризовані за допомогою УФ- та видимої спектроскопії та HR-ТЕМ мікроскопії. Вони продемонстрували відносно складний профіль поглинання, що простягається до ближнього ІЧ діапазону. Субстрати склалися із золотих наночастинок діаметром близько 2,0–3,5 нм. Використання для збудження лазера на довжині хвилі 785 нм (обраної на основі даних УФ-видимої спектроскопії) для реєстрації Раман-спектрів дозволило спостерігати Раман-сигнали, характерні для піридину, при контакті Au/AOX50 субстратів з паровою фазою розчину піридину у бензолі і концентрацією піридину до  $10^{-7} \text{ М}$ , що складало межу його виявлення. Це дозволило приблизно оцінити фактор підсилення (ФП), що становить близько  $10^8$ , у порівнянні з 12,4 М піридину, нанесеного на поверхню чистого AOX50.

**Висновки.** Метод «зверху вниз» дозволив приготувати ефективні SERS субстрати, що складаються із наночастинок золота, диспергованих на поверхні кремнезему AOX50. Межа виявлення піридину виявився  $10^{-7} \text{ М}$  (при нанесенні з пари його розчину у бензолі), та ФП SERS був оцінений приблизно в  $10^8$  (використовуючи як стандарт Раман-спектр 12,4 М піридину в контакті з поверхнею чистого AOX50).

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** SERS; золоті наночастинки; діоксид кремнію; розпилення.

### ЭФФЕКТИВНАЯ ПОДЛОЖКА ДЛЯ SERS, ПОЛУЧЕННАЯ НАНЕСЕНИЕМ ЗОЛОТА НА КРЕМНЕЗЕМ МЕТОДОМ «СВЕРХУ ВНИЗ»

А. Дамин, П. Иванченко, М. Фаббиани, Дж. Мартра

*Факультет химии и Центр наноструктурированных интерфейсов и поверхностей,  
Университет Турина, ул. П. Джурья, 7, Турин, 10125, Италия*

**Актуальность.** Недавно один из нас разработал метод приготовления золотых наночастиц на поверхности кремнезема: в этом случае был применен метод «снизу вверх» (а именно, начиная с прекурсора  $\text{HAuCl}_4$ ), используя диоксид кремния с высокой удельной площадью (Аэросил А300) как основу (при контролируемом рН) для улучшения дисперсии золота. Полученные материалы продемонстрировали способность к усилению рамановских сигналов адсорбированных молекул пиридина и бипиридина и/или поверхностных силанолов. Следуя этой идее, данная работа демонстрирует результаты касательно активности субстратов для поверхностно-усиленной рамановской спектроскопии (surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS), приготовленных методом «сверху вниз» (с распылением золота), который позволяет осажждать наночастицы золота на поверхности наночастиц диоксида кремния. Молекулы пиридина были использованы как зонды для оценки SERS активности полученных субстратов.

**Цель работы.** Целью данной работы является изучение SERS активности изготовленных субстратов путём определения предела обнаружения молекул пиридина, нанесившихся из растворов (растворитель – бензол) с убывающей концентрацией пиридина.

**Материалы и методы.** Для приготовления образцов были использованы: диоксид кремния AOX50 (Evonik Industries, удельная площадь  $50 \text{ м}^2/\text{г}$ ) в форме пресованных дисков, золотая мишень и распылитель K575X Turbo Sputter Coater (Quorum Technologies). Использованные методы: УФ-видимая спектроскопия, HR-ТЕМ микроскопия, Рамановская спектроскопия.

**Результаты.** Приготовленные субстраты Au/AOX50 (номінальна товщина золота 10 нм) были охарактеризованы с помощью УФ-видимой спектроскопии и HR-ТЕМ микроскопии. Они продемонстрировали относительно сложный профиль поглощения вплоть до ближнего ИК диапазона. Субстраты содержали золотые наночастицы с диаметром около 2,0–3,5 нм. При использовании полосы возбуждения лазера 785 нм (выбранной на основании результатов УФ-видимой спектроскопии) для записи Рамановских спектров было возможно наблюдать рамановские сигналы, характерные для пиридина, при контакте Au/AOX50 субстратов с паровой фазой раствора пиридина в бензоле с концентрацией пиридина вплоть до  $10^{-7} \text{ М}$ , что составляло



предел его обнаружения. Это позволило приблизительно оценить фактор усиления (ФУ), как  $10^8$  в сравнении с 12,4 М пиридина нанесенного на поверхность чистого АОХ50.

**Выводы.** Метод «сверху вниз» позволил приготовить эффективные SERS субстраты, состоящие из наночастиц золота, диспергированных на поверхности кремнезема АОХ50. Предел обнаружения пиридина оказался равным  $10^{-7}$  М (при нанесении из паров его раствора в бензоле), и ФУ SERS был оценен приблизительно в  $10^8$  (используя как стандарт Раман-спектр 12,4 М пиридина в контакте с поверхностью чистого АОХ50).

**КЛЮЧОВЫЕ СЛОВА:** SERS; золотые наночастицы; диоксид кремния, распыление.

Raman spectroscopy is a non-destructive spectroscopic technique finding an application in a wide variety of fields of investigation (catalysis, clinical and forensic chemistry, cultural heritage conservation and characterization, material science). Despite its potential great utility, such technique suffers from an intrinsic low sensitivity due to the physical phenomenon underlying it. Thus, it is hardly applicable to systems where the investigated species (the active site of a catalyst or a molecule of particular interest) is in low concentration. To increase sensitivity of Raman spectroscopy, resonance conditions can be adopted: in this case the use of an exciting laser line, falling in the electronic absorption of the studied species. This approach helps in the selective enhancement of signals coming from their vibrational features, making Raman spectroscopy a site(molecule)-selective technique too.

In the last years another approach strongly bound to nanotechnology knew a wide diffusion. This is based on the observation, made in the late 70s-80s of the past century, that when molecules interact with roughened (nanostructured) coinage metal surfaces, and suitable exciting laser lines are adopted, some of their Raman signals result to be enhanced of several order of magnitude [1, 2], thus allowing their identification even at very low concentration. Such a technique, nowadays well known as surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) can overcome the limitations of Raman spectroscopy, increasing its performance in fields of investigation heavily dominated by the “low concentration problem”, such as those concerning bio-sensing [3–6], detection of bacteria [7], food analysis [8] and more in general analytical chemistry [9, 10] are.

Recently some of us developed methods for preparing, with simple synthesis protocols, gold nanoparticles supported on silica surfaces: in that cases, bottom-up approaches has been adopted (*i.e.* starting from  $\text{HAuCl}_4$ ) and high surface area silica (Aerosil300) was chosen as support (together with controlled pH conditions), to facilitate gold dispersion. The obtained substrates showed the ability to enhance Raman signals of dosed molecules (pyridine and bipyridine) and/or of silanols species populating the silica surface [11]. Following this idea, in this work we are presenting the results concerning SERS activity of substrates obtained by a top-down technique (*i.e.* gold sputtering) that allows depositing gold nanoparticles at silica surface. Pyridine (hereafter Py) molecule has been used as a probe and the enhancement ability of such substrates has been evaluated mainly through the evaluation of a limit of detection (LoD) in respect of the adopted probe molecule. An enhancement factor roughly estimated by comparing Raman spectra obtained on gold containing substrates with those recorded on bare silica nanoparticles contacted with Py will be presented too.

## MATERIALS AND METHODS

*Silica supports:* parent silica supports for gold deposition were obtained by pressing (5 tons of applied pressure) АОХ50 powder (Evonik Industries, 0.6 g) in the form of disk of about 32 mm diameter. АОХ50 system is a well-known type of silica, with Specific Surface Area (measured by BET method) equal to  $50 \text{ m}^2/\text{g}$  and a silanol surface density of  $1.4 (\text{SiOH})/\text{nm}^2$ .

*SERS substrates:* substrates for SERS ( $\text{Au}_x/\text{AOX50}$ ,  $x$  is a nominal thickness, in nm, of sputtered gold) were prepared by sputtering gold on the above described АОХ50 supports



with a K575X Turbo Sputter Coater (Quorum Technologies). Parameters of the instrumentation were set to achieve a nominal thickness of gold layers  $x$  to be equal to 10 nm.

*UV-Vis-NIR Diffuse Reflectance (DRUV-Vis-NIR) measurements:* collection of DRUV-Vis-NIR spectra (1200–200 nm range) was performed with a Variant Cary 5000 spectrophotometer, equipped with a R928 PMT UV-Vis detector and a PbS NIR detector. Teflon pellet was used as reference for 100% of reflectance. Samples were investigated as such at ambient conditions.

*HR-TEM measurements:* the morphological characterization of the investigated systems was carried out with a JEOL JEM-3010-UHR transmission electron microscope (300 kV accelerating potential) and equipped with a 2k x 2k Gatan US1000 CCD camera. In this case, samples were re-prepared by grinding the silica supports with subsequent gold sputtering for reaching the desired gold layer thickness.

*Raman measurements:* Samples for Raman measurements at ambient conditions were prepared by cutting small pieces (5.5·1.1 mm) of the investigated supports and placing them inside a 1 cm path UV cuvette (Helma, QS). Py (Sigma Aldrich, >99.8%) has been dosed from the vapour phase as such or from benzene (Sigma Aldrich, >99%) solutions at variable concentrations by evaporating 10  $\mu$ l of liquid placed inside the UV cuvette before sealing it by tape. All Raman spectra were collected on the above described systems by employing an inVia Raman Microscope (Renishaw) and an exciting laser line falling at 785 nm (Renishaw Diode laser). Laser light was focused at the sample through a 20x ULWD MSPlan objective (Olympus, N.A. 0.4); back-scattered light (Rayleigh light removed through an edge filter) was analyzed by a 1200 l/mm grating and then sent to a CCD detector. Just 0.05% of the laser power reaching the sample (80 mW) was used in order to avoid its damage or/and modifications. Each presented Raman spectrum is the average of three spectra (collected on three different points of the investigated sample, the homogeneity of the sample being so verified) each one resulting as the sum of 20 acquisitions (in the 2350–100  $\text{cm}^{-1}$  interval) of 20 s of duration.

## RESULTS AND DISCUSSION

The obtained Au<sub>10nm</sub>/AOX50 substrates were characterized by means of DRUV-Vis-NIR and HR-TEM techniques (see Fig. 1, panels A and B respectively). As far as DRUV-Vis-NIR results are concerned, Au<sub>10 nm</sub>/AOX50 substrates showed a broad absorption in the 500–900 nm range (see curve b in Figure 1 A), unlike the spectrum of bare AOX50 silica (see curve a, Fig. 1 A) and of bulk gold (curve c, Fig. 1 A). HR-TEM analysis (see Fig. 1 B for a representative micrograph of Au<sub>10 nm</sub>/AOX50) suggested that this absorption is mainly connected to the complex plasmonic features characterizing the observed Au nanoparticles (average diameters in the 2.0–3.5 nm range) aggregates.

Finally, the strong absorption observed in the Vis-NIR range showed also that the adoption of an exciting laser line falling at 785 nm (see dotted red line in Fig. 1 A) to record Raman spectra should be a good choice, in order to obtain a reasonable enhancement towards the adopted probe molecule.

Raman spectra of Au<sub>10 nm</sub>/AOX50 contacted with vapour phase of Py/benzene solutions (with Py varying in the 12.4– $1 \times 10^{-7}$  M concentration range) where collected as described in Raman measurements Section; the results are reported in Fig. 2. Pure Py (12.4 M) dosed in such conditions, results in two well-resolved signals, located at 1040 and 1015  $\text{cm}^{-1}$ , respectively. On the basis of literature data [12], they can be assigned to  $\nu_8$  and  $\nu_9$ , which in pure liquid Py fall respectively at 1031 and 993  $\text{cm}^{-1}$  [13]. The observed blue-shift (and the change in the intensity ratio between the two signals too) with respect to the liquid phase is an evidence of a direct interaction of Py with Au atoms at the surface of gold nanoparticles [14].

No liquid or liquid-like Py is detectable in such conditions, neither when pure Py (12.4 M) is dosed. By following  $\nu_9$  along Raman spectra recorded at decreasing Py concentrations (see solid lines of Fig. 2 A, from top to bottom), it clearly emerges that Py LoD, under such conditions, can be fixed at a concentration as low as  $10^{-7}$  M. Finally, when comparing the intensity of  $\nu_9$  peak taken at  $10^{-7}$  M with that recorded at the same conditions on bare AOX50 contacted with 12.4 M Py (see black solid line in Fig. 2 B), one can estimate a SERS analytical enhancement factor [15] of Py at  $\text{Au}_{10\text{nm}}/\text{AOX50}$  substrate of about  $10^8$ , suggesting a remarkable SERS activity of substrates obtained with the above described protocol.

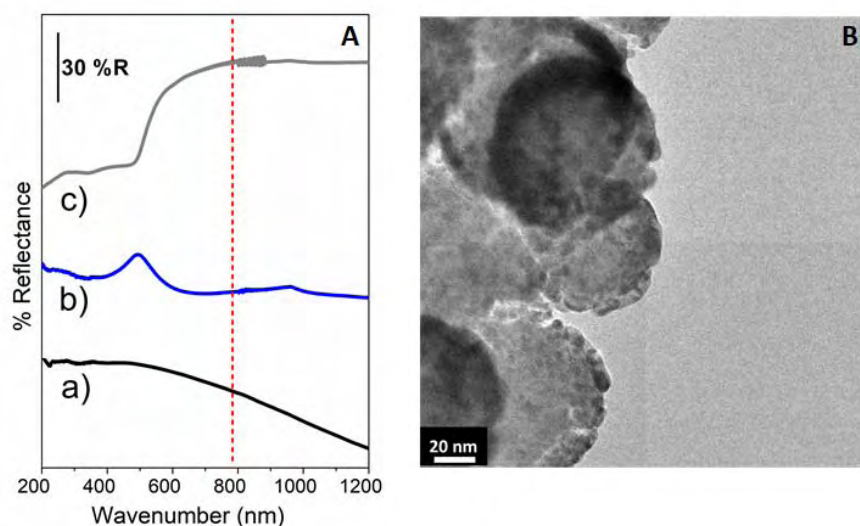


Fig. 1. A: DRUV-Vis-NIR recorded respectively on a) AOX50 (black line), b)  $\text{Au}_{10\text{nm}}/\text{AOX50}$  (blue line), and c) bulk Au (grey line). B: HR-TEM image taken on  $\text{Au}_{10\text{nm}}/\text{AOX50}$  substrate.

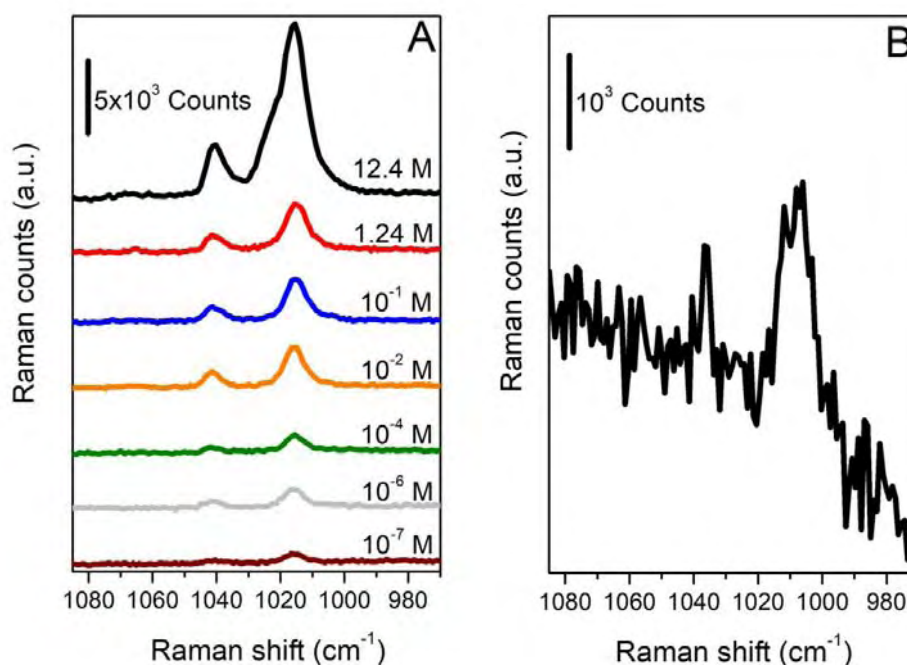


Fig. 2. Raman spectra recorded with 785 nm exciting laser line on: A —  $\text{Au}_{10\text{nm}}/\text{AOX50}$  contacted with solutions at variable Py concentration in the  $12.4 \times 10^{-7}$  M range and B — AOX50 contacted with 12.4 M Py.

## CONCLUSIONS

Through a top-down technique it was possible to prepare effective SERS substrates composed by Au nanoparticles dispersed at AOX50 silica surfaces. LoD of pyridine resulted

to be  $10^{-7}$  M concentration (when dosed from vapour phase of benzene solutions) and the analytical enhancement factor (using as a reference Raman spectra of 12.4 M pyridine interacting with bare AOX50 silica) has been estimated to be approximately  $10^8$ .



### ACKNOWLEDGMENT

This work has been supported by NATO SPS project n. G5291 “A Novel Method for the Detection of Biohazards”.

### CONFLICT OF INTEREST

The authors report that there is no conflict of interest.

### AUTHORS' ORCID ID

A. Damin  <https://orcid.org/0000-0002-1110-0993>  
P. Ivanchenko  <https://orcid.org/0000-0003-2280-0773>  
M. Fabbiani  <https://orcid.org/0000-0002-9094-0279>  
G. Martra  <https://orcid.org/0000-0002-8012-5342>

### REFERENCES

1. Albrecht MG, Creighton JA Anomalously intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode. *J. Am. Chem. Soc.* 1977;99(15):5215–17. <https://doi.org/10.1021/ja00457a071>
2. Creighton J.A., Cristopher GB, Albrecht MG. Plasma resonance enhancement of Raman scattering by pyridine adsorbed on silver or gold sol particles of size comparable to the excitation wavelength. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2: Molecular and Chemical Physics* 1979;75:790–8. <https://doi.org/10.1039/F29797500790>
3. Kneipp K, Kneipp H, Itzkan I, Dasari RR, Feld MS. Surface-enhanced Raman scattering and biophysics. *J. Phys.: Condens. Matter* 2002;14(18):R597–R624. <http://stacks.iop.org/cm/14/R597>
4. Kneipp J, Wittig B, Bohr H, Kneipp K. Surface-enhanced Raman scattering: a new optical probe in molecular biophysics and biomedicine. *Theor. Chem. Acc.* 2010;125(3-6):319–27. <https://doi.org/10.1007/s00214-009-0665-2>
5. Liu JJ, Jalali M, Mahshid S, Wachsmann-Hogiu S. Are plasmonic optical biosensors ready for use in point-of-need applications? *Analyst.* 2020;145(2):364-84. <https://doi.org/10.1039/C9AN02149C>
6. Wang HX, Zhao YW, Li Z, Liu BS, Zhang D. Development and Application of Aptamer-Based Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Sensors in Quantitative Analysis and Biotherapy. *Sensors (Basel)*. 2019 Sep 3;19(17):3806. <https://doi.org/10.3390/s19173806>
7. Wang KD, Li SM, Petersen M, Wang S, Lu XN. Detection and Characterization of Antibiotic-Resistant Bacteria Using Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Nanomaterials*. 2018;8(10):762. <https://doi.org/10.3390/nano8100762>
8. Alyami A, Quinn AJ, Iacopino D. Flexible and transparent Surface Enhanced Raman Scattering (SERS)-Active Ag NPs/PDMS composites for in-situ detection of food contaminants. *Talanta*. 2019;201:58–64. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.03.115>
9. Restaino SM, White IM. A critical review of flexible and porous SERS sensors for analytical chemistry at the point-of-sample. *Analytica Chimica Acta*. 2019;1060:17–29. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.11.057>
10. Bell SEJ, Charron G, Cortes E, Kneipp J, de la Chapelle ML, Langer J, et al. Towards Reliable and Quantitative Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS): From Key Parameters to Good Analytical Practice. *Angew. Chem.-Int. Ed.* 2020;59(14):5454–62. <https://doi.org/10.1002/anie.201908154>
11. Budnyk AP, Damin A, Agostini G, Zecchina A. Gold nanoparticle aggregates immobilized on high surface area silica substrate for efficient and clean SERS applications. *J. Phys. Chem. C* 2010;114(9):3857–32. <https://doi.org/10.1021/jp9112816>
12. Pockrand I, Otto A. Coverage dependence of Raman scattering from pyridine adsorbed to silver/vacuum interfaces. *Solid State Commun.* 1980;35(11):861–5. [https://doi.org/10.1016/0038-1098\(80\)91040-6](https://doi.org/10.1016/0038-1098(80)91040-6)
13. Kline CH, Turkevich J. The vibrational spectrum of pyridine and the thermodynamic properties of pyridine vapors. *J. Chem. Phys.* 1944;12(7):300–9. <https://doi.org/10.1063/1.1723943>
14. Wu DY, Ren B, Jiang YX, Xu X, Tian ZQ. Density functional study and normal mode analysis of the bindings and vibrational frequency shifts of the pyridine-M (M = Cu, Ag, Au, Cu<sup>+</sup>, Ag<sup>+</sup>, Au<sup>+</sup>, and Pt) complexes. *J. Phys. Chem. A*. 2002;106(39):9042–52. <https://doi.org/10.1021/jp025970i>
15. Le Ru EC, Blackie E, Meyer M, Etchegoin PG. Surface Enhanced Raman Scattering Factors: A comprehensive study. *J. Phys. Chem. C*. 2007;111(37):13794–803. <https://doi.org/10.1021/jp0687908>



Original article

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-06>

UDC 53.01:535.37:544.25

## FLUORESCENCE OF MOLECULAR COMPOSITES THAT CONSIST OF NEMATIC LIQUID CRYSTAL AND MEROCYANINS

M.B. Malynovskyi\*, M.M. Sevryukova, Yu.P. Piryatynski

*Institute of Physics of NASU, 46 Nauky Avenue, Kyiv, 03028, Ukraine*

\*e-mail: [malmark@ukr.net](mailto:malmark@ukr.net)

Submitted December 9, 2019

Accepted May 07, 2020

**Background:** Considered merocyanine molecules have donor D and acceptor A moieties connected by polymer chain. The conjugated donor D and acceptor A parts of merocyanine molecules are planar in the ground state. The D- $\pi$ -A molecular complexes can change their conformations in an excited state due to cis-trans-conformational transitions. The viscosity of the solvent affects conformational changes, photoluminescence (PL) decay and PL lifetime. Therefore the PL of merocyanine molecules strongly depends on medium in excited and ground states. A nematic liquid crystal was utilized as a solvent for merocyanine molecules since it is characterized by long range order, orientates merocyanine molecules along its axis and is sensitive to external electro-magnetic field. The molecules with conjugated donor D and acceptor A parts are promising for molecular electronics (instruments for recording and processing information), optoelectronics (laser technologies) and biological research (fluorescent probes like prominent thioflavin T), since their PL essentially depends on the nature of the environment.

**Objectives:** The main objective of this paper is to investigate and explain impact of liquid crystal medium on considered molecules. Also influence of molecular conformational changes on their spectral properties is considered.

**Materials and Methods:** Two types of merocyanine molecules M-1 and M-2 were investigated. The spectral properties of molecules in different organic solvents such as acetonitrile, toluene, glycerol, and in 4-pentyl-4'-cyanobiphenyl (5CB) liquid crystal were compared. Stationary and time-resolved emission spectra of molecular merocyanine solutions were used to investigate conformational changes of molecules. To determine a lifetime of molecular excited states, a technique of Time Correlated Single Photon Counting with picosecond resolution in time was used.

**Results:** The results indicate that optical properties strongly depend on conformation of conjugated donor- $\pi$ -acceptor compounds. A relaxation of dye molecules to the ground state is accompanied by conformational changes. The quantum yield and lifetime of PL increase in more viscous solvents. The liquid crystal made conformational changes of considered molecules in ground and excited states.

**Conclusions:** Analysis of the results serves as a basis for constructing a theory that explains properties of D- $\pi$ -A molecular compounds under optical excitation. The molecular pairs are formed by merocyanine and liquid crystal molecules. The liquid crystal molecule defines conformation of merocyanine molecule in a pair. Moreover, both types of merocyanine molecules in liquid crystal have the same conformation. This hypothesis explains similarities of optical properties of M-1 and M-2 molecules in liquid crystal.

**KEY WORDS:** photoluminescence; 4-pentyl-4'-cyanobiphenyl (5CB); D- $\pi$ -A molecular complexes; merocyanine dyes.

## ФЛУОРЕСЦЕНЦІЯ МОЛЕКУЛЯРНИХ КОМПЗИТИВ, ЩО СКЛАДАЮТЬСЯ З НЕМАТИЧНОГО РІДКОГО КРИСТАЛУ І МЕРОЦІАНІНІВ

М.Б. Малиновський, М.М. Севрюкова, Ю.П. Пирятинський

*Інститут фізики НАН України, просп. Науки, 46, Київ, 03028, Україна*

**Актуальність.** Розглянуті молекули мероціаніну мають донорні та акцепторні групи з'єднані полімерним ланцюгом. Спряжені донорна D та акцепторна A частини мероціанінових молекул є планарними в основному стані. D- $\pi$ -A молекулярні комплекси можуть змінювати свою конформацію в збудженому стані завдяки цис-транс-конформаційним переходам. В'язкість впливає на зміну конформації, а також на загасання фотолумінесценції (ФЛ) та її час життя. Через це ФЛ мероціанінових молекул як в основному, так і в збудженому стані сильно залежить від середовища. Нематичний рідкий кристал

був використаний як розчинник для молекул мероціаніну, оскільки він орієнтує молекули мероціаніну вздовж своєї осі та чутливий до зовнішнього електромагнітного поля. D- $\pi$ -A молекулярні комплекси є перспективними для молекулярної електроніки (прилади для запису та обробки інформації), оптоелектроніки (лазерні технології), а також для біологічних досліджень (спектральні зонди на зразок відомого тіофлавіну T) оскільки ФЛ цих молекул суттєво залежить від природи середовища.

**Мета роботи.** Основна мета даної роботи — дослідити та пояснити вплив рідкокристалічного середовища на розглянуті молекули. А саме: як середовище впливає на конформаційні зміни молекул та на їх спектральні властивості.

**Матеріали та методи.** Досліджено два типи молекул мероціаніну — M-1 та M-2. Порівнювалися спектральні властивості згаданих молекул в різних органічних розчинниках, таких як ацетонітрил, толуол, гліцерин та рідкий кристал 4-пентил-4'-ціанобіфеніл (5ЦБ). Для дослідження конформаційних змін молекул використовувались стаціонарні та часороздільні спектри випромінювання молекулярних розчинів мероціаніну. Для визначення часу життя молекулярних збуджених станів була використана методика часоскорельованого підрахунку поодиноких фотонів з пікосекундною роздільною здатністю у часі.

**Результати.** Результати показують, що оптичні властивості сильно залежать від конформації спряження донор- $\pi$ -акцепторних сполук. У більш в'язких розчинниках збільшуються квантовий вихід і час життя ФЛ. Рідкокристалічне середовище змінює конформацію мероціанінових молекул як в основному, так і в збудженому станах.

**Висновки.** Аналіз результатів є підґрунтям для побудови теорії, яка пояснює властивості молекулярних D- $\pi$ -A сполук після оптичного збудження. Молекули мероціаніну та рідкого кристалу утворюють молекулярні пари. Рідкокристалічна молекула визначає конформацію молекули мероціаніну в парі. Більше того, обидва типи мероціанінових молекул у рідкому кристалі мають однакову конформацію. Це припущення пояснює подібність оптичних властивостей молекул M-1 та M-2 у рідкому кристалі.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** фотолюмінесценція; 4-пентил-4'-ціанобіфеніл (5ЦБ); D- $\pi$ -A молекулярні комплекси; мероціанінові барвники.

## ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПОЗИТОВ, СОСТОЯЩИХ ИЗ НЕМАТИЧЕСКИХ ЖИДКИХ КРИСТАЛЛОВ И МЕРОЦИАНИНОВ

М.Б. Малиновский, М.М. Севрюкова, Ю.П. Пирятинский

*Институт физики НАН Украины, просп. Науки, 46, Киев, 03028, Украина*

**Актуальность.** Рассмотренные молекулы мероцианина имеют донорные и акцепторные группы, соединенные полимерной цепью. Сопряженные донорные D и акцепторные A части мероцианиновых молекул являются планарными в основном состоянии. D- $\pi$ -A молекулярные комплексы могут изменять свою конформацию в возбужденном состоянии благодаря цис-транс-конформационным переходам. Вязкость влияет на изменение конформации, а также на затухание фотолюминесценции (ФЛ) и ее время жизни. Поэтому ФЛ мероцианиновых молекул, как в основном, так и в возбужденном состоянии, сильно зависит от среды. Нематический жидкий кристалл был использован в качестве растворителя для молекул мероцианина, поскольку он ориентирует молекулы мероцианина вдоль своей оси и чувствителен к внешнему электромагнитному полю. D- $\pi$ -A молекулярные комплексы являются перспективными для молекулярной электроники (приборы для записи и обработки информации), оптоэлектроники (лазерные технологии), а также для биологических исследований (спектральные зонды, например известный тиофлавин T) поскольку ФЛ этих молекул существенно зависит от природы среды.

**Цель работы.** Основная цель данной работы — исследовать и объяснить влияние жидкокристаллической среды на рассматриваемые молекулы. А именно: как среда влияет на конформационные изменения молекул и на их спектральные свойства.

**Материалы и методы.** Исследовано два типа молекул мероцианина — M-1 и M-2. Сравнивались спектральные свойства упомянутых молекул в различных органических растворителях, таких как ацетонитрил, толуол, глицерин и жидкий кристалл 5CB. Для исследования конформационных изменений молекул использовались стационарные и разделенные во времени спектры излучения молекулярных растворов мероцианина. Для определения времени жизни возбужденных состояний молекул была использована методика скоррелированного во времени подсчета единичных фотонов с пикосекундным разрешением во времени.

**Результаты.** Результаты показывают, что оптические свойства сильно зависят от конформации сопряжения донор- $\pi$ -акцепторных соединений. В более вязких растворителях увеличивается



квантовый выход и время жизни ФЛ. Жидкокристаллическая среда изменяет конформацию мероцианиновых молекул как в основном, так и в возбужденном состояниях.

**Выводы.** Анализ результатов служит основой для построения теории, объясняющей свойства молекулярных D- $\pi$ -A соединений после оптического возбуждения. Молекулы мероцианина и жидкого кристалла образуют молекулярные пары. В паре жидкокристаллическая молекула определяет конформацию молекулы мероцианина. Более того, оба типа мероцианиновых молекул в жидком кристалле имеют одинаковую конформацию. Это предположение объясняет сходство оптических свойств молекул M-1 и M-2 в жидком кристалле.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** фотолюминесценция; 4-пентил-4'-цианобифенил (5CB); D- $\pi$ -A молекулярные комплексы; мероцианиновые красители.

The structure of merocyanine molecules may be either planar or twisted [1]. The photoluminescence (PL) of D- $\pi$ -A complexes strongly depends on molecular structure. We may investigate their properties in different shapes by changing medium, since viscosity of solvent affects structure of merocyanine molecules [2, 3]. Considering a structure of liquid crystals (LC) we assumed that it is possible to utilize them as the elastic molecular mediums. Moreover, liquid crystals might be used as the template for orientational ordering of luminescent organic molecules placed in them [4, 5]. The interaction of molecular D- $\pi$ -A complexes based on merocyanine dyes with LC template produces interesting phenomena: formation of merocyanine and LC molecular pairs, conformational specification of D- $\pi$ -A complexes and delaying of conformational changes of D- $\pi$ -A complexes during their relaxation from the excited state. Merocyanine and LC molecular structures form a nanocomposite material that is easily controlled by external electric and magnetic fields and, thus, can be used in electro-optics and nonlinear optics.

We are interested in the conformation-dependent optical properties of merocyanine dyes. For this reason the optical spectra properties of the merocyanine dyes in the 4-pentyl-4'-cyanobiphenyl (5CB) liquid crystal were compared with their spectral properties in organic solvents of various viscosities — acetonitrile, glycerol, and polarities — acetonitrile, toluene. The optical investigation techniques, such as stationary photoluminescence, time-resolved emission spectra were used to analyze kinetics of conformational transformations.

## EXPERIMENTAL SECTION

### 1.1 Samples preparation

The merocyanine molecules are supramolecular D- $\pi$ -A complexes (Fig. 1) M-1 (2-(3-{2-[4-(dimethylamino)phenyl]vinyl}-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-ylidene)malononitrile) and M-2 (2-{5,5-dimethyl-3-[2-(2,3,6,7-tetrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinolin-9-yl)vinyl]cyclohex-2-en-1-ylidene}malononitrile). These molecules are utilized as the organic dyes.

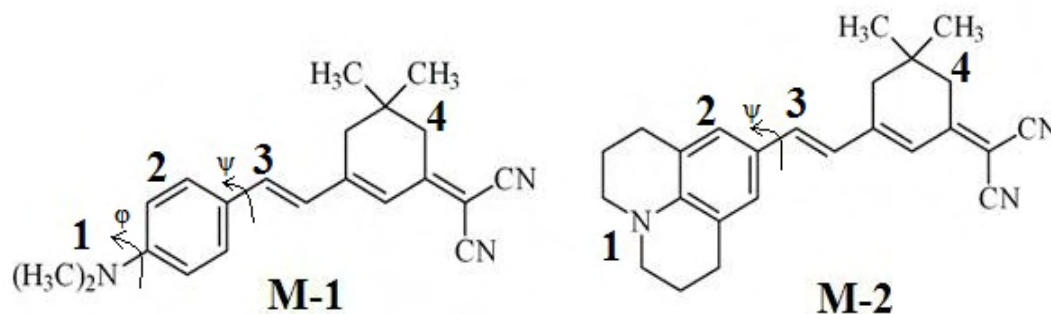


Fig. 1. Structural formulas of merocyanine molecules. 1 — dimethylaminogroup, 2 — benzene ring, 3 —  $\pi$ -electron system of metin groups (carbon chain), 4 — malodinitrile residue,  $\phi$  and  $\psi$ -torsion angles.

The M-1 and M-2 molecules consist of dimethylamino group, benzene ring,  $\pi$ -electron system of metin groups (carbon chain) and malodinitrile residue. The conformation of M-1 molecule depends on two torsion angles  $\varphi$  and  $\psi$ . The angle  $\varphi$  specifies the orientation of the dimethylamino group relative to the benzene ring. The angle  $\psi$  defines the orientation of the benzene ring relative to the carbon chain and malodinitrile residue. The energy barrier of  $N(CH_3)_2$  rotation relative to the benzene ring equals to  $2800\text{ cm}^{-1}$  and energy barrier of benzene ring with dimethylamino group rotation relative to the carbon chain equals to  $700\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ [2]. The M-2 molecule consists of the same elements, but rotation of  $N(CH_3)_2$  is blocked by trimethylene bridges, thus,  $\varphi = 0^\circ$ . Synthesis of M-1 and M-2 is described in the articles [6, 7].

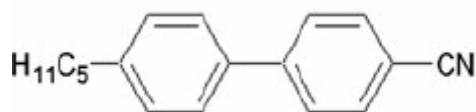


Fig. 2. Structural formula of liquid crystal 4-pentyl-4'-cyanobiphenyl (5CB).

Liquid crystal 4-pentyl-4'-cyanobiphenyl (Fig. 2) was used as a solvent for D- $\pi$ -A complexes. The LC was provided by Merck. 5CB LC is at nematic phase at  $22.5\text{--}35.5^\circ\text{C}$ . A crystalline phase is below  $22.5^\circ\text{C}$  and an isotropic phase is above  $35.5^\circ\text{C}$ . The supramolecular D- $\pi$ -A complexes were provided by Institute of Organic Chemistry, NAS of Ukraine. Samples were prepared by mixing the supramolecular complexes with 5CB LC. Since merocyanine molecules were dissolved in chloroform by manufacturer, samples were kept warm at  $80^\circ\text{C}$  to evaporate chloroform. To measure the PL of merocyanine dyes in 5CB template, we used optical quartz cuvettes  $100\ \mu\text{m}$  thick. The concentration of merocyanine molecules was  $5 \cdot 10^{-5}$  per LC molecule. The acetonitrile (low viscosity) and the glycerol (high viscosity) were also used as the solvents for M-1 and M-2 molecules.

### 1.2 Equipment

The optical density spectra were measured by Lambda 1050 UV/VIS/NIR (Perkin Elmer). The stationary PL spectra were measured by USB2000 + UV-VIS-ES spectrometer through optical fiber  $600\ \mu\text{m}$  diameter. The light-emitting diodes (LED) LLS-270, 385, 390 (Ocean Optics B.V.) were used to excite stationary PL. A semiconductor laser EPL-405 with  $\lambda_{ex} = 405\text{ nm}$  and pulse duration  $40\text{ ps}$  was used to excite non-stationary PL. The frequency of laser pulses could be changed from  $20\text{ MHz}$  to  $10\text{ KHz}$ . A LED with  $\lambda_{ex} = 255\text{ nm}$  and pulse duration  $900\text{ ps}$  was used to excite PL in UV range. The lifetimes of excited states  $\tau$  were measured by time-correlated single-photon counting (TCSPC) technique. The time dependence of the PL was approximated by the expression:

$$I(t) = \text{IRF} \cdot \sum_{i=1}^n A_i \exp\left(-\frac{t}{\tau_i}\right), \quad (1)$$

IRF — impulse response function;

$i$  — a number;

$\tau_i$  — the lifetimes of excited states;

$A_i$  — the pre-exponential factors;

$t$  — a time.

A certified colloidal solution was used to determine IRF. The time-resolved emission spectra (TRES) were measured by Life Spec II spectrofluorometer (Edinburgh Instruments Ltd, UK).



## RESULTS AND DISCUSSION

### 2.1 Optical properties of M-1 and M-2 molecules in acetonitrile

The optical density and PL spectra of M-1 and M-2 molecules in acetonitrile (highly polar solvent) are shown in Fig. 3. The concentration of each solution is  $c = 2 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l}$ . The bands in PL spectra with  $\lambda_{max} < 450 \text{ nm}$  are caused by the electronic transitions from the local electronic states of dimethylamino group. The PL bands with  $\lambda_{max} > 450 \text{ nm}$  are necessitated by first singlet ( $S_0 \rightarrow S_1$ )  $\pi\pi^*$  electronic transition that strongly depends on a carbon chain conformation [8]. The absorption spectral bands with  $\lambda_{max} = 498 \text{ nm}$  and  $\lambda_{max} = 545 \text{ nm}$  are also caused by the first singlet electronic transition. The absorption bands of M-2 solution are shifted to long-wavelength region by 47 nm more than the absorption bands of M-1 solution. Stokes shift in Fig. 3 is equal to 182 nm ( $5374 \text{ cm}^{-1}$ ). An investigation of solution M-2 in acetonitrile was described in paper [8].

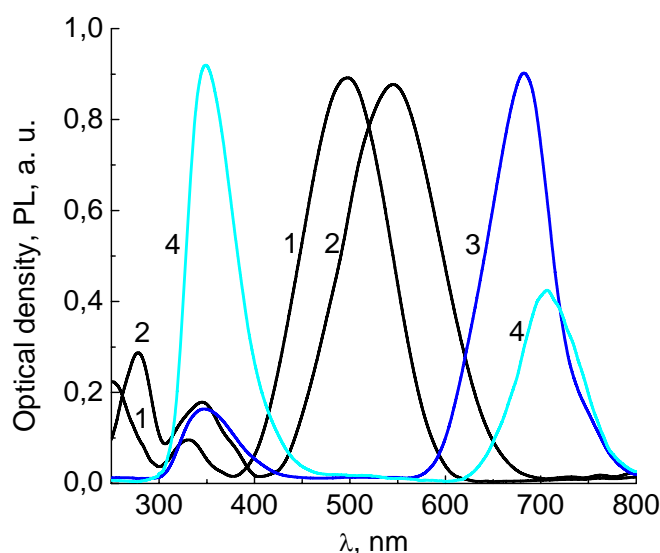


Fig. 3. Optical density (curves 1, 2) and PL (curves 3, 4) spectra of molecular solutions M-1 (curves 1, 3) and M-2 (curves 2, 4) in acetonitrile at 300 K.  $\lambda_{ex} = 255 \text{ nm}$ .

The lifetime of PL is an average time of remaining molecules in an excited state. Determination of the PL lifetime allows us to find energy transfer speed, the reaction rate in an excited state and information about interaction of excited molecule and medium. The calculations prove that conjugated parts (dimethylamino groups) of M-1 and M-2 molecules are planar, that is typically for  $\pi$ -electron systems [9]. The conformational changes of M-1 and M-2 molecules in an excited state lead to decrease of PL lifetime and quantum yield. The kinetic curves of PL decay of M-1 (a, c) and M-2 (b, d) [8] molecules solved in acetonitrile at 296 K (a, b) and 4.2 K (c, d) are shown in Fig. 4.

The PL decay of organic dyes in acetonitrile solvent at room temperature (296 K) is monoexponential with lifetime in subnanosecond range. The PL decay at low temperature (4.2 K) is well interpolated by biexponential function (2) with lifetimes in picosecond and nanosecond range.

$$I_{PL}(t) = A_1 e^{-t/\tau_1} + A_2 e^{-t/\tau_2} \quad (2)$$

The PL lifetimes of different wavelength were determined from PL decay curves and are shown in Table 1. The data set of M-2 was kindly provided by authors of article [8].

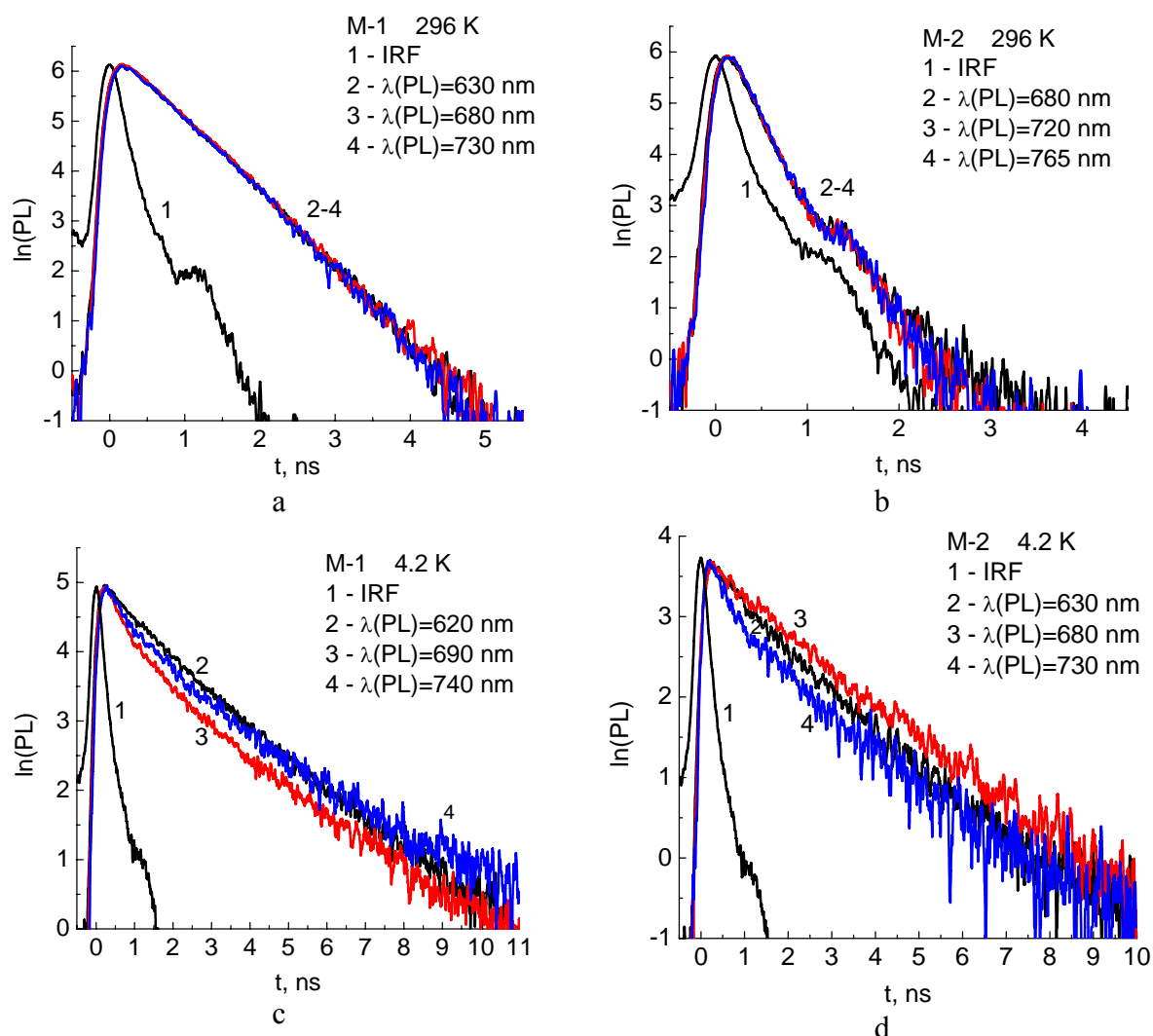


Fig. 4. Kinetic PL decay curves of molecular solutions M-1 (a, c) and M-2 (b, d) in acetonitrile at 296 K (a, b) and at 4.2 K (b, d).  $\lambda_{ex} = 405$  nm.

Table 1. PL lifetimes of different wavelengths of molecular solutions M-1 and M-2 in acetonitrile.

The contribution of each of the decay components  $\tau_1$  and  $\tau_2$  is determined as a percentage.

$\chi^2$  – standard deviation of lifetime.

	$\lambda_{PL}, \text{nm}$	$\tau_1, \text{ps}$	$\tau_2, \text{ps}$	$\chi^2$
M-2, T=296 K	680	135		1,574
	765	135		1,680
M-2, T=4,2 K	630	115 (10%)	1700 (90%)	1,184
	680	129 (7%)	2096 (93%)	1,201
	730	110 (20%)	1400 (80%)	1,243
M-1, T=296 K	630	520		1,280
	680	520		1,236
M-1, T=4,2 K	620	268 (13%)	1980 (87%)	1,141
	690	220 (27%)	1940 (73%)	1,740
	740	216 (16%)	2100 (84%)	1,120

The molecules M-1 and M-2 in acetonitrile solvent have a very low quantum yield at room temperature. Such a low quantum PL yield for molecules is explained by its torsional relaxation (change in angle  $\psi$  upwards to  $90^\circ$ ) in the excited state [7]. Torsional relaxation causes a state that is characterized by almost zero value of the oscillator force and is non-

fluorescent. The transition from fluorescent to non-fluorescent state is delayed by the viscosity of the medium and is the main reason for the insignificant quantum yield in low viscous solvents. However, quantum yield is high in acetonitrile at low temperature because torsional relaxations are frozen.

### 2.2 Optical properties of M-1 and M-2 molecules in toluene

The stationary PL spectra of M-1 and M-2 molecules in toluene (weakly polar solvent) are shown in Fig. 5 a. The emission of the first ( $S_1 \rightarrow S_0$ ) electronic transition is shown in this region. The excitation wavelength  $\lambda_{ex} = 337.1 \text{ nm}$  was emitted by a nitrogen laser. It is worth mentioning that the PL quantum yields of merocyanine solutions are higher at low temperature than at room temperature. The PL spectral structure and bands maxima of investigated samples in toluene do not depend significantly on temperature changes (from 296 K to 4.2 K). The PL spectrum of M-1 in toluene at 4.2 K consists of 589 nm and 625 nm bands with shoulder at 660 nm. The band at 625 nm and 680 nm shoulder is typical for PL of M-2 in toluene at 4.2 K. The spectra of M-2 in toluene were also investigated in paper [8].

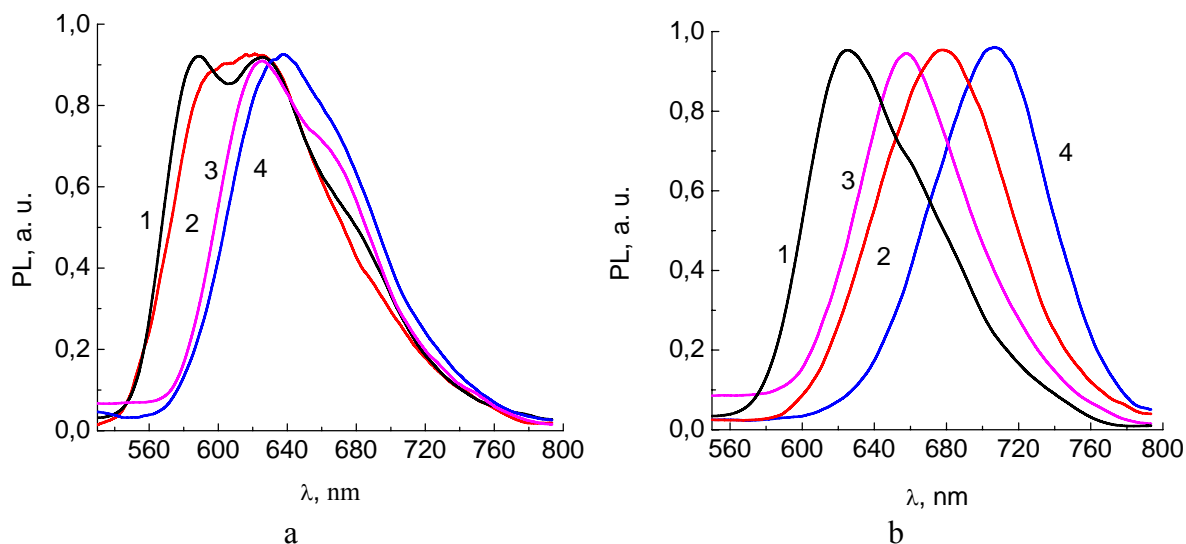


Fig. 5. PL spectra of molecular solutions M-1 (curves 1, 2) and M-2 (curves 3, 4) in toluene (a) and acetonitrile (b) at 296 K (curves 2, 4) and 4.2 K (curves 1, 3).  $\lambda_{ex} = 337.1 \text{ nm}$ .

As it is shown in Fig. 5 a, b, the solvent polarity significantly affects PL of samples in the region of first electronic transition at room temperature. Changes of polarity of the medium induce conformational transformation of carbon chain [10] and vary electric dipole moment of merocyanine molecules in excited state. It is known that the PL of many dye solutions does not depend on polarity of solvent at low temperature, because there are no solvation processes. But in Fig. 5 a, b it is shown that the PL depends on polarity even at 4.2 K [8]. The common for both solvents is short-wave shift of the PL bands maxima at low temperature compared to bands maxima at room temperature.

### 2.3 Optical properties of M-1 and M-2 molecules in glycerol

The PL spectra of molecular solutions M-1 and M-2 in glycerol with the bands maxima at 697 nm and 710 nm respectively are shown in Fig. 6.

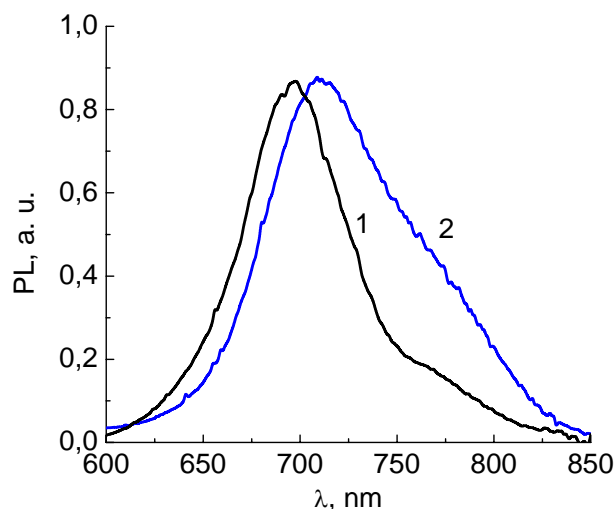


Fig. 6. PL spectra of molecular solutions M-1 (1), M-2 (2) in glycerol at 296 K.  $\lambda_{ex} = 405 \text{ nm}$ .

The PL bands maxima of molecular solutions M-1 and M-2 in glycerol are slightly (3-4 nm) shifted to long-wave region compared to acetonitrile.

The kinetic of PL decay of M-1 (a) and M-2 (b) molecular solutions in glycerol for many wavelengths is shown in Fig. 7. The kinetic curves for these samples are biexponential.

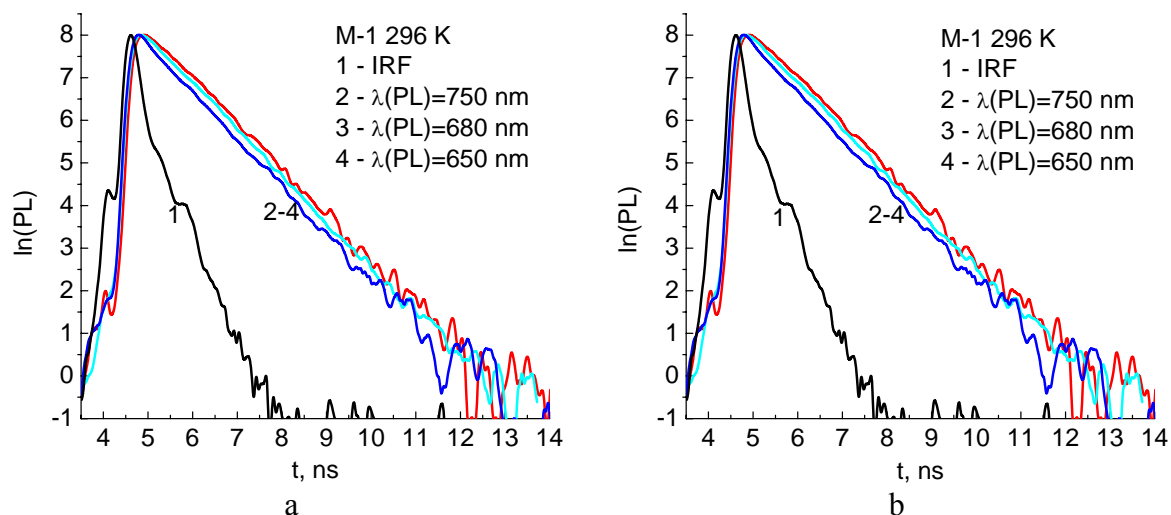


Fig. 7. Kinetic PL decay curves of molecular solutions M-1 (a) and M-2 (b) in glycerol at 296 K.  $\lambda_{ex} = 405 \text{ nm}$ .

The PL lifetimes of supramolecular D- $\pi$ -A complexes solved in glycerol at room temperature are shown in Table 2. These lifetimes are much longer compared to PL lifetimes of M-1 and M-2 in acetonitrile at 296 K.

In contrast to acetonitrile, glycerol is very viscous solvent that is why torsion relaxations are delayed there, thus, quantum yield increases and the PL lifetime prolongs.

Table 2. PL lifetimes of different wavelengths of molecular solutions M-1 and M-2 in glycerol. The contribution of each of the decay components  $\tau_1$  and  $\tau_2$  is determined as a percentage.  $\chi^2$  – standard deviation of lifetime.

	$\lambda_{PL}$ , nm	$\tau_1$ , ps	$\tau_2$ , ps	$\chi^2$
M-2, T=296K	700	120 (35%)	850 (65%)	1.146
	760	160 (25%)	770 (75%)	1.020
M-1, T=296 K	640	120 (22%)	1350 (78%)	1.100
	680		1080	1.460
	700	160 (11%)	1340 (89%)	1.080

#### 2.4 Optical properties of M-1 and M-2 molecules in liquid crystal 5CB

The PL spectra and kinetic PL decay curves of molecular solutions M-1 and M-2 in the liquid crystal (LC) 5CB are shown in Fig. 8 and Fig. 9 respectively. The benzene rings of 5CB molecule are non-coplanar in the ground state and coplanar in an excited state. The angle between benzene rings is in range  $0^\circ - 30^\circ$  [11, 12]. The LC molecules emit in both conformations. The molecules of cyanobiphenyl in the nematic phase form pre-dimeric centrosymmetric structures with the arrangement of cyanobiphenyl molecules on a head-to-tail rule [13]. The pre-dimeric pairs are sandwich-type complexes that are usually formed from non-coplanar 5CB molecules. Due to steric restrictions, the molecules in such pairs are at a significant distance from each other. Since the distances between molecules are shorter in an excited state [12, 14], interaction between molecules increases and pre-dimeric pairs become excimers.

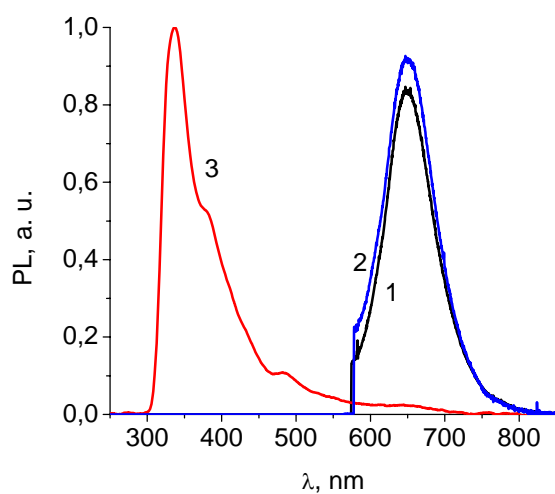


Fig. 8 a. PL spectra of molecular solutions M-1 (curve 1), M-2 (curves 2, 3) in the 5CBLC at 296 K.  $\lambda_{ex} = 385 \text{ nm}$  (curve 1),  $\lambda_{ex} = 530 \text{ nm}$  (curve 2),  $\lambda_{ex} = 270 \text{ nm}$  (curve 3).

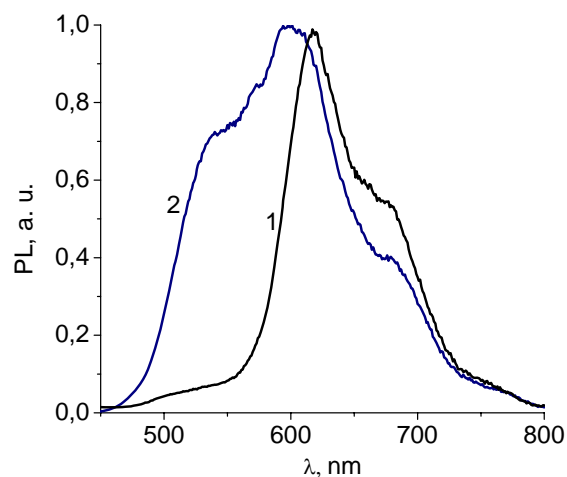


Fig. 8 b. PL spectra of molecular solutions M-1 (curve 1), M-2 (curve 2) in the 5CBLC at 4.2 K.  $\lambda_{ex} = 405 \text{ nm}$  (curves 1, 2).

It is known that the classical excimers are characterized by the PL band at 422 nm with long lifetime ( $t = 12 \text{ ns}$ ) at room temperature [12]. Since it is seen quenching of excimer PL of 5CB in Fig. 8 a (curve 3), we propose that the dissolved merocyanine dye molecules displace one of the cyanobiphenyl molecules in the pre-dimeric pairs and new pairs of merocyanine and LC molecules are formed. The PL spectra bands at 337 nm and 375 nm in Fig. 8 a (curve 3) might be emitted by monomers and dimers of LC [12, 14]. Considering the similarities of spectral shape in range  $\lambda_{PL} > 600 \text{ nm}$  (Fig. 8 a, b) we assume that the M-1 and M-2 molecules adjust to conformation of 5CB LC molecules. The liquid crystal, as a template

for the molecular D- $\pi$ -A complexes, specifies their orientation and can lead to some conformational changes in the structure of merocyanine dyes in the ground state, but the significant torsional conformational changes in the excited state are not allowed due to considerable elasticity of the LC.

Time-resolved emission spectra (TRES) of M-1 and M-2 in 5CB LC at 4.2 K are shown in Fig. 10. The map of TRES is shown in Fig. 11.

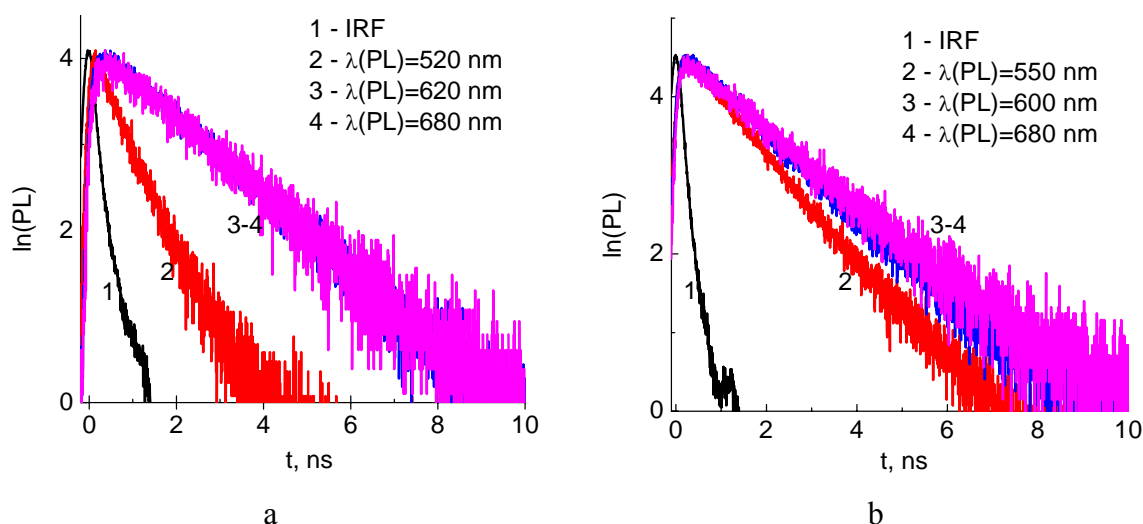


Fig. 9. Kinetic PL decay curves of molecular solutions M-1 (a) and M-2 (b) in 5CB LC at 4.2 K.  $\lambda_{ex} = 405 \text{ nm}$ .

Table 3. PL lifetimes of different wavelengths of molecular solutions M-1 and M-2 in 5CB LC.

The contribution of each of the decay components  $\tau_1$  and  $\tau_2$  is determined as a percentage.

$\chi^2$  – standard deviation of lifetime.

	$\lambda$ , nm	$\tau_1$ , ps	$\tau_2$ , ps	$\chi^2$
M-2, T=4.2 K	550	384 (12%)	1482 (88%)	1.216
	600	551 (12%)	1874 (88%)	1.131
	680	142 (5%)	2023 (95%)	1.153
M-1, T=4.2 K	520	162 (32%)	844 (68%)	1.142
	620	80 (5%)	2096 (95%)	1.442
	680		2167	1.103

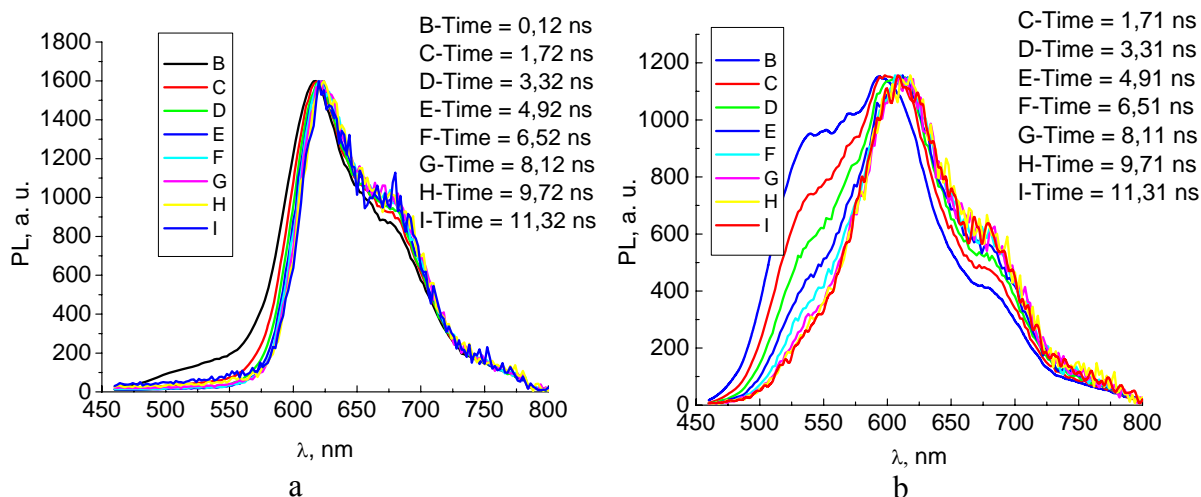


Fig. 10. TRES of molecular solutions M-1 (a), M-2 (b) in the 5CBLC at 4.2 K.  $\lambda_{ex} = 405 \text{ nm}$ .

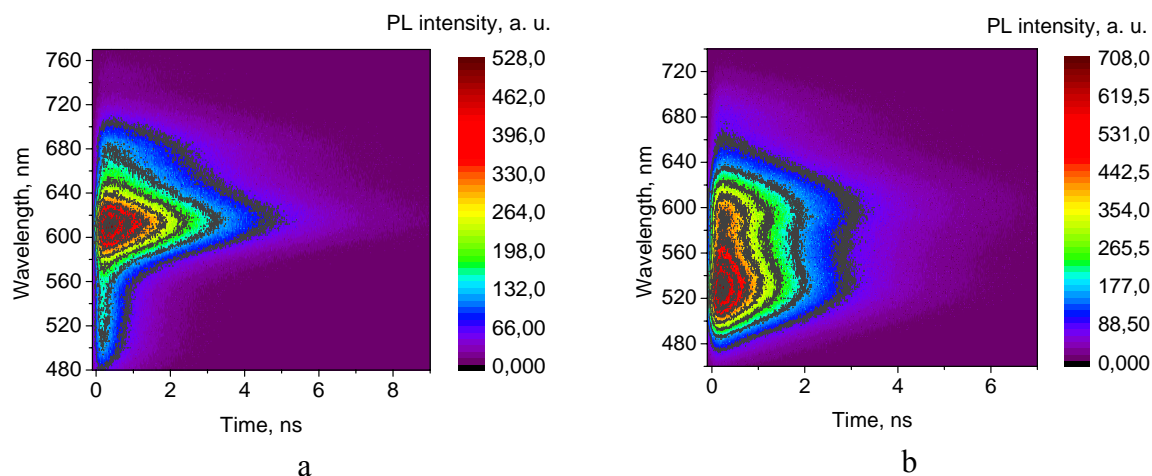


Fig. 11. Map of TRES of molecular solutions M-1 (a), M-2 (b) in the 5CBLC at 4.2 K.  $\lambda_{ex} = 405 \text{ nm}$ .

The fastest changes in the PL spectra of M-1 solution are observed at the initial time interval  $t_d = 0.1 - 1 \text{ ns}$  after optical excitation at spectral ranges 480–550 nm and 640–760 nm. There also is a slow PL component at interval  $t_d = 0.1 - 8 \text{ ns}$ , that prevails at the spectral range 550–650 nm. The most intense PL of molecular solution M-1 in the 5CB LC is at the spectral range 550–650 nm. The main difference of M-2 solution is a high intensity at the spectral range 460–550 nm at short delay times ( $t_d = 0.1 - 1 \text{ ns}$ ).

## CONCLUSIONS

Analyzing optical properties of merocyanine dye molecules in different solvents, we summarize that torsional relaxations of D- $\pi$ -A complexes in low viscous solvents are frozen at 4.2 K. The solvents with high viscosity delay torsional relaxations of merocyanine molecules also. Blocking of torsional relaxations significantly increases quantum yield and prolongs PL lifetime of M-1 and M-2 molecular solutions. The PL spectral properties (spectral shape and bands maxima) of molecular solutions M-1 and M-2 in 5CB LC are similar. This phenomenon is explained by formation of merocyanine and liquid crystal molecular pairs and conformational adaptation of both types of merocyanine molecules to 5CB LC molecules. The concentration of molecular solutions is low  $5 \cdot 10^{-5}$  merocyanine molecules per one LC molecule. Since the conformations of M-1 and M-2 molecules are almost identical, the  $\pi$ -electron conjugation of benzene ring and carbon chain is similar in both types of molecules and, thus, we see corresponding spectra.

## ACKNOWLEDGMENTS


We appreciate the discussions with Anatoliy Verbitsky and the support of the Institute of Organic Chemistry, NAS of Ukraine.


## CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

## AUTHORS' ORCID ID

M.B. Malynovskyi  <https://orcid.org/0000-0001-7309-6750>

M.M. Sevryukova  <https://orcid.org/0000-0002-4387-8345>

Yu.P. Piryatinski  <https://orcid.org/0000-0001-7225-8084>



## REFERENCES

1. Sevryukova MM, Piryatinski YuP, Vasylyuk SV, Yashchuk VM, Viniychuk OO, Gerasov AO, et al. Cyanine-like and polyenic relaxation paths of merocyanine derivatives of malonodinitrile in the excited state detecting by low temperature time-resolved fluorescence. *Ukr J Phys.* 2012;57(8):812–23.
2. Maskevich AA, Stsiapura VI, Kuzmitsky VA, Kuznetsova IM, Povarova OI, Uversky VN, et al. Spectral properties of thioflavin T in solvents with different dielectric properties and in a fibril-incorporated form. *J Proteome Res.* 2007;6(4):1392–401. <https://doi.org/10.1021/pr0605567>
3. Stsiapura VI, Maskevich AA, Kuzmitsky VA, Turoverov KK, Kuznetsova IM. Computational study of thioflavin T torsional relaxation in the excited state. *J Phys Chem A.* 2007;111(22):4829–35. <https://doi.org/10.1021/jp070590o>
4. Lisetski LN, Zavora LN, Kasian NA, Vashchenko OV, Panikarskaya VD. Cholesteric liquid crystals doped with molecules of organic scintillator materials. *Mol Cryst Liq Cryst.* 2009;510(1):106–15. <https://doi.org/10.1080/15421400903058692>
5. Piryatinski YuP, Sevryukova MM. Optical properties of  $\pi$ -conjugated donor-acceptor systems with controlled hyperpolarizability. *Semiconductor Physics, Quantum Electronics and Optoelectronics.* 2008;11(3):292–302.
6. Lemke R. Solvatochromie von 80 m $\mu$  in verschiedenen Alkoholen bei Arylidenisophoron-Abkömmlingen [80 m $\mu$ -Solvatochromy of Arylidenisophoron Derivatives in Different Alcohols]. *Chemische Berichte.* 1970;103(6):1894–9. [In German]. <https://doi.org/10.1002/cber.19701030628>
7. Lemke R. Knoevenagel-Kondensationen in Dimethylformamid [Knoevenagel condensations in dimethylformamide]. *Synthesis.* 1974;1974(5):359–61. [In German]. <https://doi.org/10.1055/s-1974-23322>
8. Sevryukova M, Piryatinski YuP. Dynamics of transfer of electron excitation in a donor-acceptor system with a carbon chain and ways of its relaxation. *Semiconductor Physics Quantum Electronics and Optoelectronics.* 2017 Jul;20(4):406–17. <https://doi.org/10.15407/spqeo20.04.406>
9. Fabian J, Zahradnic R. MO-LCAO calculations on polymethines. 6. PPP calculations on the vinylene shift of symmetric dyes. *Wiss Z Tech Univ (Dresden).* 1977;26:315–23.
10. Lutsyk P, Piryatinski Y, Kachkovsky O, Verbitsky A, Rozhin A. Unsymmetrical relaxation paths of the excited states in cyanine dyes detected by time-resolved fluorescence: polymethinic and polyenic forms. *J Phys Chem A.* 2017;121(43):8236–46. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.7b08680>
11. David C, Baeyens-Volant D. Absorption and fluorescence spectra of 4-cyanobiphenyl and 4'-alkyl- or 4'-alkoxy-substituted liquid crystalline derivatives. *Mol Cryst Liq Cryst.* 1980;59(3–4):181–96. <https://doi.org/10.1080/00268948008071422>
12. Piryatinski YP, Yaroshchuk OV. Photoluminescence of pentyl-cyanobiphenyl in liquid-crystal and solid-crystal states. *Optics and Spectroscopy.* 2000;89(6):860–6. <https://doi.org/10.1134/1.1335034>
13. Petrov VF, Grebenkin MF, Ostrovskij BIC. Issledovanie struktury nematicheskoy fazy cyanoproizvodnykh piridina metodom rasseyaniya rentgenovskikh luchey [Study of the structure of the nematic phase of cyanide pyridine by X-ray scattering]. *Kristallografiya.* 1988;33(5):1194–201.
14. Piryatinski YP, Yaroshchuk OV. Orientation of pentyl-cyanobiphenyl layers and variations in their luminescence spectra under UV irradiation. *Optics and Spectroscopy.* 2002;92(4):517–23. <https://doi.org/10.1134/1.1473590>



Original article

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-07>

UDC 66.065.7:577.3

## INFLUENCE OF CELLULOSE PARTICLES ON CHEMICAL RESISTANCE, MECHANICAL AND THERMAL PROPERTIES OF EPOXY COMPOSITES

N.V. Sigareva<sup>1</sup>, V.A. Barbash<sup>2</sup>, O.V. Yashchenko<sup>2</sup>, S.V. Shulga<sup>1</sup>,  
D.L. Starokadomsky<sup>1</sup>, B.M. Gorelov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Science of Ukraine,  
17 General Naumov st., Kyiv, 03164, Ukraine

e-mail: [microft2@ukr.net](mailto:microft2@ukr.net)

<sup>2</sup>National Technical University of Ukraine "Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute",  
37 Prosp. Peremohy, Kyiv, 03056, Ukraine

e-mail: [v.barbash@kpi.ua](mailto:v.barbash@kpi.ua)

Submitted November 06, 2019

Accepted March 02, 2020

**Background:** The technological developments for nanocellulose production from cheaper plant materials compared to wood, in particular, agricultural waste is an urgent task of nanobiophysics. The discovery of possibility of expanding the functional characteristics of materials in compositions with modified cellulose particles essentially stimulated the interest of researchers in cellulose composites. Surface modification of cellulose particles by functional materials, such as dyes, metal oxides, silicon, allows applying composites with modified cellulose in various areas of modern industry. A significant improvement in the operational performances of functionalized cellulose particles can be achieved by using them as filler in polymers. Epoxy resin compositions with modified and unmodified cellulose particles, studied in present work, are an example of hybrid biosystem. The interfacial interaction of filler particles with the epoxy matrix, their concentration and dispersion can change the physical and chemical properties of the biopolymer and the functional parameters of biocomposites. Studying the influence of external fields on the physical and chemical properties of epoxy resin-based biosystems and their influence on operational parameters seems to be an urgent problem of advanced and sustained materials science.

**Objectives:** The purpose of this work was to develop an effective nanocellulose synthesis from plant materials and surface functionalization of micro- and nanocellulose particles with clathrochelate iron (II) dye as well obtaining biocompositions of epoxy resin with functionalized and non-functionalized micro- and nanocellulose, and to explore of the morphology, chemical resistance, mechanical and thermal properties of epoxy composites with cellulose micro and nanoparticles.

**Materials and methods:** The studying objects were the composites of epoxy resin Eposir-7120 with a polyethylene polyamine "PEPA" hardener in a ratio of 6.2:1 and 10% cellulose micro and nanoparticles. The microcellulose obtained from wood has been a commercial product. Nanocellulose has been synthesized from organosolv cellulose obtained from *Miscanthus x giganteus* stalks. Surface modification of micro- and nanocellulose was performed using the clathrochelate iron (II) dye. The specific surface area of cellulose particles was determined using low-temperature nitrogen adsorption-desorption according to the Brunauer-Emmett-Teller method. Mechanical parameters were determined using universal Shopper and UMM-10 machines. Thermal analysis was performed using Q1500 analyzer. Swelling was determined by the gravimetric method.

**Results:** Elastic modulus  $E$ , compressive strength  $\sigma$  and thermogravimetric parameters were determined. It was shown that in composites with micro and nanocellulose the  $E$  rises in 7.0–12.2% while the  $\sigma$  increases in 9.1% for composites with cellulose micro particles. The loading resin with nanocellulose and modified cellulose microparticles no affects the  $\sigma$  value of composites. The thermal stability of epoxy polymer (310°C) reduces after loading with micro and nanocellulose to 290 and 300°C, respectively. Chemical resistance of composites with both celluloses to 20% nitric acid reduces. In neutral medium swelling characterizes by rapid sorption to saturation of 15–20% acetone in 36 hours.

**Conclusions:** Thus, the synthesis method of nanocellulose from plant materials and functionalization of its surface with clathrochelate iron (II) were developed. Light response of dye was detected in visible spectral range. Epoxy resin composites with 10% micro and nanocellulose were obtained. The filling

effect with micro- and nanocellulose at elastic modulus, compressive strength, and thermal stability of epoxycomposites was studied. The swelling processes run similarly in composites with cellulose micro and nanoparticles.

**KEY WORDS:** epoxy composite; microcellulose; nanocellulose; synthesis; mechanical parameters; thermal parameters; chemical resistance.

## ВПЛИВ ЧАСТИНОК ЦЕЛЮЛОЗИ НА ХІМІЧНУ СТІЙКІСТЬ, МЕХАНІЧНІ ТА ТЕРМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕПОКСИДНИХ КОМПОЗИТІВ

Н.В. Сігарьова<sup>1</sup>, В.А. Барбаш<sup>2</sup>, О.В. Ященко<sup>2</sup>, С.В. Шульга<sup>1</sup>,  
Д.Л. Старокадомський<sup>1</sup>, Б.М. Горєлов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйко Національної академії наук України,  
вул. Генерала Наумова, 17, м. Київ, 03164, Україна

<sup>2</sup>Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»,  
просп. Перемоги, 37, м. Київ, 03056, Україна

**Актуальність:** Технологічні розробки для виробництва наноцелюлози з дешевших рослинних матеріалів у порівнянні з деревиною, зокрема, сільськогосподарськими відходами, є актуальним завданням сучасної нанобіофізики. Відкриття можливості розширення функціональних характеристик матеріалів у композиціях з модифікованими частинками целюлози по суті стимулювало інтерес дослідників до целюлозних композитів. Модифікація поверхні частинок целюлози функціональними матеріалами, такими як барвники, оксиди металів, кремній, дозволяє застосовувати композити з модифікованою целюлозою в різних областях сучасної промисловості. Істотне поліпшення експлуатаційних параметрів функціоналізованих частинок целюлози можна отримати, використовуючи їх в полімерах в якості наповнювачів. Прикладом гібридних біокомпозитів є вивчені у даній роботі композити епоксидної смоли з частинками модифікованої та немодифікованої целюлози. Міжфазна взаємодія частинок наповнювача з епоксидною матрицею, їх концентрація та дисперсність можуть змінювати фізико-хімічні властивості біополімеру та функціональні параметри біокомпозитів. Дослідження впливу зовнішніх чинників на фізико-хімічні властивості біосистем на основі епоксидної смоли та їх вплив на експлуатаційні параметри є актуальною проблемою сучасного матеріалознавства.

**Мета роботи:** розробка ефективного синтезу наноцелюлози з рослинних матеріалів та проведення функціоналізації поверхні мікро- та наноцелюлозних частинок клатрохелатом заліза (II), отримання біокомпозитів епоксидної смоли з вихідною та функціоналізованою мікро та наноцелюлозою, дослідження морфології, хімічної стійкості, механічних та термічних властивостей епоксидних композитів з мікро- та наночастинками целюлози.

**Матеріали та методи.** Об'єктами дослідження були композити епоксидної смоли Eposir-7120 з поліетиленполіаміновим затверджувачем "PEPA" у співвідношенні 6,2:1 та 10% мікро- та наночастинок целюлози. Мікроцелюлоза, отримана з деревини, була комерційним продуктом. Наноцелюлоза синтезована з органосольвентної целюлози, отриманої зі стебел *Miscanthus x giganteus*. Модифікацію поверхні мікро- та наноцелюлози проводили барвником — клатрохелатом заліза (II). Питому поверхню частинок целюлози визначали за допомогою низькотемпературної адсорбції-десорбції азоту за методом Брунауєра-Еммета-Теллера. Механічні параметри визначали за допомогою універсальних машин Shopper та UMM-10. Тепловий аналіз провели за допомогою деріватографа Q1500. Набухання досліджували гравіметричним методом.

**Результати.** Визначено модуль пружності  $E$ , міцність на стиск  $\sigma$  та термогравіметричні параметри. Показано, що в композитах з мікро- та наноцелюлозою  $E$  підвищується на 7,0–12,2%, а  $\sigma$  збільшується на 9,1% для композитів з мікрочастинками целюлози. Наповнення смоли наночастинками целюлози та модифікованої мікроцелюлози не впливає на значення  $\sigma$  композитів. Термічна стабільність епоксидного полімеру (310°C) знижується після наповнення мікро- та наноцелюлозою до 290 та 300°C відповідно. Хімічна стійкість епоксикомпозитів з мікро- та наноцелюлозою до 20%-ї азотної кислоти знижується. У нейтральному середовищі процес набухання епоксикомпозитів характеризується швидкою сорбцією до насичення 15-20% ацетоном за 36 годин.

**Висновки.** Таким чином, розроблено метод синтезу наноцелюлози з рослинних матеріалів та проведена функціоналізація її поверхні клатрохелатом заліза (II). Світлова реакція адсорбованого барвника виявлена у видимому спектральному діапазоні. Отримані композити епоксидної смоли з 10% мікро- та наноцелюлози. Вивчено вплив наповнення мікро- та наноцелюлозою на модуль пружності, міцність на стиск, термічну стійкість епоксикомпозитів. Процеси набухання відбуваються аналогічно у композитах з мікро- та наноцелюлозою.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** епоксикомпозит; мікроцелюлоза; наноцелюлоза; синтез; механічні параметри; термічні параметри; хімічна стійкість.

## ВЛИЯНИЕ ЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ ЧАСТИЦ НА ХИМИЧЕСКУЮ СТОЙКОСТЬ, МЕХАНИЧЕСКИЕ И ТЕРМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭПОКСИДНЫХ КОМПОЗИТОВ

Н.В. Сигарёва<sup>1</sup>, В.А. Барбаш<sup>2</sup>, О.В. Яценко<sup>2</sup>, С.В. Шульга<sup>1</sup>,  
Д.Л. Старокадомский<sup>1</sup>, Б.М. Горелов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины,  
ул. Генерала Наумова, 17, г. Киев, 03164, Украина

<sup>2</sup>Национальный технический университет Украины «Киевский политехнический институт  
им. Игоря Сикорского», просп. Победы, 37, г. Киев, 03056, Украина

**Актуальность:** Технологические разработки производства наноцеллюлозы из более дешевых растительных материалов по сравнению с древесиной, в частности, сельскохозяйственными отходами, являются актуальной задачей современной нанобиофизики. Открытие возможности расширения функциональных характеристик материалов в композициях с модифицированными частицами целлюлозы существенно стимулировало интерес исследователей к целлюлозным композитам. Модификация поверхности частиц целлюлозы функциональными материалами, такими как красители, оксиды металлов, кремний позволяет применять композиты с модифицированной целлюлозой в различных областях современной промышленности. Существенное улучшение эксплуатационных параметров функционализированных частиц целлюлозы можно достичь, используя их в полимерах в качестве наполнителя. Примером гибридных биокомпозитов являются изученные в данной работе композиты эпоксидной смолы с частицами модифицированной и немодифицированной целлюлозы. Межфазное взаимодействие частиц наполнителя с эпоксидной матрицей, их концентрация и дисперсность могут изменять физико-химические свойства биополимера и эксплуатационные параметры биокомпозитов. Исследование влияния внешних воздействий на физико-химические свойства биосистем на основе эпоксидной смолы и их эксплуатационные параметры представляется актуальной проблемой современного материаловедения.

**Цель работы:** разработка эффективного синтеза наноцеллюлозы из растительных материалов, проведение функционализации поверхности частиц микро- и наноцеллюлозы клатрохелатом железа (II), получение биокомпозитов эпоксидной смолы с функционализированной и нефункционализированной микро- и наноцеллюлозой, и исследование морфологии, химической стойкости, механических и термических свойств эпоксидных композитов с микро- и наночастицами целлюлозы.

**Материалы и методы.** Объектами исследования были композиты эпоксидной смолы Eposir-7120 с полиэтиленполиаминовым отвердителем "РЕРА" в соотношении 6,2:1 и 10% микроцеллюлозы и наночастиц целлюлозы. Микроцеллюлоза, полученная из древесины, была коммерческим продуктом. Наноцеллюлоза синтезирована из органосольвентной целлюлозы, полученной из стеблей *Miscanthus x giganteus*. Модификацию поверхности микро- и наноцеллюлозы проводили красителем — клатрохелатом железа (II). Удельную поверхность частиц целлюлозы определяли с помощью низкотемпературной адсорбции-десорбции азота по методу Брунауэра-Эммета-Теллера. Механические параметры определяли с помощью универсальных машин Shopper и UMM-10. Тепловой анализ выполняли с помощью дериватографа Q1500. Набухание определяли гравиметрическим методом.

**Результаты.** Определены модуль упругости  $E$ , прочность на сжатие  $\sigma$  и термогравиметрические параметры. Показано, что в композитах с микро- и наноцеллюлозой  $E$  повышается на 7,0–12,2%, а  $\sigma$  увеличивается на 9,1% для композитов с микрочастицами целлюлозы. Наполнение смолы наноцеллюлозой и модифицированной микроцеллюлозой не влияет на величину  $\sigma$  композитов. Термическая стабильность эпоксидного полимера (310°C) снижается после наполнения микро- и наноцеллюлозой до 290 и 300°C соответственно. Химическая стойкость эпоксикомпозитов с микро- и наноцеллюлозой к 20%-й азотной кислоте снижается. В нейтральной среде процесс набухания характеризуется быстрой сорбцией до насыщения 15–20% ацетоном за 36 часов.

**Выводы.** Таким образом, разработан метод синтеза наноцеллюлозы из растительных материалов и проведена функционализация ее поверхности клатрохелатом железа (II). Световая реакция адсорбированного красителя обнаружена в видимом спектральном диапазоне. Получены композиты эпоксидной смолы с 10% микро- и наноцеллюлозы. Изучено влияние наполнения микро- и наноцеллюлозой на модуль упругости, прочности на сжатие, термическую стойкость

эпоксикомпозитов. Процессы набухания протекают аналогично в композитах с микро- и наноцеллюлозой.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** эпоксикомпозит; микроцеллюлоза; наноцеллюлоза; синтез; механические параметры; термические параметры; химическая стойкость.

The development of a technology for the production of micro and nanocellulose from cheaper plant materials compared to wood, in particular, agricultural waste is an urgent task of modern materials science [1–4]. Interest in micro and nanoparticles of cellulose increased significantly after the discovery of possibility of expanding functional characteristics of materials in compositions with modified cellulose micro and nanoparticles [5, 6]. Thus, the loading with cellulose particles of structural materials allows reducing their weight while maintaining the strength of composites, in particular, the filling of polymers with nanocellulose leads to an increase in the strength of biocomposites [7, 8]. Surface modification of cellulose particles by electrically conductive or photoactive compounds, such as dyes, metal oxides, silicon, allows applying composites with modified cellulose in micro- and optoelectronics [9–12].

It should be noted that in hybrid polymer composites, cellulose is often applied as a structural material, which, on the one hand, reduces the composite weight and, on the other side, is a reinforcing component of the material. Reinforcement is achieved by increasing the surface reactivity of micro and nanocellulose particles by grafting atomic functional groups that can chemically interact with the polymer chain atoms and enhance the polymer structure. In addition, to expand the operational performances of composites, for example, optically, biologically, and photo-active functional groups can be grafted onto the cellulose surface. In the hybrid polymer biosystems with modified cellulose their physical and chemical properties essentially depend both on the interfacial interaction of active surface sites of modified cellulose particle with atomic groups of polymer chains and the influence of polymer matrix on the interaction of atomic groups of functional modifiers with the surface centers of cellulose particles. Interfacial interaction can significantly change the polymeric matrix structure, the electron density distribution in the composites, and, accordingly, their operational parameters. Besides, the structural organization of the hybrid biosystem depends on the dispersion and surface reactivity of the organic filler. Therefore, for a controlled change in the functional parameters of created biocomposites, it is essential to know the physical behavior of hybrid biosystem under the influence of external factors. In this work as external factors acting on biocomposites the mechanical compression load, temperature field and action of aggressive environment were used.

In recent time there are three methods used to produce nanocellulose from plant matter, namely, mechanochemical [13, 14], enzymatic [15] and chemical [16]. The latter synthesis method was used in present work since it is the least energy and financially expensive. Synthetic cellulose is obtained from many cellulose-containing materials [17–21]. In this work the stalks of plant material promising for cellulose production [22] were used for the synthesis of nanocellulose.

The purpose of present work was to develop an effective environmentally friendly organosolvent method for producing nanocellulose from *Miscanthus x giganteus* stalks to modify its surface with an optically active dye and to study the morphology of particles, chemical resistivity, mechanical and thermal properties of polymer composites with cellulose micro and nanoparticles. Wood micro sized cellulose was used to compare the surface reactivity effect of cellulose obtained from various sources on the hybrid biocomposite properties. The micro sized cellulose dispersion was chosen so that it has the order of the nanomaterial dispersion. An epoxy resin was used as the polymer matrix of composites.

## MATERIALS AND METHODS

The epoxy resin composites with both celluloses upon filling of 10% wt have been investigated. We use commercially available wood microcellulose. Microparticles of cellulose have an irregular shape with transverse sizes in the range of 50–300  $\mu\text{m}$ . Nanocellulose has been synthesized from cellulose obtained from *Miscanthus x giganteus* stalks using environmentally safer organosolvent method. Organosolvcellulose was obtained in two steps. In the first stage, the miscanthus stalks are treated in a mixture of glacial acetic acid and 35% hydrogen peroxide in a volume ratio of 70:30% at the liquid to solid ratio 10:1, at temperature  $95 \pm 2^\circ\text{C}$  during 30–240 min. In the second step, the obtained cellulose was subjected an alkaline treatment at the liquid to solid ratio 12:1, at a temperature of  $95 \pm 2^\circ\text{C}$  during 15–240 min. Alkaline treatment of organosolv miscanthus cellulose (OMC) was washed with hot distilled water to neutral pH and stored in sealed packages under constant temperature conditions. The quality of parameters for obtained OMC samples were determined by standard methods [23].

To obtain nanocellulose hydrolysis of the wet OMC was carried out with a solution of sulfuric acid at a concentration of 43% and 50% at the liquid to solid ratio 10:1 at temperatures of 40 and  $60^\circ\text{C}$  for 30–90 minutes. The calculated amount of sulfuric acid with the relevant concentration was slowly added to flask with the OMC suspension. The reaction temperature was maintained in the range of 40– $60^\circ\text{C}$ . At the end of the reaction time the hydrolysis was stopped by ten-fold dilution with distilled water and the suspension was cooled to room temperature. The hydrolyzed nanocellulose was washed three times with distilled water by centrifuging at 4000 rpm and subsequent dialysis until neutral pH was reached. Ultrasonic treatment of the nanocellulose solution was performed using an ultrasonic disintegrator UZDN-A (SELMI, Ukraine) with 22 kHz duration of 30 to 60 min. The cellulose suspension was placed in an ice bath to prevent overheating during processing. As a result, the suspension had the appearance of uniform gel-like dispersion. The obtained particles have the form of nanofibers with transverse sizes of 10–40 nm and a length of several micrometers [5, 14, 22].

Resin Eposir-7120 (Italian product) with a hardener polyethylene polyamine "PEPA" in a ratio of 6.2 : 1 was used as polymer composite matrix. To create resistant to external factors the color of polymer composites with nanocellulose the clathrochelate iron (II) dye was added in the nanocellulose dispersion [24]. For staining in red color a suspension was prepared containing 1.2 g nanocellulose particles in a solution of 1.5 mg iron (II) clathrochelate in 10 ml methylene chloride. Obtained suspension was treated by ultrasound with frequency 22 kHz and duration 20 min. The resulting suspension was poured into a weighed portion of epoxy resin and uniform mixing of the mixture was achieved by mechanical stirring. The residual solvent was removed sequentially by heat treatment at  $40^\circ\text{C}$  and vacuum treatment at 133.3 Pa. Then the hardener was added to the uncured epoxy resin composition with a dye. Air bubbles formed by stirring the mixture were removed from the uncured resin by vacuum at  $40^\circ\text{C}$ . Samples for physical investigations were prepared from the obtained composition. The distribution of colored nanocellulose particles at the epoxy composite surface is shown in Fig. 1, where the light spots are caused by the red light emission from dye adsorbed on the nanocellulose.

The structural formula of cellulose-dye complex for cellulose macromolecule with adsorbed clathrochelate Fe (II) is presented in Fig. 2. Dye molecules bind to the surface sites of cellulose particles forming relatively strong complexes. Hydroxyl groups are surface sites forming hydrogen bonds with adsorbed molecules. Surface centers form chemical bonds after preliminary chemical activation of the surface [25, 26]. An example of a hydrogen bond

between the macromolecular cellulose surface site and an adsorbed dye molecule is shown in Fig. 2.

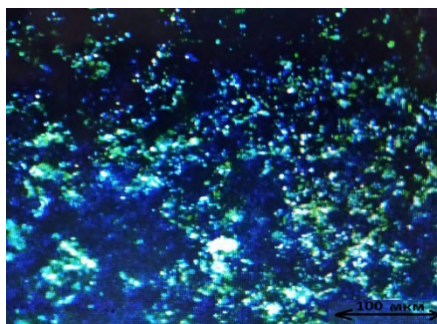


Fig. 1. Distribution of colored cellulose particles at the epoxy composite surface.

Iridescent paints are widely used to protect against the counterfeits using color copiers. Clathrochelate composite materials allow you to get an individual red “imprint” of the touch marks on the object.

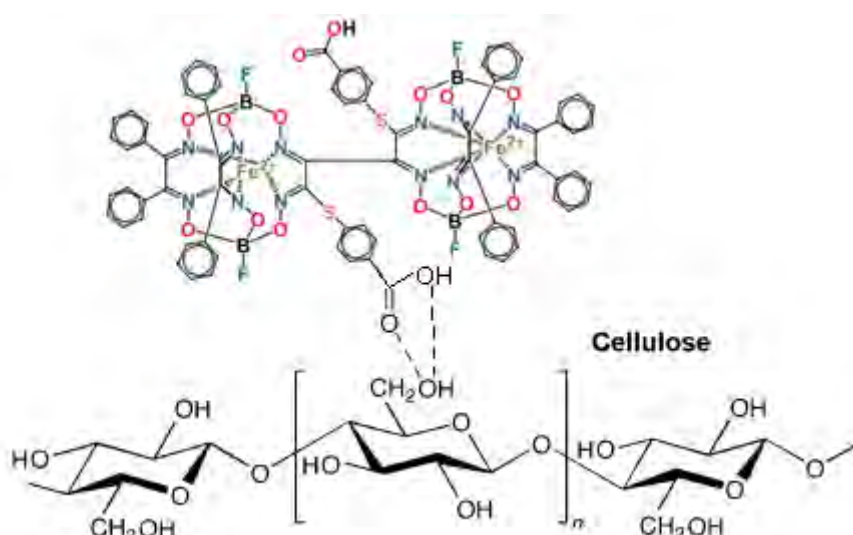


Fig. 2. Structural formula of cellulose-dye complex.

Mechanical parameters of polymer composites were determined using universal machines Shopper and UMM-10. Thermal analysis was performed using Q1500 derivatograph with heat rate 10°C/min. Swelling was determined by the gravimetric method at room temperature. Swelling was calculated as  $\Delta q = q(t) - q(0)$ , here  $q(t)$  is the weight of samples after being in solution for time  $t$ ,  $q(0)$  is the sample weight before a start of swelling process. Scanning electron microscopy (SEM) was performed using a PEM-106I SELMI microscope, Ukraine.

## RESULTS AND DISCUSSION

### *Microcellulose and nanocellulose particles distribution in epoxy matrix*

Microcellulose particles are approximately uniformly distributed in the epoxy matrix. The particle size is in the range of 50–350  $\mu\text{m}$  (Fig. 3 a), and the microparticles have a developed surface with complicated morphology (Fig. 3 b).



Fig. 4 shows a CEM image of the surface of epoxy composite with cellulose nanoparticles. It can be seen from the figure that the filler contains particles ranging in size from 1  $\mu\text{m}$  to large associates, consisting of several nanocellulose fibers with transverse sizes up to 10  $\mu\text{m}$  and a longitudinal size of up to 30  $\mu\text{m}$ .

It should be noted that nanocellulose particles have a less developed surface compared to wood microcellulose particles (Fig. 3 b). However, measurements of the specific surface area ( $s$ ) by the Brunauer-Emmett-Teller method showed that the specific surface area of nanocellulose particles is 4.7  $\text{m}^2/\text{g}$  and more than 3 times exceeds the specific surface of microcellulose particles  $s = 1.5 \text{ m}^2/\text{g}$ . Coating of cellulose particles with molecules of clathrochelate (0.1 wt. %) leads to a reduction in the nanocellulose specific surface to  $s = 2.3 \text{ m}^2/\text{g}$ , while the  $s$  value of microcellulose particles coated with clathrochelate increased to 1.9  $\text{m}^2/\text{g}$ .

The decrease in the specific surface area of nanocellulose is apparently due to the fact that the cellulose agglomerates visible in Fig. 4 are globular formations of entwined cellulose nanofibers. Coating with cumbersome clathrochelate complexes of the surface of upper cellulose nanofibers forming globules overlaps the surface sites of cellulose nanofibers located inside the globules, excluding them from participation in surface reactions and reduces the specific surface of globular formations.

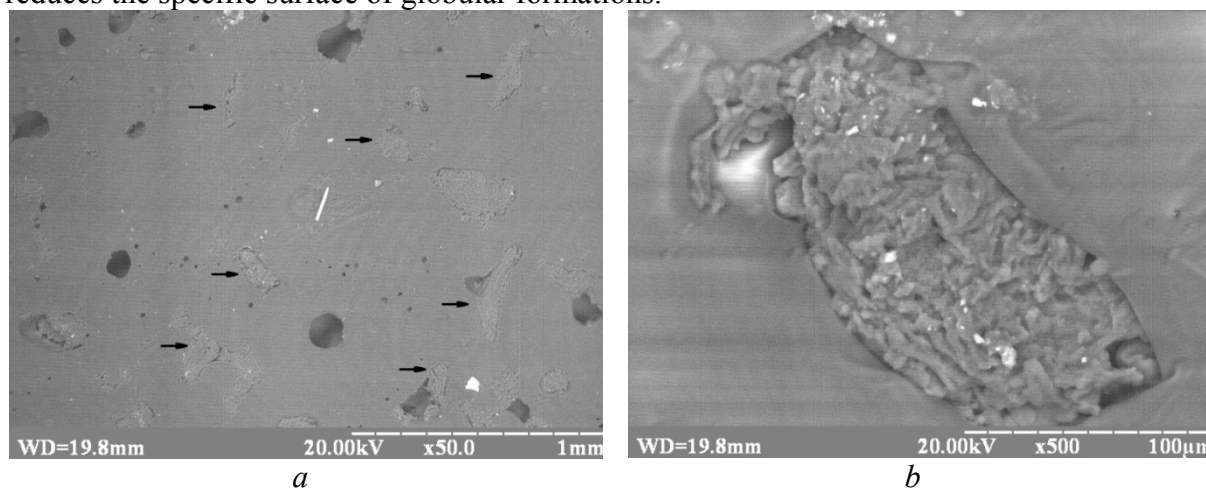


Fig. 3. CEM image of the surface layer of epoxy composite with microcellulose (a) and the surface of cellulose microparticle (b).

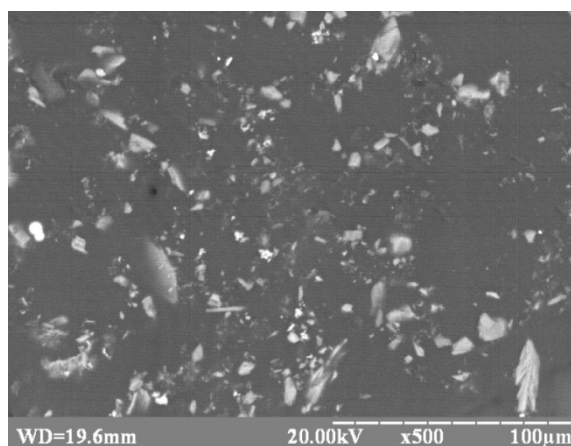


Fig. 4. CEM image of the surface layer of epoxy resin filled with nanocellulose.

The growth in the specific surface area of cellulose microparticles modified with clathrochelate is related to an increase in the surface reactivity due to oxygen and OH sites of clathrochelate molecules grafted to the surface sites of microparticles (Fig. 2).

Thus, in the epoxy matrix the high dispersion of cellulose nanoparticles is related with cellulose nanofiber globules. Particles of microcellulose do not form aggregates in the epoxy matrix.

### *Mechanical parameters*

The elastic modulus  $E$  and the compressive strength  $\sigma$  have been determined from the loading curves of the epoxy resin and its composites with micro and nanocellulose. The  $\sigma$  value or, in other terminology, the forced elasticity limit separating elastic and inelastic deformation regions corresponds to the  $P$  extremum on the loading curves (Fig. 5).

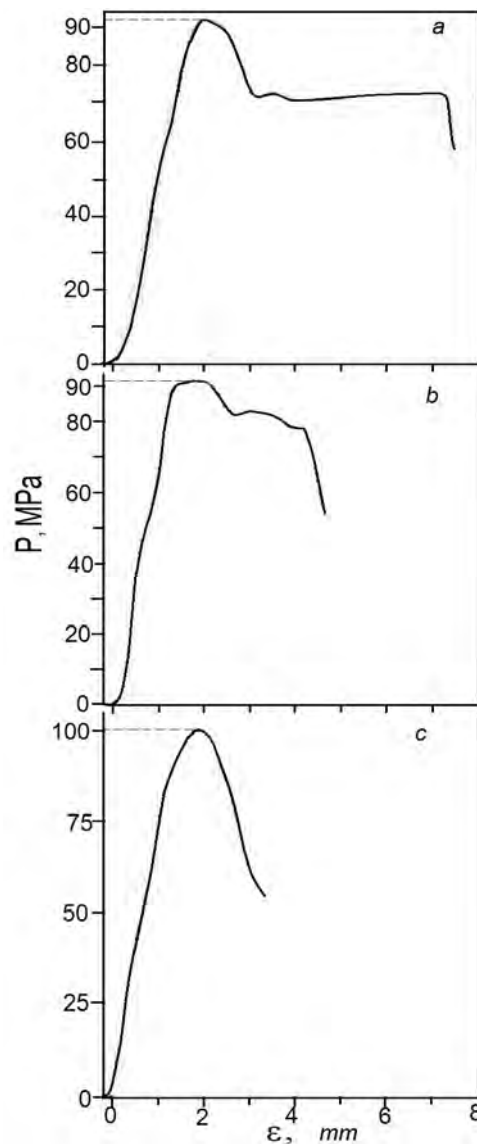


Fig. 5. Dependence of deformation of neat epoxy resin (a) and its composites with nanocellulose (b) and microcellulose (c) on loading. Dashed lines correspond to the values of the forced elasticity limit.

In unfilled resin samples the loading curves characterize by a region of elastic deformations, where the strain  $\epsilon$  linearly varies with increasing loading, and a region of conformational strains where  $\epsilon$  is weakly dependent on loading and whose volume is proportional to the polymer free volume. The elastic deformation takes place in all samples, while the volume magnitude of configurational deformations of polymer chains depends on the filler origin. The elastic modulus value for a neat resin is 1127.7 MPa, and the compressive strength value is 92.6 MPa. The introduction of nanocellulose increases the  $E$  modulus to 1206.2 MPa and practically does not affect the strength value  $\sigma$  equal to 90.8

MPa. In addition loading with nanocellulose lowers the region value of configurational deformations of polymer chains and the free volume magnitude in the polymer matrix (Fig. 5, b).

Filling resin with microcellulose significantly increases both the modulus  $E$  to 1265 MPa and the compressive strength to 101.5 MPa. Besides, in the matrix the free volume decreases and the configurational deformation of polymer structure is suppressed (Fig. 5, c).

Thus the loading of polymer with micro and nanocellulose particles leads to an increase in the elastic modulus of composites. The  $E$  module behavior is due to the filling epoxy resin with a more plastic dispersed component and, as a consequence, a growth in the composite compressibility. Besides, the obtained nanocellulose do not have a reinforce effect on the strength of the epoxy composite. The reinforce effect of functionalized cellulose nanofibers on the strength of their compositions with epoxy resin have been observed in [27, 28]. Microcellulose particles give raises the most significant effect on the strength of composites. Such effect can be depended both on the free volume magnitude of polymer matrix and a greater surface reactivity of cellulose microparticles in comparison with the surface reactivity of nanocellulose particles. It is known [29] that the chemical bonding of polymer macromolecule atoms with the surface sites of filler particles leads to stabilization of the polymer structure and arising its strength.

To check the effect of surface state on the composite strength, the resin was filled with microcellulose particles coated with 0.1 wt. % of clathrochelate. Coating microcellulose with clathrochelate molecules, which bind to the surface sites of microparticles (Fig. 2), increases the number of active sites and the reactivity of microcellulose surface with grafted molecules. Mechanical loading of composites with modified cellulose having a large surface reactivity shows that the growth of  $E$  modulus weakens to 1206 MPa, while the strength  $\sigma$  remains practically unchanged and amounts to 93.3 MPa. Besides, in composites with modified microcellulose the region of configurational deformation reveals at loading curves. Their loading curve is similar with that shown in fig 5b. Hence the behavior of composite strength does not depend on the surface reactivity of cellulose particles.

Thus, in epoxy composites their strength behavior is determined by the free volume value of polymer matrix, while variations in the elastic modulus are related to the elasticity of cellulose particles.

### *Thermal properties*

The results of thermogravimetric analysis of the neat resin indicate that the thermal degradation of polymer occurs in the temperature range of 270–750°C with heat release and has a thermal oxidation character and a thermal stability of 310°C (at the level of mass loss of 12%) (Fig. 6 a).

Loading resin with cellulose reduces the thermal stability of the polymer matrix, which in the nano- and micro cellulose composites is 300 and 290°C respectively. In addition, a reduction in heat release in a result of decomposition reactions of composites with nanocellulose by 9.0% and microcellulose by 12.0% (Fig. 6 b, c).

Thus, the filling of the epoxy polymer with micro- and nanocellulose particles reduces the thermal stability of the composite matrix and the heat release intensity in a result of thermo-oxidative destruction of the defect-free polymer structure.

The behavior of the thermal parameters of composites is due to changes in the polymer structure upon the loading with filler particles. The reduction in the thermal stability of composites is caused with an appearance of unbound fragments of polymer chains and cross-links in the polymer structure. It is known [30] that the destruction of unbound or unfasten moieties begins at lower temperatures than the temperature of thermal decomposition for a defect-free polymer structure. Hence a decrease in the thermal stability of composites is

related with beginning destruction of unbound fragments of polymer structure. Moreover such process is more pronounced in composites with microcellulose where the reduction in thermal stability is 20°C.

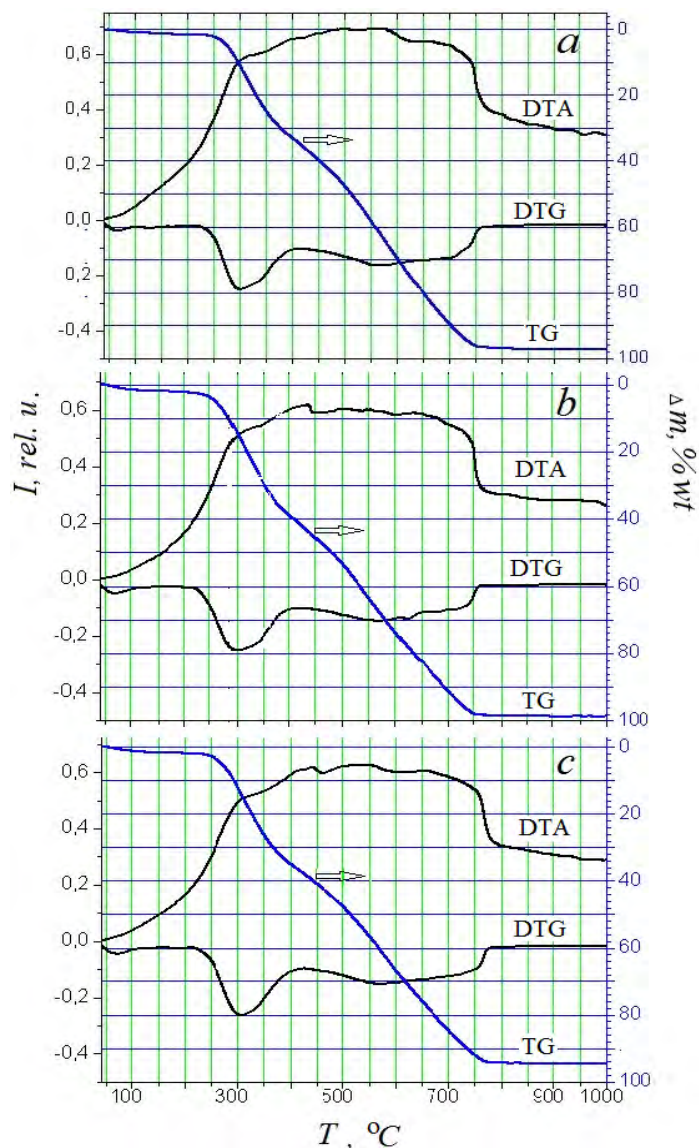


Fig. 6. Results of thermogravimetric (TG), differential thermal (DTA) and thermogravimetric (DTG) analyzes of neat resin (a) and its composites with micro- (b) and nanocellulose (c).

The appearance of unbound atomic groups and polymer structure disturbances apparently leads to diminish in the energy of intra-atomic bonds in unbound moieties and polymeric atomic groups located near polymer structure violations. Hence the destruction of the violated polymer structure occurs with releasing less heat.

#### **Chemical resistance**

The chemical resistance of materials was determined in an oxidizing medium — 35% hydrogen peroxide solution, acidic medium — 20% nitric acid solution, and neutral medium — organic solvent, acetone (analytical grade). The swelling kinetics of composites with micro and nanocellulose in an oxidizing medium indicates that the resistance of materials to swelling grows with filling and does not depend on the origin of cellulose particles and the polymer structure strength (Fig. 7).

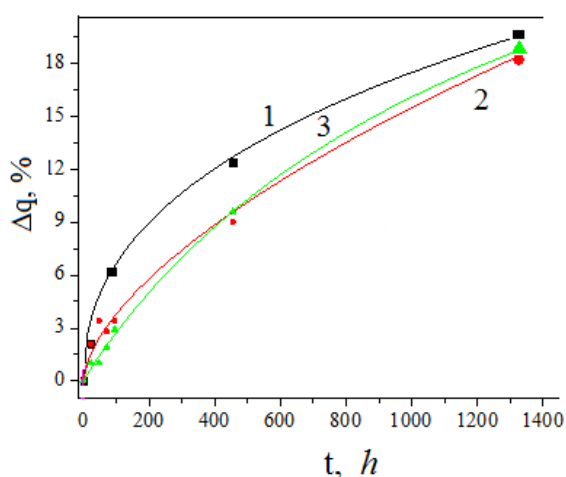


Fig. 7. Swelling curves in a 35% solution of hydrogen peroxide of neat resin (1) and its composites with nano (2) and microcellulose (3).

Curves are the exponents obtained by theoretical fitting of experimental results.

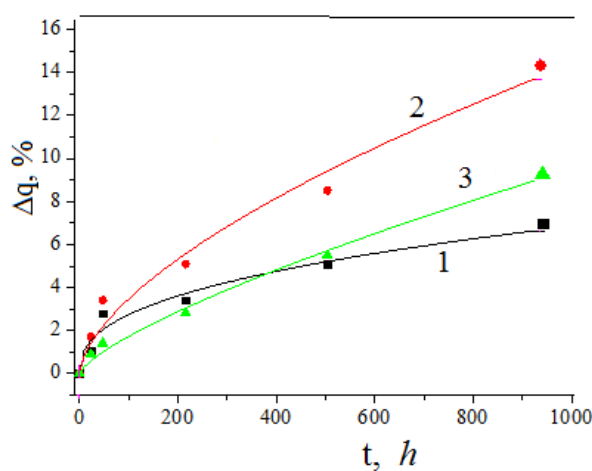


Fig. 8. Swelling curves in a 20% solution of nitric acid of neat resin (1) and its composites with nano (2) and microcellulose (3).

In aggressive acidic environment the chemical resistance of composites decreases (Fig. 8). In this case a correlation of  $\Delta q$  with the mechanical strength of the polymer structure takes place. So the swelling of composite with nanocellulose significantly exceeds the  $\Delta q$  value for the composite with microcellulose. Note that the swelling kinetics in an oxidizing and acidic medium are described by an exponential dependence, which may indicate a similar mechanism for the diffusion of hydrogen peroxide and nitric acid molecules in the composite bulk.

The swelling kinetics of neat resin and its composites with cellulose in a neutral medium characterizes by rapid absorption of acetone for 20-30 minutes. Then the slight changes in swelling for neat resin and a slow smooth increase in swelling for composites with increasing  $t$ . The composites with nanocellulose, for which the increase in  $\Delta q$  for 480 h was 18%, compared with the rise in  $\Delta q$  for neat resin up to 23% has the highest chemical resistance to swelling. Their chemical resistance grows up 12%. At the same time the chemical resistance of composites with microcellulose reduces in 12% in compare with that for neat resin (Fig. 9).

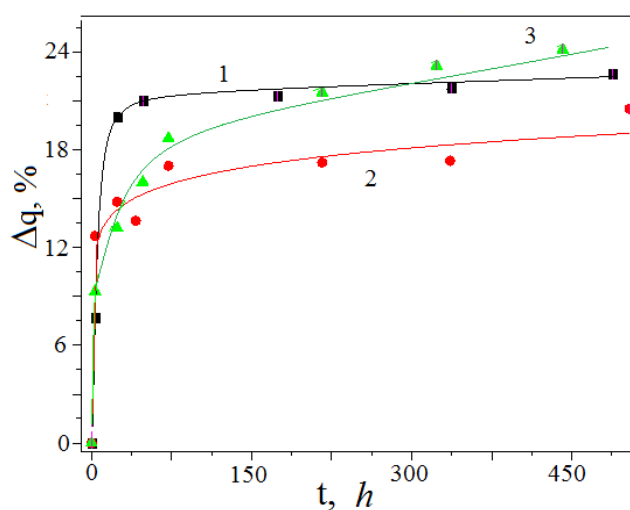


Fig. 9. Swelling kinetics in an acetone solution of neat resin (1) and its composites with nano (2) and microcellulose (3).

Note that in the composites the swelling value in a neutral medium and its intensity significantly exceeds the  $\Delta q$  values in an acidic and oxidizing environment for time of 450 h. Thus the loading of epoxy resin with particles of micro- and nanocellulose weakly affects the chemical resistance of the composites. Composites with nanocellulose particles are most resistant to oxidizing and neutral environments.

The swelling behavior depends on the physical processes at the interface and in the polymer volume, such as the magnitudes of the surface and diffusion barriers. It can be assumed that the rapid increase in swelling in a neutral medium is due to the weak influence of the surface barrier on the embedding solvent molecules into the material volume and a small diffusion barrier contributing rapid filling of the polymeric free volume with solvent molecules.

### CONCLUSIONS

The two-stage method for producing nanocellulose from plant materials using acid hydrolysis of organosolv cellulose was carried out, the modification of micro and nanocellulose surface with a dye was fulfilled and their compositions with epoxy resin have been obtained. Surface morphology of cellulose particles was studied.

Surface functionalization of cellulose particles with iron clathrochelate increases the surface reactivity of microcellulose particles and reduces the reactivity of the nanocellulose surface. The light response from red dye adsorbed on the surface of the cellulose particles incorporated in the epoxy matrix has been recorded. The epoxy environment does not affect the internal molecular electronic transitions in the dye.

Changes in mechanical, thermal properties and chemical resistance of composites with micro- and nanocellulose in three aggressive environments have been investigated. Loading of epoxy resin with particles of micro and nanocellulose weakly affects the chemical resistance of composites. Composites with nanocellulose are most resistant to influence of oxidizing and neutral environments.

The introduction of both types of cellulose into the epoxy resin leads to an increase in the elastic modulus of composites. However, the compressive strength in composites with microcellulose increases while in composites with microcellulose modified with dye and nanocellulose that practically does not change. The magnitude of the composite strength is related to variations in the matrix free volume upon filling and it does not depend on the surface reactivity of filler particles. The reinforcing effect of fillers increases with a free volume reduction in the composites. Filling epoxy polymer with particles of micro and nanocellulose reduces the heat resistance of the composite matrix and the intensity of heat release during thermal oxidative destruction. The influence of cellulose particles on the heat resistance of composites is attributed to appearance of unbound moieties of polymer chains in the matrix upon filling whose thermal destruction realizes with less heat release.

### CONFLICT OF INTERESTS


Authors declare that a conflict of interests is absent in the paper.

#### Authors' ORCID ID


N.V. Sigareva  <https://orcid.org/0000-0002-7196-6115>

V.A. Barbash  <https://orcid.org/0000-0002-7933-6038>

O.V. Yashchenko  <https://orcid.org/0000-0003-3716-8707>

S.V. Shulga  <https://orcid.org/0000-0002-9508-9110>

D.L. Starokadomsky  <https://orcid.org/0000-0001-7361-663X>

B.M. Gorelov  <https://orcid.org/0000-0002-1211-0579>



## REFERENCES

1. Klemm D, Kramer F, Moritz S, Lindström T, Ankerfors M, Gray D, Dorris A. Nanocellulose: a new family of nature-based materials. *Angew Chem. Int. Ed.* 2011;50:5438–5466. <https://doi.org/10.1002/anie.201001273>
2. Dai L, Cheng T, Duan C et al. 3D printing using plant-derived cellulose and its derivatives: A review. *Carbohydr. Polym.* 2019;203:71–86. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.09.027>
3. Sharif Hossain A, Wan Mohtar W, Veettil VN. Bioethanol production from fruit biomass as bio-antiseptic and bio-antifermenter. *Journal of Applied Sciences*, 2019,19:311-318. <https://doi.org/10.3923/jas.2019.311.318>
4. Nogi M, Iwamoto S, Nakagaito AN, Yono H. Optically transparent nanofiber paper. *Adv Mater* 2009;21:1595–1598. <https://doi.org/10.1002/adma.200803174>
5. Cruz J, Figueiro R. Surface modification of natural fibers: A review. *Procedia Engineering*. 2016;155:285–288. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2016.08.030>
6. Thakur VK, Thakur MK. Chemical functionalization of carbon nanomaterials. Chemistry and applications. CRC Press. 2015; 1101 p. <https://doi.org/10.1201/b18724>
7. Panaitescu DM, Frone AN, Ghiurea M, Spataru CI, Radovici C, Iorga MD. Properties of polymer composites with cellulose microfibrils. In book “Advances in composites materials — ecodesign and analysis” Ch.5. 2011; P. 103-122. ISBN 978-953-307-150-3
8. Poveda, RL, Gupta N. Carbon nano fiber reinforced polymer composites. *Springer Briefsin Materials*. 2016; 98. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-23787-9>
9. Feng L, Xie N, Zhong J. Carbon nanofibers and their composites: A review. *Materials Synthesizing, Properties and Applications*. 2014;7:3919–3945. <https://doi.org/10.3390/ma7053919>
10. Thiemann S, Sachnov SJ, Pettersson F, Bollström R, Österbacka R, Wasserscheid P, Zaumseil J. Cellulose-based ionogels for paper electronics. *Adv. Func. Mater.* 2014;24:625–634. <https://doi.org/10.1002/adfm.201302026>
11. Gao K, Shao Z, Li J, Wang X, Peng X, Wang W, Wang F. Cellulose nanofiber-graphene all solid-state flexible supercapacitors. *J MaterChem A* 2013;1:63–67. <https://doi.org/10.1039/C2TA00386D>
12. Burrs SL, Bhargava M, Sidhu R, Kiernan-Lewis J, Gomes C, Claussen JC, McLamore ES. A paper based graphene-nanocauliflower hybrid composite for point of care biosensing. *Biosens Bioelectron.* 2016;85:479–487. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.05.037>
13. AbdulKhalil HP, Davoudpour Y, Nazuruyil Islam M, Asniza M, Sudesh K, Rudi Dungani, Jawaid M. Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: a review. *Carbohydr. Polym.* 2014;99:649–665. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.069>
14. Barbash VA, Yaschenko OV, Alushkin SV, Kondratyuk AS, Posudievsky OY, Koshechko VG. The effect of mechanochemical treatment of the cellulose on characteristics of nanocellulose films. *Nanoscale Res. Lett.* 2016;11:410. <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1632-1>
15. Paul B Filson, Benjamin E Dawson-Andoh, Diane Schwegler-Berry. Enzymatic-mediated production of cellulose nanocrystals from recycled pulp. *Green Chemistry*. 2009;11(11):1808–1814. <https://doi.org/10.1039/B915746H>
16. Spence KL, Venditti RA, Rojas OJ, Habibi Y, Pawlak JJ. A comparative study of energy consumption and physical properties of microfibrillated cellulose produced by different processing methods. *Cellulose*. 2011;18(4):1097–1111. <https://doi.org/10.1007/s10570-011-9533-z>
17. Sánchez R, Espinosaa E, Domínguez-Roblesa J, Mauricio Loaiza J, Rodríguez A. Isolation and characterization of lignocellulose nanofibers from different wheat straw pulps. *Int J of Biological Macromolecules*. 2016;92:1025–1033. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.019>
18. Kunaver M, Anžlovar A, Žagar E. The fast and effective isolation of nanocellulose from selected cellulosic feedstocks. *CarbohydrPolym.* 2016;148:251–258. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.076>
19. Borand NM, Karaosmanoğlu F. Effects of organosolv pretreatment conditions for lignocellulosic biomass in biorefinery applications: A review. *Journal of Renewable and Sustainable Energy* 2018;10:033104. <https://doi.org/10.1063/1.5025876>
20. Correia VC, dos Santos V, Sain M, Santos SF, Leão AL, SavastanoHJr. Grinding process for the production of nanofibrillated cellulose based on unbleached and bleached bamboo organosolv pulp. *Cellulose*. 2016;23:2971–2987. <https://doi.org/10.1007/s10570-016-0996-9>
21. Paschoal GB, Muller CMO, Carvalho GM, Tischer CA, Mali S. Isolation and characterization of nanofibrillated cellulose from oat hulls. *Quim Nova*. 2015;38(4):478–482. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150029>
22. Barbash VA, Yaschenko OV and OM Shnuruk. Preparation and Properties of Nanocellulose from Organosolv Straw Pulp. *Nanoscale Res. Lett.* 2017;12:241–249. <https://doi.org/10.1186/s11671-017-2001-4>
23. TAPPI Test Methods. Atlanta, Georgia, Tappi Press, 2004.



24. Voloshin YZ, Kostromina NA, Krämer R. Clathrochelates: synthesis, structure and properties. Amsterdam: Elsevier Science. 2002. 432 p. ISBN 9780444512239.
25. Ge Zhu and Ning Lin. Surface Chemistry of Nanocellulose. In: Huang J, Dufresne A, Lin N, editors. Nanocellulose: from fundamentals to advanced materials. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2019:15–153. <https://doi.org/10.1002/9783527807437.ch5>
26. Chakrabarty A, Teramoto Y. Recent advances in nanocellulose composites with polymers: A guide for choosing partners and how to incorporate them. *Polymers*. 2018;10(5):517–522. <https://doi.org/10.3390/polym10050517>
27. Pei-Yu Kuo, Luizmar de Assis Barros, Ning Yan, Mohini Sain, Yan Qing, Yiqiang Wu. Nanocellulose composites with enhanced interfacial compatibility and mechanical properties using a hybrid-toughened epoxy matrix. *Carbohydrate Polymers*. 2017;177:249–257. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.08.091>
28. Jabbar A, Militký J, Wiener J, Kale Bandu M, Ali U, Rwawiire S. Nanocellulose coated woven jute/green epoxy composites: Characterization of mechanical and dynamic mechanical behavior. *Composite Structures*. 2016; 161:340–349. <https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2016.11.062>
29. Grassie N, Scott G. *Polymer degradation and Stabilization*. Cambridge University Press. New York. 1988. 222.
30. Gorelov B, Gorb A, Korotchenkov O, Nadtochiy A, Polovina O, Sigareva N. Impact of titanium and silica/titanium and silica/titanium fumed oxide nanofillers on the elastic properties and thermal decomposition of a polyester resin. *Journal of Applied Polymer Science*. 2015;132(22):42010–42020. <https://doi.org/10.1002/app.42010>



Original article

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

УДК 577.359

## СПЕКТРАЛЬНЫЕ И СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ БИОКОМПЗИТНЫХ 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](mailto: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 MoS<sub>2</sub> с молекулами 5-бром урацила (5BrU) и 5-бром-2'-дезоксиуридина (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 GRAPHENEА, водной суспензии порошка дисульфида молибдена MoS<sub>2</sub>, 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/MoS<sub>2</sub>, 5BrdU/GO и 5BrdU/MoS<sub>2</sub>) 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 MoS<sub>2</sub> являются более неоднородными, чем композиты GO.

**Выводы.** Полоса поглощения колебаний νCO с частотой 1783 см<sup>-1</sup>, 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 БІОКОМПЗИТНИХ ПЛІВОК ОКСИДУ ГРАФЕНУ І ДИСУЛЬФІДУ МОЛІБДЕНУ З МОЛЕКУЛАМИ 5-БРОМУРАЦИЛУ ТА 5-БРОМ-2'-ДЕЗОКСИУРИДИНУ

Ю.В. Рубін, О.Ю. Иванов, 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  $\text{MoS}_2$  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 GRAPHENE, водної суспензії порошку дисульфиду молибдену  $\text{MoS}_2$ , 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/ $\text{MoS}_2$ , 5BrdU/GO і 5BrdU/ $\text{MoS}_2$ ) 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  $\text{MoS}_2$  є більш неоднорідними, ніж композити GO.

**Висновки.** Смуга поглинання коливань  $\nu_{\text{CO}}$  з частотою  $1783 \text{ cm}^{-1}$ , а також смуги позаплощинних деформаційних коливань  $\gamma_{\text{NH}}$  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  $\text{MoS}_2$  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 GRAPHENE, an aqueous suspension of  $\text{MoS}_2$  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/ $\text{MoS}_2$ , 5BrdU/GO and 5BrdU/ $\text{MoS}_2$ ) 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 MoS<sub>2</sub> composites are more heterogeneous than the GO composites.

**Conclusions:** The absorption band of CO vibrations with a frequency of 1783 cm<sup>-1</sup> as well as the bands of the out-of-plane deformation vibrations  $\gamma$ 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 (MoS<sub>2</sub>) [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/MoS<sub>2</sub>, 5BrdU/GO и 5BrdU/MoS<sub>2</sub>.

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 GRAPHENE (Spain) в виде водного коллоидного раствора с концентрацией около 2 мг/мл, а также порошок MoS<sub>2</sub> (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<sup>-1</sup> с аподизированным разрешением 3,0 см<sup>-1</sup>.

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 ФТИИТ им. Б.И. Веркина НАН Украины, а также с помощью польской грид-инфраструктуры PLGrid Plus (VO Gaussian, интерфейс QCG-Now).

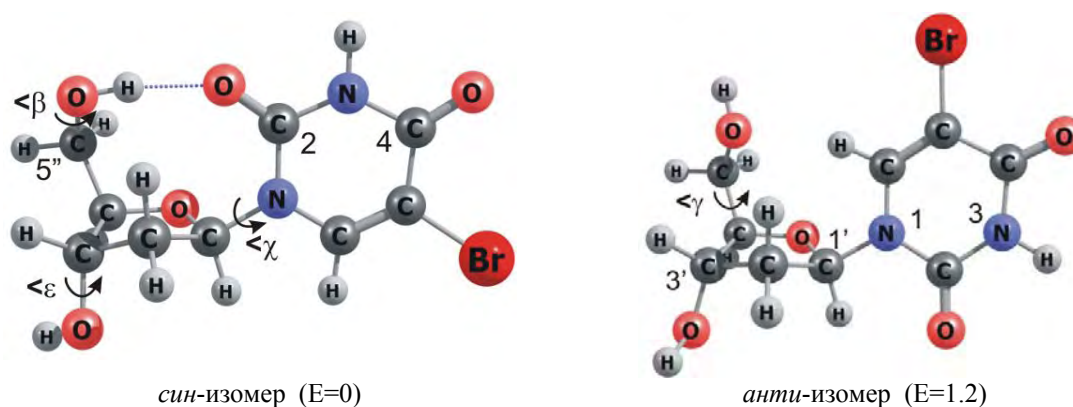


Рис. 1. Нумерация атомов, торсионные углы и наиболее стабильные структуры основных син- и анти-конформационных изомеров 5BrdU с обозначением в скобках относительных энергий E (ккал/моль), рассчитанных методом MP2/6-311++G (df, pd).

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  $\text{см}^{-1}$  находятся полосы поглощения валентных колебаний  $\nu\text{CO}$ , пиримидинового кольца и плоскостных деформационных колебаний (Рис. 2).

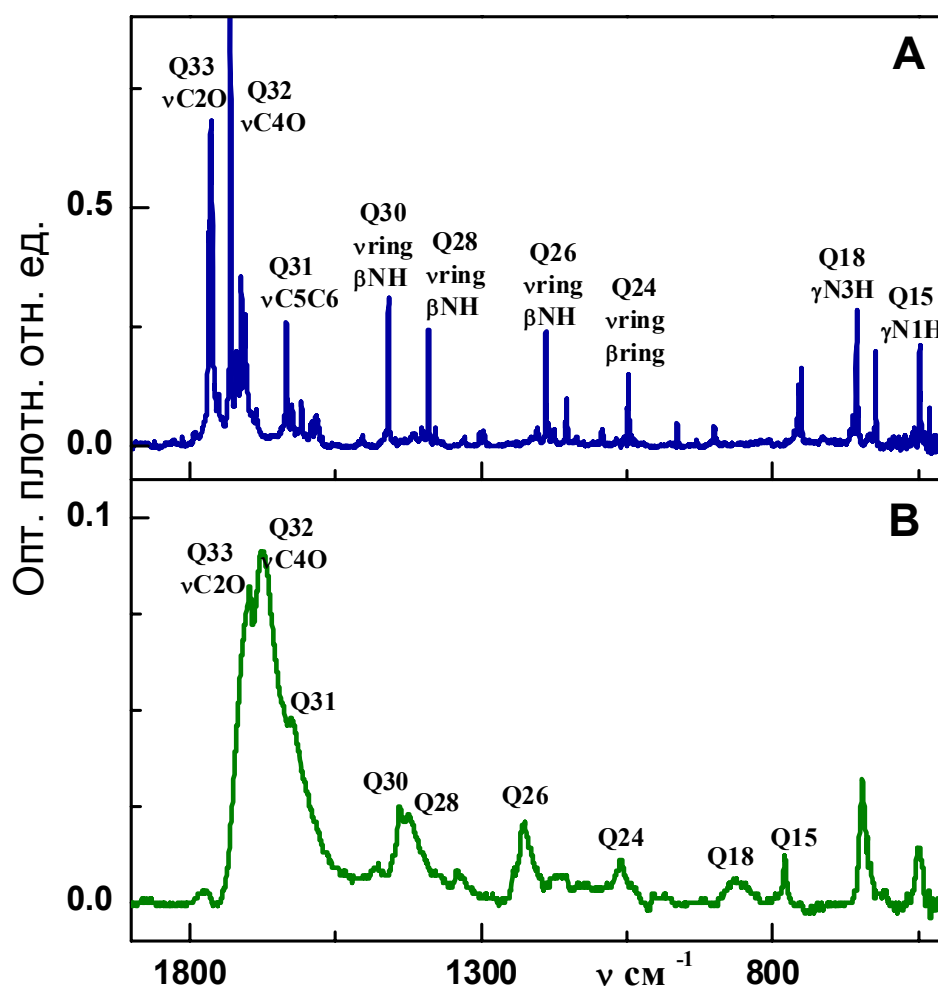


Рис. 2. Сравнение ИК-Фурье спектров молекул 5BrU в различном окружении в “fingerprint” области 1900–500  $\text{см}^{-1}$ : А — Ag матрица при 10K; В — композитная пленка 5BrU/GO с плотностью 5BrU  $50 \cdot 10^{-6} \text{ г/см}^2$ . Из спектра композитной пленки вычтен спектр контрольной пленки GO (плотность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



При образовании межмолекулярных водородных связей в пленке частоты валентных колебаний  $\nu\text{CO}$  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 экзотических 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  $\gamma\text{N1H}$ ,  $\gamma\text{N3H}$  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  $\gamma\text{NH}$  отличаются незначительно. По аналогии с урацилом, на основании данных для поликристаллических образцов урацила [23] и 5ClU [11], широкую полосу поглощения 5BrU с частотой около  $867\text{ см}^{-1}$  в композитной пленке мы отнесли к колебанию Q18( $\gamma\text{N3H}$ ), а полосу с частотой  $780\text{ см}^{-1}$  к Q15( $\gamma\text{N1H}$ ). Отнесение  $\gamma\text{NH}$  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  $18\text{ ккал/моль}$  (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  $22\text{ ккал/моль}$  (Рис. 3 Б).

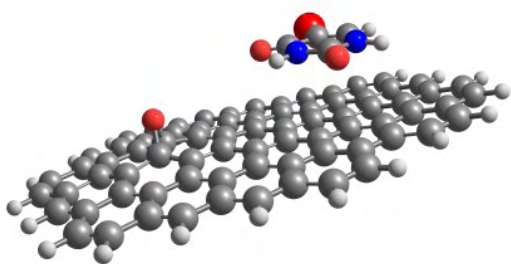


Рис. 3 А. Структура модельного кластера 5BrU/GO без межмолекулярной водородной связи NH ... O и энергией взаимодействия  $E$  (стэкинг) =  $-18,5\text{ ккал/моль}$ .

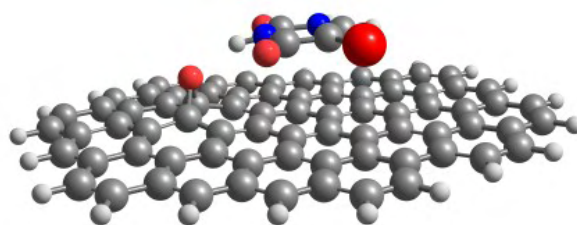


Рис. 3 Б. Структура модельного кластера 5BrU/GO с межмолекулярной водородной связью NH ... O и энергией взаимодействия  $E$  (полная) =  $-22,6\text{ ккал/моль}$ .

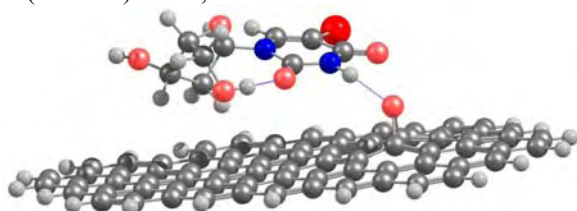


Рис. 3 В. Структура модельного кластера 5BrdU/GO с *син*-конформацией нуклеозида и энергией взаимодействия  $E$  (полная) =  $-25,4\text{ ккал/моль}$ .

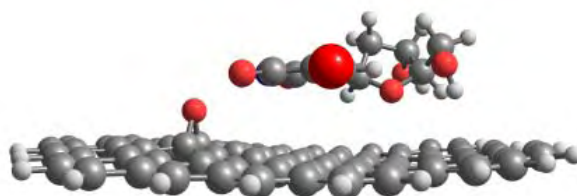


Рис. 3 Г. Структура модельного кластера 5BrdU/GO с *анти*-конформацией нуклеозида и энергией взаимодействия  $E$  (полная) =  $-31,4\text{ ккал/моль}$ .



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  $1000\text{ см}^{-1}$  (Рис. 4 В). Полоса поглощения колебания Q18 практически исчезает, а пиковая интенсивность полосы колебания Q15 сильно уменьшается (Рис. 4 В).

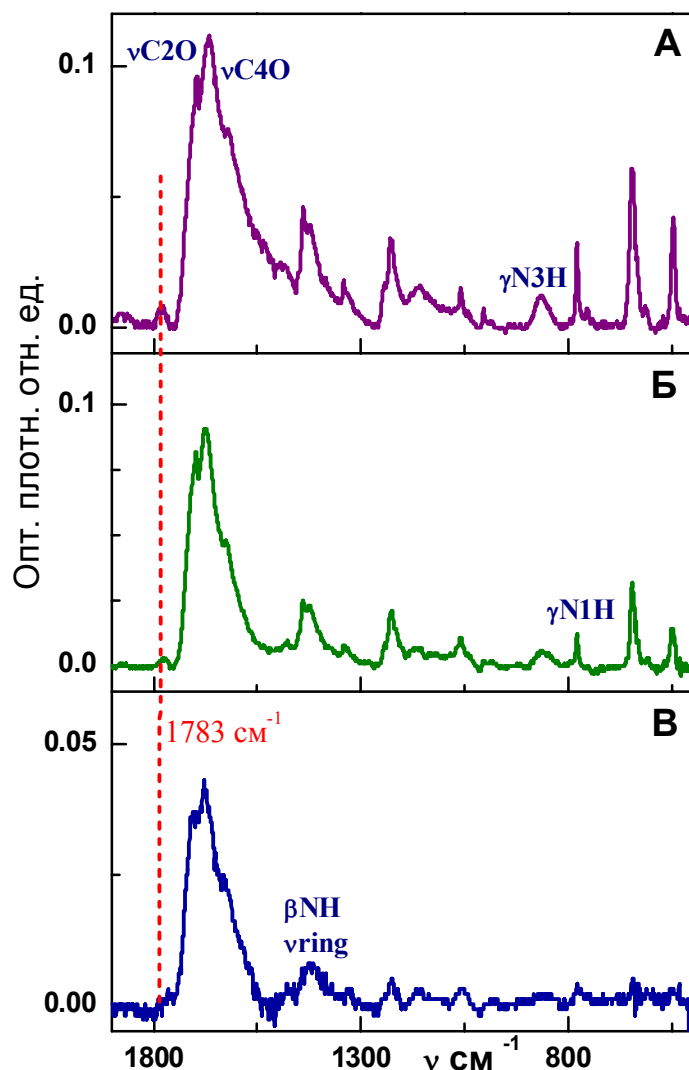


Рис. 4. ИК-Фурье спектры композитных пленок 5BrU/GO при различной плотности биомолекул в области  $1900\text{--}500\text{ см}^{-1}$ :  
 А — плотность 5BrU  $50 \cdot 10^{-6}\text{ г/см}^2$ ;  
 Б — плотность 5BrU  $25 \cdot 10^{-6}\text{ г/см}^2$ ;  
 В — плотность 5BrU  $12 \cdot 10^{-6}\text{ г/см}^2$ .  
 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  $1783\text{ см}^{-1}$ . 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  $1783\text{ см}^{-1}$  практически исчезает из спектра (Рис. 4 А, В). Необходимо отметить отсутствие полосы с частотой  $1783\text{ см}^{-1}$  в спектрах пленок 5BrdU/GO (Рис. 5).

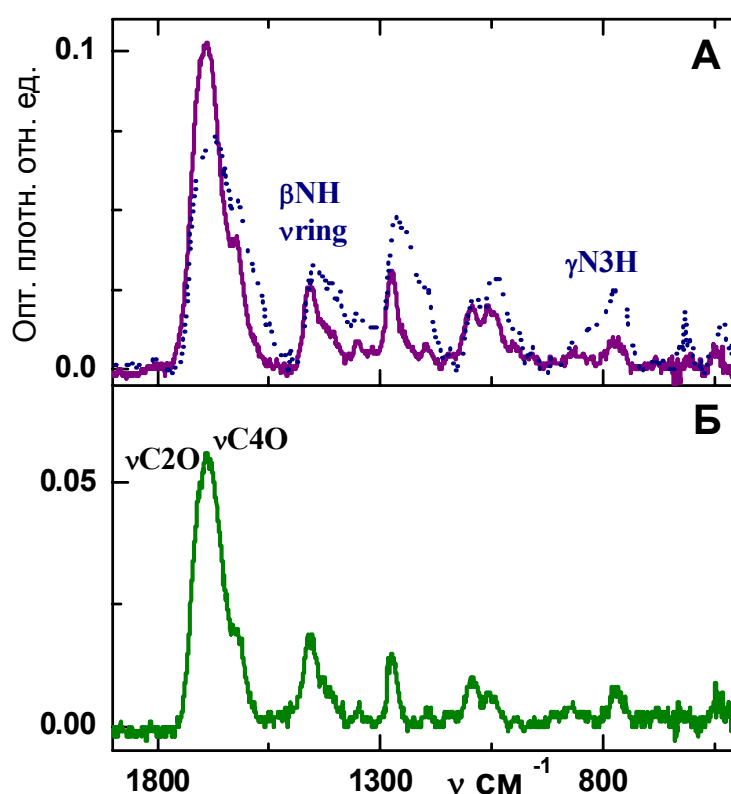


Рис. 5. ИК-Фурье спектры композитных пленок 5BrdU/GO при различной плотности биомолекул в области  $1900\text{--}500\text{ см}^{-1}$ : А — плотность 5BrdU  $100\cdot 10^{-6}\text{ г/см}^2$ ; Б — плотность 5BrdU  $50\cdot 10^{-6}\text{ г/см}^2$ ; пунктир — пленка 5BrdU на зеркале. Из спектров композитных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

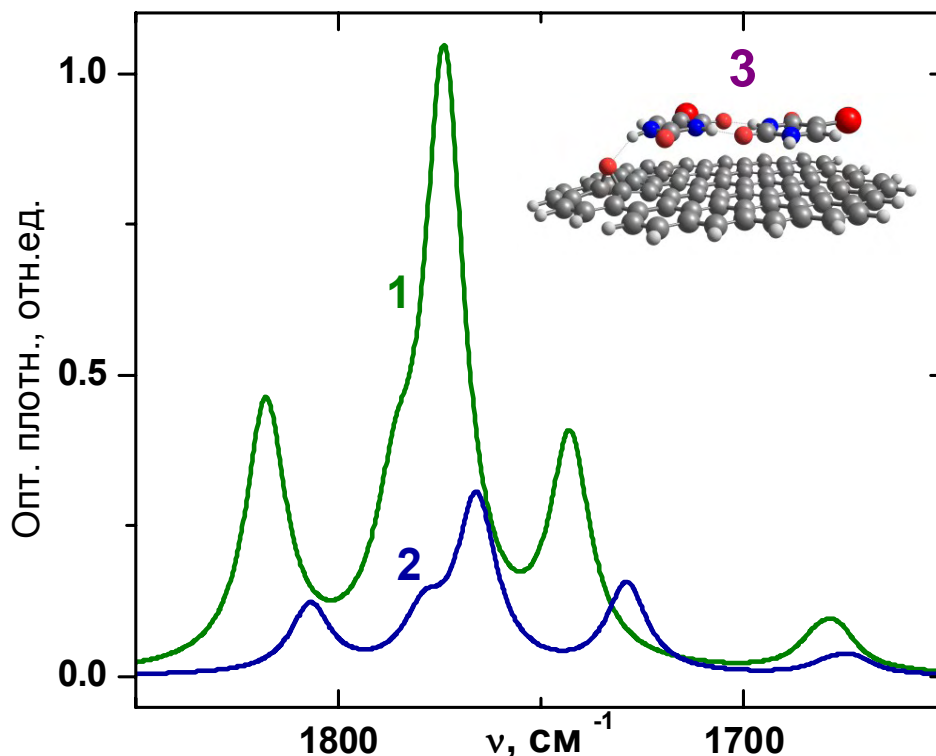


Рис. 6. Сравнение инфракрасных колебательных спектров модельных структур, рассчитанных методом DFT/B3LYP/6-31+G(d) в области 1850–1650  $\text{см}^{-1}$ : 1 — димер 5BrU; 2 — комплекс димер 5BrU/GO; 3 — структура модельного комплекса.

Основанием для такой гипотезы является снижение интенсивности полос поглощения  $\nu_{\text{CO}}$  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.

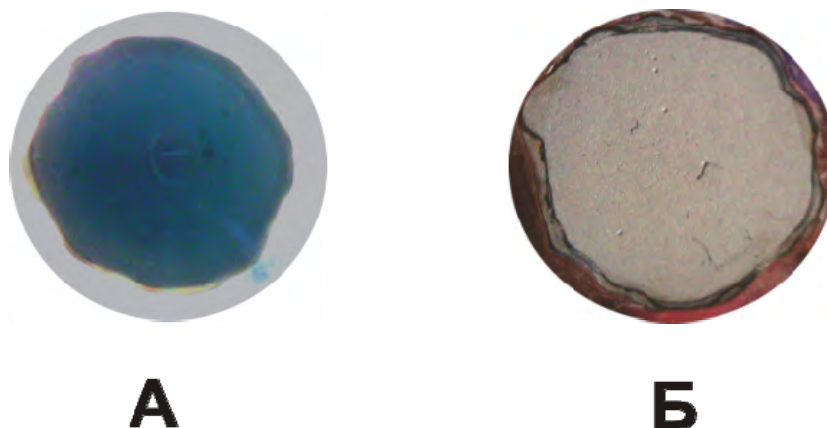


Рис. 7. Изображение композитной пленки 5BrU/GO (А) и композитной пленки 5BrU/MoS<sub>2</sub> (Б), которые были нанесены капельным методом на зеркала. Пленка Б демонстрирует кольцеобразный осадок ("coffee ring"), обусловленный пиннингом границы раздела фаз при высыхании.

Образцы 5BrU/GO демонстрируют практическое отсутствие "coffee ring", и соответственно возможность количественных измерений (Рис. 7 А). Но для образцов композитных пленок 5BrU/MoS<sub>2</sub> (а также 5BrdU/MoS<sub>2</sub>) эффект "coffee ring" является более выраженным (Рис. 7 Б).

Кроме этого эффекта, у MoS<sub>2</sub> есть особенности, которые могут повлиять на межмолекулярные взаимодействия в композитной пленке. Поскольку уже длительное время исследуют сенсорные возможности MoS<sub>2</sub>, 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 MoS<sub>2</sub> 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 NO<sub>2</sub> и CO на лепестки MoS<sub>2</sub> доказана экспериментально. При адсорбции молекул CO, частота валентного колебания этой молекулы уменьшается с 2143 см<sup>-1</sup> (газовая фаза) до 2135 см<sup>-1</sup> (адсорбция на базальную плоскость) и далее до 2100 см<sup>-1</sup>, и даже до 2070 см<sup>-1</sup> при хемосорбции [28]. С учетом этих данных, было проведено сравнение ИК-спектров композитных пленок MoS<sub>2</sub> с разной суммарной площадью базальной поверхности, со спектрами композитов GO (Рис. 8).

Если суммарная площадь базальной поверхности нанолепестков MoS<sub>2</sub> достаточно большая (для достижения этого проводили 30 минутное интенсивное ультразвуковое измельчение на УЗДН), то в спектре композита 5BrdU/MoS<sub>2</sub> 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 MoS<sub>2</sub> 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<sup>-1</sup>, 1245 см<sup>-1</sup> и 1040 см<sup>-1</sup> (Рис. 8 А, кривые 1 и 2). Для получения композитов с уменьшенной площадью базальной поверхности проводилась обработка суспензии MoS<sub>2</sub> малоинтенсивным ультразвуком с помощью DUC в течение 30 минут. Учитывая вышесказанное, дальнейшее уменьшение площади базальной поверхности MoS<sub>2</sub> должно приводить к снижению адсорбционной

емкости MoS<sub>2</sub> 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<sup>-1</sup>, 1245 см<sup>-1</sup> и 1040 см<sup>-1</sup> (Рис. 8 А, кривая 3). Можно предположить, что эти полосы принадлежат молекулам 5BrdU, модифицированным за счет сильного взаимодействия с MoS<sub>2</sub> (хемосорбция). Более четко влияние хемосорбции проявляется для полос поглощения карбонильных групп 5BrdU в виде относительного уменьшения поглощения вблизи 1700 см<sup>-1</sup> (Рис. 8 А, кривая 3). Полосы поглощения с частотами 1245 см<sup>-1</sup> и 1040 см<sup>-1</sup> могут иметь отношение к колебаниям пиримидинового кольца, так как при хемосорбции карбонильных групп, полосы колебаний сахарного кольца нуклеозида должны испытывать меньшее влияние.

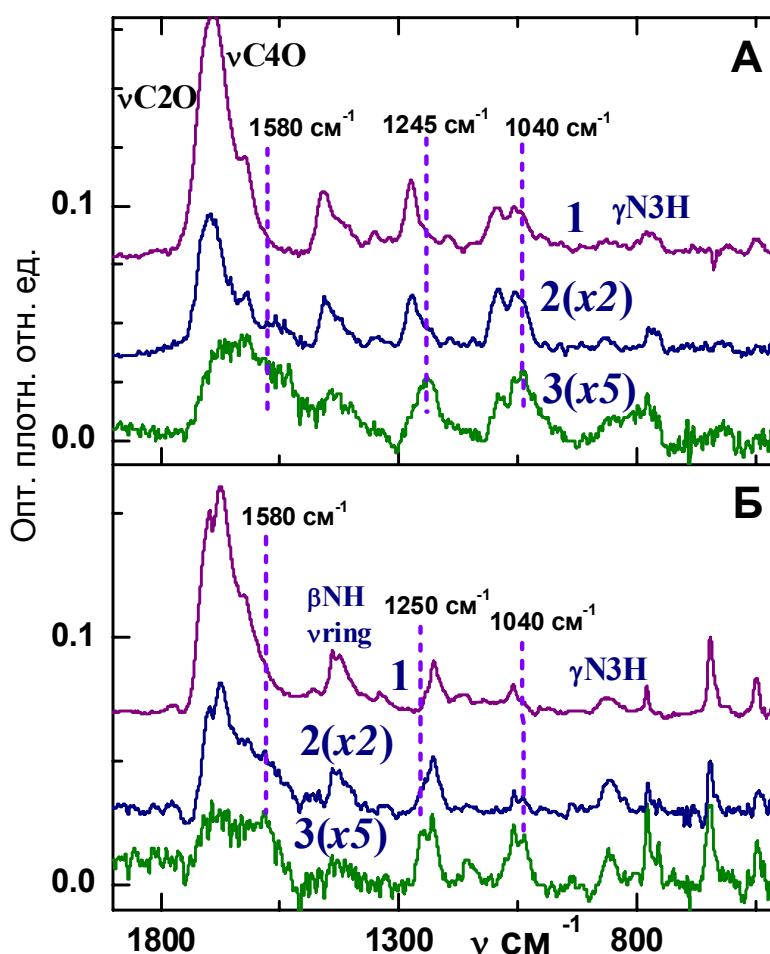


Рис. 8. ИК-Фурье спектры композитных пленок в области 1900–500 см<sup>-1</sup> при различной плотности биомолекул: А) 1 — 5BrdU/GO с плотностью 5BrdU 100·10<sup>-6</sup> г/см<sup>2</sup>; 2 — 5BrdU/MoS<sub>2</sub> с плотностью 5BrdU 50·10<sup>-6</sup> г/см<sup>2</sup> (30 мин. УЗДН для MoS<sub>2</sub>), интенсивность увеличена в 2 раза; 3 — 5BDU/MoS<sub>2</sub> с плотностью 5BrdU 100·10<sup>-6</sup> г/см<sup>2</sup> (30 мин. DUC для MoS<sub>2</sub>), интенсивность увеличена в 5 раз; Б) 1 — 5BrU/GO с плотностью 5BrU 25·10<sup>-6</sup> г/см<sup>2</sup>; 2 — 5BrU/MoS<sub>2</sub> с плотностью 5BrU 50·10<sup>-6</sup> г/см<sup>2</sup> (30 мин. УЗДН для MoS<sub>2</sub>), интенсивность увеличена в 2 раза; 3 — 5BrU/MoS<sub>2</sub> с плотностью 5BrU 100·10<sup>-6</sup> г/см<sup>2</sup> (30 мин. DUC для MoS<sub>2</sub>), интенсивность увеличена в 5 раз.

Для сравнения с этими данными были получены композиты 5BrU/MoS<sub>2</sub>. Для композитов с относительно большой площадью базальной поверхности частиц MoS<sub>2</sub> спектры пленки 5BrU/MoS<sub>2</sub> хорошо согласуются со спектрами композита 5BrU/GO

(Рис. 8 Б, кривые 1 и 2). Как и в спектре 5BrdU/MoS<sub>2</sub> (Рис. 8, кривая 2), в спектре 5BrU/MoS<sub>2</sub> можно увидеть рост полос поглощения практически с теми же частотами 1580 см<sup>-1</sup>, 1250 см<sup>-1</sup> и 1040 см<sup>-1</sup> (Рис. 8 Б, кривая 2). Уменьшение площади базальной поверхности MoS<sub>2</sub> также приводит к дальнейшему относительному росту интенсивности этих полос поглощения (Рис. 8 Б, кривая 3). Фактически в композите 5BrU/MoS<sub>2</sub> растут те же полосы, что и в композите 5BrdU/MoS<sub>2</sub>. 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/MoS<sub>2</sub>, 5BrdU/GO и 5BrdU/MoS<sub>2</sub> 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 MoS<sub>2</sub> 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 MoS<sub>2</sub>-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, Plokhotnichenko 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, Plokhotnichenko 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, Plokhotnichenko 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>



Original article

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-09>

UDC 577.359

## INTERFACIAL WATER AT SYNTHETIC AND NATURAL LIPID BILAYERS PROBED BY VIBRATIONAL SUM-FREQUENCY GENERATION SPECTROSCOPY

F. Cecchet

Laboratory of Lasers and Spectroscopies (LLS), Namur Institute of Structured Matter (NISM) and  
Namur Research Institute for Life Sciences (NARILIS),  
University of Namur (UNamur), 61 rue de Bruxelles, Namur, B-5000, Belgium

e-mail: [francesca.cecchet@unamur.be](mailto:francesca.cecchet@unamur.be)

Submitted November 13, 2019

Accepted May 22, 2020

**Background:** At lipid interfaces, water plays a crucial role in carrying biological processes, so that there is a huge interest in unravelling the behaviour of water close to membranes. At charged bio-interfaces, water dipoles form an organized layer. Probing such an interfacial thin layer buried between macroscopic bulk environments is a real challenge. Vibrational sum frequency generation (SFG) spectroscopy is intrinsically specific to interfaces, and has already proven to be an ideal tool to investigate model membranes and their surrounding water.

**Objectives:** The goal of this work is to measure the vibrational SFG response of interfacial water around different model membranes — from easiest synthetic lipids to more complex natural lipids, — in order to use it as diagnostic signal able to distinguish the lipid bilayer interface by its charge properties.

**Materials and methods:** Lipid bilayers made either of synthetic or natural lipids (Avanti Polar Lipids) were physisorbed on CaF<sub>2</sub> prisms (Crystran), by using the method of the spontaneous fusion of lipid vesicles, to form so called solid-supported lipid bilayers (SSLBs). The model membranes were investigated by SFG spectroscopy at the solid/water interface.

**Results:** The SFG response was measured between 3600 cm<sup>-1</sup> and 2800 cm<sup>-1</sup>, where OH stretching vibrations of water molecules show-up. The SFG intensity of the OH peak maximum at 3125 cm<sup>-1</sup> was recorded during the adsorption of lipid vesicles on the surface, and provided knowledge of the changes of the charge properties of the interface due to the adsorption of the model membranes. The SFG signal indicated that the organization of water was larger at negatively charged than at positively lipid interfaces, and reached the highest value with natural *E. coli* cardiolipin layers. Moreover, when the full composition of natural lipids was unknown, the behaviour of the SFG response enabled establishing the charge characteristics of the corresponding lipid interfaces.

**Conclusion:** The SFG response of water enabled estimating average charge behaviour of synthetic and natural lipid bilayers in pure water, thus paving the way to use the SFG signal of water as new diagnostic tool to identify lipid interfaces.

**KEY WORDS:** water; lipid membranes; nonlinear optics; sum-frequency generation; vibrational spectroscopy.

## МІЖФАЗНА ВОДА В СИНТЕТИЧНИХ І ПРИРОДНИХ ЛІПІДНИХ БІСЛОЯХ ЗА ДАНИМИ КОЛИВАЛЬНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ З ПІДСУМОВУВАННЯМ ЧАСТОТИ

Ф. Кецце

Лабораторія лазерів і спектроскопії, Інститут структурованої речовини Намюра,

Науково-дослідний інститут природничих наук Намюра,

Університет Намюра, вул. Брюссельська, 61, Намюр, B-5000, Бельгія

**Актуальність.** Вода відіграє вирішальну роль в протіканні біологічних процесів на ліпідних міжфазних межах, тому існує величезний інтерес до вивчення поведінки води поблизу поверхні мембран. На заряджених міжфазних межах диполі води утворюють організований шар. Зондування такого тонкого міжфазного шару, що знаходиться між макроскопічним об'ємним оточенням, є реальною проблемою. Коливальна спектроскопія з підсумовуванням частоти (КСПЧ) є по суті специфічною до міжфазних меж і вже довела, що є ідеальним інструментом для дослідження модельних мембран і навколишньої води.

**Мета роботи.** Мета даної роботи — виміряти методом КСПЧ коливальний відгук міжфазної води навколо різних модельних мембран, від найпростіших синтетичних ліпідів до більш складних природних ліпідів, щоб використовувати його в якості діагностичного сигналу, здатного розрізняти поверхню розділу ліпідного бішару за властивостями її заряду.

**Матеріали та методи.** Ліпідні бішари, виготовлені з синтетичних або природних ліпідів (Avanti Polar Lipids), були адсорбовані на призмах  $\text{CaF}_2$  (Crystran) з використанням методу довільного злиття ліпідних везикул з утворенням так званих ліпідних бішарів на твердій основі (SSLBs). Модельні мембрани були досліджені за допомогою КСПЧ на межі розділу тверде тіло/вода.

**Результати.** Відгук КСПЧ вимірювали між  $3600 \text{ см}^{-1}$  і  $2800 \text{ см}^{-1}$ , де проявляються ОН-валентні коливання молекул води. Інтенсивність КСПЧ максимуму піку ОН при  $3125 \text{ см}^{-1}$  реєструвалася під час адсорбції ліпідних везикул на поверхні і дозволила дізнатися про зміни заряду на міжфазній межі внаслідок адсорбції модельних мембран. Сигнал КСПЧ вказує на те, що організація води при від'ємному заряді на ліпідних межах була більшою, ніж при позитивному, і досягала найвищого значення у природних кардіоліпінних шарів *E. coli*. Крім того, коли повний склад природних ліпідів був невідомий, характер відповіді КСПЧ дозволяв встановити характеристики заряду відповідних міжфазних меж ліпідів.

**Висновки:** КССЧ сигнал води дозволив оцінити заряд синтетичних і природних ліпідних бішарів в чистій воді, тим самим проклавши шлях до використання КСПЧ сигналу води в якості нового діагностичного інструменту для ідентифікації меж ліпідів.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** вода; ліпідні мембрани; нелінійна оптика; підсумовування частоти; коливальна спектроскопія.

## МЕЖФАЗНАЯ ВОДА В СИНТЕТИЧЕСКИХ И ПРИРОДНЫХ ЛИПИДНЫХ БИСЛОЯХ ПО ДАННЫМ КОЛЕБАТЕЛЬНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ С СУММИРОВАНИЕМ ЧАСТОТЫ

Ф. Кесче

*Лаборатория лазеров и спектроскопии, Институт структурированного вещества Намюра,  
Научно-исследовательский институт естественных наук Намюра,  
Университет Намюра, ул. Брюссельская, 61, Намюр, В-5000, Бельгия*

**Актуальность.** Вода играет решающую роль в протекании биологических процессов на липидных межфазных границах, поэтому существует огромный интерес к изучению поведения воды вблизи поверхности мембран. На заряженных межфазных границах диполи воды образуют организованный слой. Зондирование такого тонкого межфазного слоя, находящегося между макроскопическим объемным окружением, является реальной проблемой. Колебательная спектроскопия с суммированием частоты (КССЧ) является по существу специфичной к межфазным границам и уже доказала, что является идеальным инструментом для исследования модельных мембран и окружающей их воды.

**Цель работы.** Цель данной работы — измерить методом КССЧ колебательный отклик межфазной воды вокруг различных модельных мембран, от самых простых синтетических липидов до более сложных природных липидов, чтобы использовать его в качестве диагностического сигнала, способного различать поверхность раздела липидного бислоя по свойствам ее заряда.

**Материалы и методы.** Липидные бислои, изготовленные из синтетических или природных липидов (Avanti Polar Lipids), были адсорбированы на призмах  $\text{CaF}_2$  (Crystran) с использованием метода самопроизвольного слияния липидных везикул с образованием так называемых липидных бислоев на твердой подложке (SSLBs). Модельные мембраны были исследованы с помощью КССЧ на границе раздела твердое тело/вода.

**Результаты.** Отклик КССЧ измеряли между  $3600 \text{ см}^{-1}$  и  $2800 \text{ см}^{-1}$ , где проявляются ОН-валентные колебания молекул воды. Интенсивность КССЧ максимума пика ОН при  $3125 \text{ см}^{-1}$  регистрировалась во время адсорбции липидных везикул на поверхности и позволяла узнать об изменениях заряда на границе раздела вследствие адсорбции модельных мембран. Сигнал КССЧ указывает на то, что организация воды при отрицательном заряде на липидных границах была больше, чем при положительном, и достигала наивысшего значения у природных кардиолипиновых слоев *E. coli*. Кроме того, когда полный состав природных липидов был неизвестен, характер ответа КССЧ позволял установить характеристики заряда соответствующих межфазных границ липидов.

**Выводы:** КССЧ сигнал воды позволил оценить заряд синтетических и природных липидных бислоев в чистой воде, тем самым проложив путь к использованию КССЧ сигнала воды в качестве нового диагностического инструмента для идентификации границ липидов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** вода; липидные мембраны; нелинейная оптика; суммирование частоты; колебательная спектроскопия.

Biological interfaces and water make an indivisible pair, where the physicochemical properties and biological processes at biointerfaces are intimately linked to the structure and the behavior of water.

Among biological interfaces, the cell membrane is an ultimate interfacial system, because it is that two-dimensional region making the barrier between the inner and the outer cell environments. Many physiological processes occurring within the membrane barrier are carried and triggered by water, such as protons and ions transport, metabolites adsorption and translocation, or proteins folding, for instance [1, 2]. This is why the properties and the behavior of this small and ubiquitous molecule have attracted the interest of researchers from different disciplines, from biology and medicine, to chemistry and physics.

A crucial point is that water close to biological interfaces is far from behaving as bulk disordered water, while it owns specific order and organization [3, 4]. Indeed, upon an electrical potential, such as the one generated by charged interfaces, water dipoles orient along preferential directions, thus forming an organized layer of water, as long as the electric field associated to the electrical potential is non-vanishing. The degree of organization and the thickness over which the organization take place will depend on the physicochemical properties of the interface, i.e., net molecular charge, surface charge density, molecular orientation, structure, and hydrophilicity, as well as pH and ionic strength of the liquid medium [5]. Whatever the process that would modify the interfacial properties, this latter may affect the organization of such a water layer.

The structure, the order and the behavior of interfacial water close to membrane interfaces have been extensively modelled with theoretical approaches, while its direct measure remained long-time unavailable. This limitation has been definitely encompassed with the advent of vibrational sum frequency generation (SFG) spectroscopy. Indeed, being based on a second order nonlinear optical (NLO) phenomenon, which is possible only in non-centrosymmetric environments — like anisotropic bulk materials or interfacial systems, — [6, 7] SFG spectroscopy is ideally able to probe an organized layer of water, because this latter owns a non-centrosymmetric structure, contrary to bulk water. Moreover, SFG spectroscopy probes molecular vibrations, so that it provides the chemical fingerprint of interfacial water. These skills made SFG spectroscopy a favorite technique to probe water close to membrane systems [8–22]. The investigation of the SFG response around membrane models demonstrated that the surrounding structure of water strongly depends on the physicochemical properties of the interface, and so is tuned by the interactions and the processes occurring within these biological systems.

Here, we will probe the vibrational NLO response of interfacial water at different models of lipid membranes, made of synthetic or natural lipids, supported on  $\text{CaF}_2$ . Indeed, the average charge properties of the interfaces trigger the signal of interfacial water accordingly. The goal is testing the potentiality of using the SFG response of interfacial water to identify the underlying lipid bilayer, and then explore new solutions to make SFG spectroscopy a bio-diagnostic tool.

## MATERIALS AND METHODS

*Lipid bilayers.* We prepared lipid bilayers adsorbed on  $\text{CaF}_2$  prisms from different lipids (Figure 1), namely 1,2-dihexanoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine (6:0 PE or DHPE), 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine (16:0 PE or DPPE), 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine (18:1  $\Delta^9$ -Cis PE or DOPE), 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phospho-L-serine (18:1 PS or DOPS), 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-[phospho-rac-(3-lysyl(1-glycerol))]

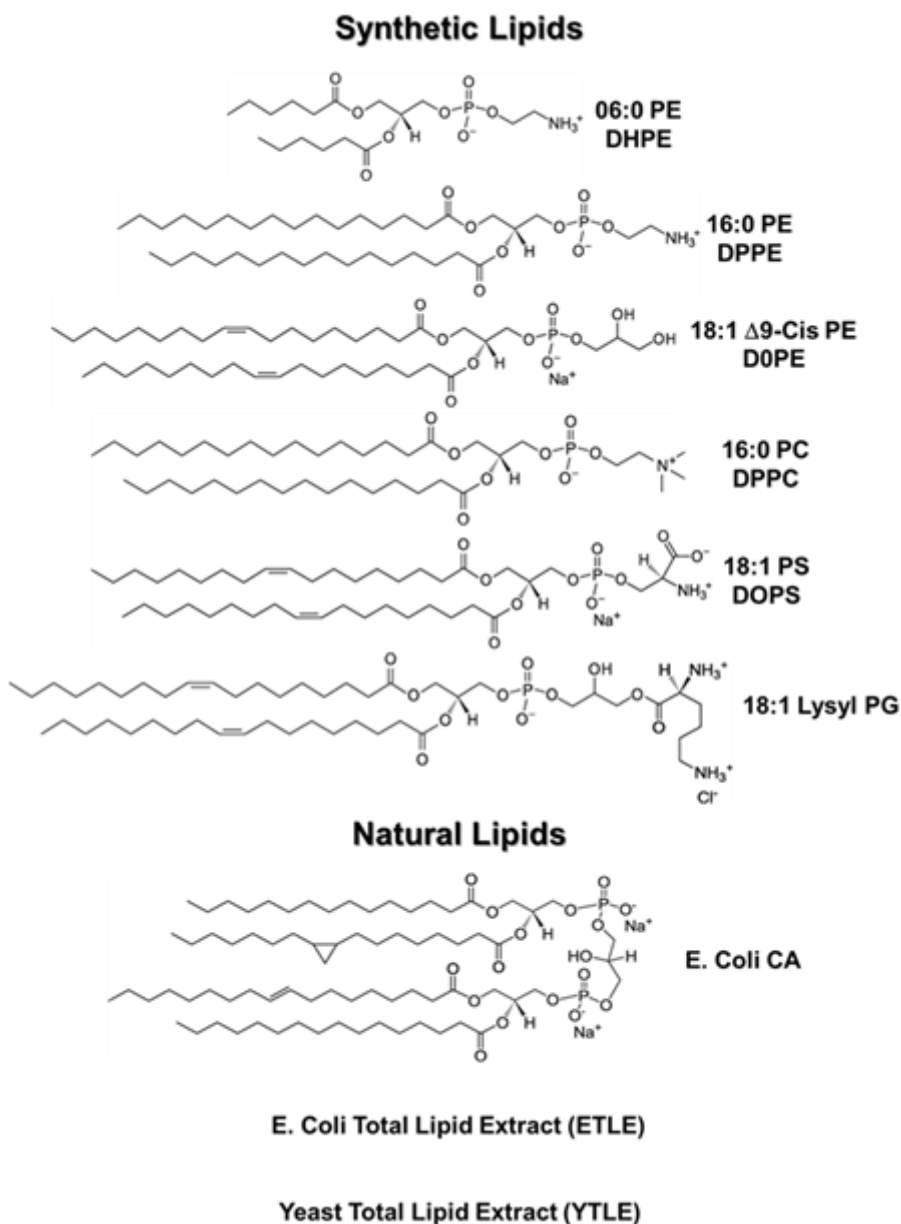


Fig. 1. Chemical structures of the lipid compounds used to prepare SSLBs as obtained from Avanti<sup>®</sup> Polar Lipids supplier (for *E. coli* Total Lipid Extract and Yeast Total Lipid Extract full compositions refers to Avanti<sup>®</sup> Polar Lipids website).

(18:1 Lysyl PG), *E. coli* cardiolipin (*E. coli* CA), *E. coli* total lipid extract (ETLE) and yeast total lipid extract (YTLE). All lipid molecules were purchased from Avanti<sup>®</sup> Polar Lipids, Inc. (Alabaster, Alabama, USA). SSLBs were obtained through the method of the spontaneous fusion of lipid vesicles on CaF<sub>2</sub> (Crystran, UK). CaF<sub>2</sub> prisms were cleaned by immersion in a diluted *piranha* solution (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 2:1 diluted 10 times) for 1 minute and then rinsed thoroughly with Milli-Q water (18.2 MΩ·cm, pH = 5.5). Lipid vesicles were prepared by *i*) solubilizing 2 mg of lipid powder in 300 μL of chloroform (CHCl<sub>3</sub>), *ii*) evaporating CHCl<sub>3</sub> under N<sub>2</sub> flow, and *iii*) adding 1 mL of Milli-Q water. The obtained solutions were sonicated for 10 min and then centrifuged for 10 min at 6000 rpm. The vesicle solutions were injected into a Teflon cell containing 1 mL of Milli-Q water (18.2 MΩ·cm<sup>-1</sup>) and holding the CaF<sub>2</sub> substrate, so that the vesicles concentration during the fusion process at the surface were half of the native concentration. After 3 hours of contact with the prism,

SSLBs were expected to be formed [21, 23, 24]. The remaining vesicles in solution were fully removed by exchanging the solution with Milli-Q water. This procedure was carried out by adding 0.5 mL of Milli-Q water and then removing 0.5 mL of the diluted solution. These steps were repeated at least 20 times in order to leave the SSLBs in contact with an almost pure Milli-Q water solution.

*SFG setup.* The SFG response of water at the interface was recorded with a homemade SFG spectrometer. Two pulsed incident beams (15 ps, 25 Hz), namely, an IR beam tuned between 3600–2800  $\text{cm}^{-1}$  (average power = 25 mW) and a visible (Vis) beam fixed at 532 nm (or 18796.99  $\text{cm}^{-1}$ , average power = 10 mW), were superimposed spatially and temporally at the  $\text{CaF}_2$ /water interface in a total internal reflection geometry through the prism (Fig. 2). An SFG beam was generated with a frequency equal to the sum of the two incident beam frequencies. All measurements were performed at room temperature (22.5°C). To perform comparisons between samples, the SFG responses were normalized by the IR and Vis beams, and by the SFG response of the neat  $\text{CaF}_2$ /water interface, which was measured before each lipid bilayer adsorption. All experiments were repeated at least twice.

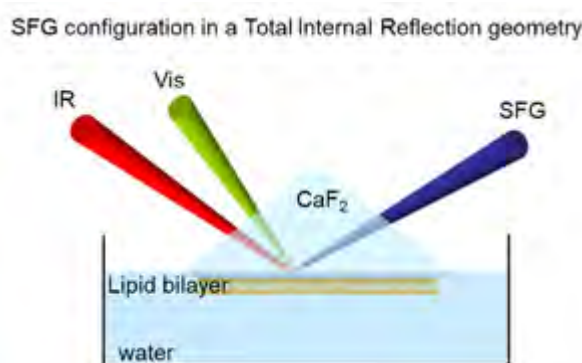


Fig. 2. Schematic representation of a SFG measurement at the  $\text{CaF}_2$ /lipid/water interface in a Total Internal Reflection (TIR) geometry of the incident IR and Vis beams and of the generated SFG beam.

*Theoretical background.* Vibrational SFG spectroscopy is based on a 2<sup>nd</sup> order NLO process, in which the three photon mixing process enables probing the vibrational response of chemical groups in a nonlinear regime. In a SFG process (Fig. 2), one tunable infrared (IR) and one fixed visible (Vis) beams are focused at the interface, where their interaction with the second order susceptibility ( $\chi^{(2)}$ ) of matter generates a new beam at their sum frequency (SFG,  $\omega_{SFG} = \omega_{IR} + \omega_{Vis}$ ). The key selection rule of 2<sup>nd</sup> order NLO processes is that the  $\chi^{(2)}$  susceptibility tensor, in the dipole approximation, is zero for centrosymmetric media, while it is non-zero where the inversion symmetry is broken, like at interfaces. It follows that SFG spectroscopy provides the vibrational signature of interfacial regions only, while it is insensitive to their surrounding bulk environments, either solid, liquid or gaseous.

In addition to the interfacial sensitivity, the SFG response of a vibrational mode of the interface requires this latter is simultaneously IR and Raman active. Definitely, once the tunable IR beam matches an SFG active vibrational mode of the interface, then there is an enhancement of the SFG response, accordingly to the following relations:

$$I_{SFG} \propto \left| \chi_{NR}^{(2)} + \chi_R^{(2)} \right|^2 I_{Vis} I_{IR} \quad (1)$$

where  $I_{Vis}$  and  $I_{IR}$  are the intensities of the incident visible and infrared beams,  $\chi_{NR}^{(2)}$  is the non-resonant part of the effective second order susceptibility that can eventually come from the electronic properties of the close bulk environment. The  $\chi_R^{(2)}$  resonant contribution is related to the active molecular vibrations as follows:

$$\chi_{R,ijk}^{(2)} \propto \sum_q \frac{A_{q,ijk}}{\omega_q - \omega_{IR} - i\Gamma_q}, \quad (2)$$

$$A_{q,ijk} \propto N \sum_{lmn} \langle T_{lmn}^{ijk} \rangle \beta_{lmn}^{(2)}, \quad (3)$$

$$\beta_{lmn}^{(2)} \propto \frac{\partial \alpha_{lm}}{\partial q} \frac{\partial \mu_n}{\partial q}, \quad (4)$$

where  $\omega_q$  and  $\omega_{IR}$  are the frequencies of the  $q^{th}$  molecular mode and of the incident infrared beam, respectively,  $\Gamma_q$  is the damping factor, and  $A_{q,ijk}$  is the oscillator strength of the  $q^{th}$  molecular mode, which is the macroscopic response  $N$  individual oscillators for which the molecular second order hyperpolarisability  $\beta_{lmn}^{(2)}$  is linked to the variations of the dipole moment and of the polarizability.  $T_{lmn}^{ijk}$  rotates the molecular coordinates  $lmn$  into the interface coordinates  $ijk$ , and the bracket indicates the average over the molecular orientation distribution and  $\frac{\partial \mu_n}{\partial q}$  and  $\frac{\partial \alpha_{lm}}{\partial q}$  are the variation of the dipole moment (IR activity) and of the polarizability (Raman activity), respectively, of the  $q^{th}$  vibrational mode [25, 26].

In summary, the strict selection rules — that is  $\chi_R^{(2)} \neq 0$ ,  $\frac{\partial \mu}{\partial q} \neq 0$  and  $\frac{\partial \alpha}{\partial q} \neq 0$ , — combined to the  $N^2$  dependence of the SFG intensity and to the coherent nature of the SFG process, make SFG spectroscopy ideally able to probe a thin interfacial layer of water molecules close to an interface, with a chemical selectivity.

## RESULTS AND DISCUSSION

The SFG spectrum of the neat  $\text{CaF}_2$ /water interface (Fig. 3, top) was systematically recorded before adsorption of lipid vesicles. The broad band centered at  $3125 \text{ cm}^{-1}$  is due to

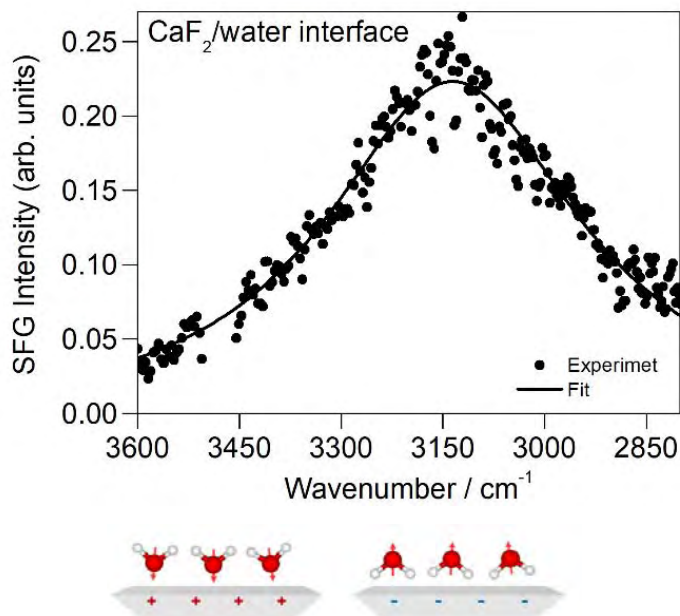


Fig. 3. SFG spectrum (top) of the neat  $\text{CaF}_2$ /water interface, and schematic and simplified representation (bottom) of the water dipole orientation, with the H atoms pointing out or towards the interface, depending on the sign of the charged interface (positive charge on the left side, and negative charge on the right side).

OH stretching vibrations of interfacial water [20–23]. Indeed, the surface of  $\text{CaF}_2$  is known to own a slightly positive charge (its zeta potential in pure water is about +20 mV), which drives the organization of a thin layer of water, possibly with the H atoms pointing out from the surface (as shown in the simplified picture in the bottom of Fig. 3, left part) [27–29]. The corresponding maximum SFG intensity was about 0.22 arbitrary units (arb. units) (Table 1).



This value will represent the reference signal to which all following CaF<sub>2</sub>/lipid/water interfaces will refer.

Table 1. SFG maximum signal at the CaF<sub>2</sub>/water and lipids/water interfaces recorded at 3125 cm<sup>-1</sup>. The error bars are estimated to ±15%.

Interface	SFG intensity (arb. units)
CaF <sub>2</sub> /water	0.22
CaF <sub>2</sub> /DHPE/water	0.20
CaF <sub>2</sub> /DPPE/water	0.18
CaF <sub>2</sub> /DOPS/water	1.50
CaF <sub>2</sub> /DOPG/water	0.60
CaF <sub>2</sub> / <i>E. coli</i> CA/water	3.75
CaF <sub>2</sub> /ETLE/water	0.25
CaF <sub>2</sub> /YTLE/water	0.31

The adsorption and fusion of lipid vesicles at the CaF<sub>2</sub>/water interface was monitored in real time, by recording the SFG intensity at 3125 cm<sup>-1</sup> for 3 hours of adsorption. Then, the remaining lipid vesicles in solution were removed, and the SFG maximum intensity of the CaF<sub>2</sub>/lipid/water interfaces was measured.

### *Synthetic Lipid Layers*

*Neutral zwitterion PE lipids.* DHPE, DPPE, DOPE are all neutral zwitterion lipids. Their difference is in the composition of the hydrophobic chains. DHPE holds two full saturated aliphatic chains (i.e. 6 aliphatic carbon atoms/chain). The adsorption of DHPE vesicles on CaF<sub>2</sub> did not modify substantially the interfacial charge properties, as the signal of water remained almost constant along the adsorption process (0.2 arb. units). This is in agreement with both the neutral charge carried by the lipid molecule, and with the weak charge screening effect induced by short aliphatic chains. Compared to DHPE, DPPE has longer aliphatic chains (16 C atoms/chain), made also of all saturated bonds. The adsorption of DPPE decreased the water signal from 0.22 at the neat CaF<sub>2</sub> interface to 0.10 at the DPPE interface, indicating a weak screening of the interfacial charges by the lipid layer, whilst the lipid interface remained positively charged.

DOPE is composed of two aliphatic chains, almost as long as DPPE (18 carbon atoms/chain), while it carries one unsaturated bond in each aliphatic chain. The adsorption of DOPE occurred with only slightly decreasing the SFG signal of water to 0.18 arb. units. The different behavior of DPPE and DOPE in the screening effect can be attributed to the saturated/unsaturated bonds in the aliphatic chains, which trigger the conformational organization of the lipid layers. Indeed, the presence of unsaturated bonds affects the phase transition temperature ( $T_m$ ) of lipids [30], so that DOPE ( $T_m = -16^\circ\text{C}$ ) is in a liquid-like phase at ambient temperature, while the full saturated bonds of the DPPE ( $T_m = +63^\circ\text{C}$ ) tails make the corresponding lipid layer in a gel-like phase. The resulting bilayer structures show a more densely packed organization for DPPE than for DOPE, with the consequence that DPPE drives a larger charge screening than DOPE.

*Negatively PS and positively Lysyl PG charged lipids.* DOPS and Lysyl PG are negative and positive charged lipids, respectively, with one net charge per molecule. DOPS holds two negative and one positive charges, while DOPG holds one negative and two positive charges, which are localized on the polar heads, respectively. Both lipids have the same aliphatic chains, with one unsaturated bond in each aliphatic chain, giving rise to a liquid-like conformation of the corresponding bilayers at room temperature. Starting from the intensity of the CaF<sub>2</sub>/water signal (0.22 arb. units), once DOPS vesicles were injected in the cell to

adsorb and fuse on the  $\text{CaF}_2$  surface and form a lipid bilayer, the SFG intensity decreased to zero in a few seconds, then increased to 1.50 arb. units in the next minute, and remained stable at this value for the next 3h. The passing from zero of the SFG intensity correspond to the flip-flop of water molecules from the up to the down conformation (Fig. 3, bottom) [12, 31]. Indeed, DOPS vesicles carried their negative charge close to the  $\text{CaF}_2$  surface, and screened their positive charge. The further saturation of the surface by DOPS vesicles led to a strongly negatively charged interface, so that the SFG signal increased back, which correspond to an organisation of the water dipoles close to the lipid interface. A different behavior was observed during the adsorption of Lysyl PG vesicles at the  $\text{CaF}_2$ /water interface. Here, the SFG signal showed a fast increase of the SFG signal to 0.60 arb. units directly, without passing from zero, in agreement with the positive net charge carried by the lipids polar heads, which is of the same sign of the neat  $\text{CaF}_2$  surface. Definitely, at the DOPS/water interface, water dipoles are expected to be oriented with a down conformation (Fig. 3 bottom right), while for Lysyl PG/water interface they are expected to be predominantly oriented with an up conformation (Fig. 3, bottom left).

### *Natural Lipid Layers*

Going from the easiest model membranes made of mono-component layers of synthetic lipids of known chemical composition towards more representative models of real systems requires facing that the full composition of the lipid layers is unknown.

*E. coli cardiolipin. E. coli CA* is a mixture of different CA structures, all holding the CA polar head, carrying two net negative charges, and different hydrophobic chains, which are in the amount of four per molecule. Starting from a SFG intensity of 0.22 V at the neat  $\text{CaF}_2$ /water interface, the injection of *E. coli* CA vesicles in the liquid cell decreased the SFG intensity to zero in less than 10 minutes, and then this latter increased back and reached a value as high as 3.75 arb. units after 3h. This behavior indicates that *E. coli* vesicles screened the initially positive charge of  $\text{CaF}_2$ , and then the corresponding lipid bilayer provided a strongly negative character to the interface, which drove a higher organization of interfacial water. This is possibly due to the structure of CA compounds, which, due to the presence of four hydrophobic chains per molecule owing strong intermolecular interactions, give rise to densely packed structures, leading to a higher density of charges per surface area. Moreover, so densely packed films led to highly organized structures, where the polar heads are predominantly oriented in a preferential direction, which may favor a large alignment of water close to the lipid interface.

*Total lipid extracts: ETLE and YTLE. E. coli* total lipid extract is composed of different neutral and charged lipids. The known fraction of ETLE (as provided by the supplier Avanti Polar Lipids), which account for the 82.4% of the total composition, exhibits an average charge of the lipid composition that is negatively charged, while the remaining 17.6% fraction was unknown. The injection of ETLE vesicles at  $\text{CaF}_2$ /water interface induced a decreased of the SFG intensity to zero, and then an increase up to 0.25 arb. units in only one minute. This behavior is in agreement with a very fast screening of the positive charge of  $\text{CaF}_2$  by ETLE vesicles, which inverted the sign the interfacial charges from positive to negative. This statement enabled unravelling that an inversion of the orientation of the water dipoles occurred, which testified for an average negatively charged character of the ETLE lipid interface.

Similarly, the exact charge of YTLE was also unknown (see the YTLE composition as provided by Avanti Polar Lipids). The injection of YTLE vesicles decreased the initial SFG intensity to zero, and then this latter increased back up to 0.31 arb. units in the next 3 hours. This behavior suggests an average negative charge of the YTLE lipid layer, which triggered an

inversion of orientation of the water dipoles from the CaF<sub>2</sub>/water interface to the CaF<sub>2</sub>/YTLE/water interface.

### CONCLUSIONS

The SFG response of water was measured at neutral, negative and positive mono-component lipid bilayers, respectively, and showed that the highest signal, corresponding to a high degree of organisation, was reached at the DOPS negative lipid interface. At natural lipid layers interfaces, the SFG response of *E. coli* Cardiolipin layers indicated an impressive organization of water close to the interface, since the SFG signal increased by two times larger than at the negative mono-component lipid interface. These behaviors enabled estimating the average charge properties of two natural lipids compounds, namely *E. coli* total lipid extract and yeast total lipids extracts, whose full composition was unknown. The SFG response during the adsorption of the corresponding vesicles onto the surface demonstrated that these lipid layer interfaces were in average negatively charged, with a slightly higher organisation of water at the YTLE than at the ETLE interface. By using synthetic lipid layers of known composition as reference signals, it has been then possible to unravel the average charge properties of natural lipid interfaces. The possibility to distinguish lipid interfaces by the signal of their organized water environment represents a possible solution to be explored for developing new, innovative and label-free biodevices.

### ACKNOWLEDGMENT

The author thanks the National Belgian Fund for the Scientific Research F.R.S.-FNRS, the NATO SPS Program (under the grant number G5292 “Biohazards”) for financial support, and the “Lasers, Optics and Spectroscopies” technological platform (LOS) of University of Namur for instrumental and technical support.

### CONFLICT OF INTEREST

The author reports that there is no conflict of interest.

### AUTHOR'S ORCID ID

F. Cecchet  <https://orcid.org/0000-0001-7740-3383>

### REFERENCES

1. Disalvo EA, Pinto OA, Martini MF, Bouchet AM, Hollmanna A, Frías MA. Functional role of water in membranes updated: A tribute to Träuble. *Biophys Biochim Acta Biomembr.* 2015;1848(7):1552–62. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.03.031>
2. Ball P. Water as an active constituent in cell biology. *Chem Rev.* 2008;108(1):74–108. <https://doi.org/10.1021/cr068037a>
3. Fayer MD, Levinger NE. Analysis of water in confined geometries and at interfaces. *Annu Rev Anal Chem.* 2010;3:89–107. <https://doi.org/10.1146/annurev-anchem-070109-103410>
4. Gun'ko VM, Turov VV, Bogatyrev VM, Zarko VI, Leboda R, Goncharuk EV, Novza AA, Turov AV, Chuiko AA. Unusual properties of water at hydrophilic/hydrophobic interfaces. *Adv Colloid Interface Sci.* 2005;118(1-3):125–72. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2005.07.003>
5. Sanders SE, Vanselous H, Petersen PB. Water at surfaces with tunable surface chemistries. *J Phys Condens Matter.* 2018;30:113001. <https://doi.org/10.1088/1361-648X/aaacb5>
6. Shen YR. Surface properties probed by second-harmonic and sum-frequency generation. *Nature.* 1989;337:519–25. <https://doi.org/10.1038/337519a0>
7. Shen YR. *Fundamentals of sum-frequency spectroscopy.* Cambridge University Press, Cambridge; 2016. <https://doi.org/10.1017/CBO9781316162613>
8. Adhikari A, Re S, Nishima W, Ahmed M, Nihonyanagi S, Klauda JB, et al. Water orientation at ceramide/water interfaces studied by heterodyne-detected vibrational sum frequency generation spectroscopy

- and molecular dynamics simulation. *J Phys Chem C*. 2016;120(41):23692–7.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b08980>
9. Allen HC, Casillas-Ituarte NN, Sierra-Hernández MR, Chen X, Tang CY. Shedding light on water structure at air-aqueous interfaces: Ions, lipids, and hydration. *Phys Chem Chem Phys*. 2009;11(27):5538–49.  
<https://doi.org/10.1039/b901209e>
  10. Cyran JD, Backus EHG, Nagata Y, Bonn M. Structure from dynamics: vibrational dynamics of interfacial water as a probe of aqueous heterogeneity. *J Phys Chem B*. 2018;122(14):3667–79.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b10574>
  11. Ishiyama T, Terada D, Morita A. Hydrogen-bonding structure at zwitterionic lipid/water interface. *J Phys Chem Lett*. 2016;7(2):216–20. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b02567>
  12. Mondal JA, Nihonyanagi S, Yamaguchi S, Tahara T. Three distinct water structures at a zwitterionic lipid/water interface revealed by heterodyne-detected vibrational sum frequency generation. *J Am Chem Soc*. 2012;134(18): 7842–50. <https://doi.org/10.1021/ja300658h>
  13. Nojima Y, Suzuki Y, Yamaguchi S. Weakly Hydrogen-bonded water inside charged lipid monolayer observed with heterodyne-detected vibrational sum frequency generation spectroscopy. *J Phys Chem C*. 2017;121(4):2173–80. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b09229>
  14. Ohto T, Backus EHG, Hsieh CS, Sulpizi M, Bonn M, Nagata Y. Lipid carbonyl groups terminate the hydrogen bond network of membrane-bound water. *J Phys Chem Lett*. 2015;6(22):4499–503.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b02141>
  15. Re S, Nishima W, Tahara T, Sugita Y. Mosaic of water orientation structures at a neutral zwitterionic lipid/water interface revealed by molecular dynamics simulations. *J Phys Chem Lett*. 2014;5(24):4343–8.  
<https://doi.org/10.1021/jz502299m>
  16. Roy S, Gruenbaum SM, Skinner JL. Theoretical vibrational sum-frequency generation spectroscopy of water near lipid and surfactant monolayer interfaces. *J Chem Phys*. 2014;141:18C502.  
<https://doi.org/10.1063/1.4895546>
  17. Singh PC, Inoue KI, Nihonyanagi S, Yamaguchi S, Tahara T. Femtosecond hydrogen bond dynamics of bulk-like and bound water at positively and negatively charged lipid interfaces revealed by 2D HD-VSFG spectroscopy. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2016;55:10621–5. <https://doi.org/10.1002/anie.201603676>
  18. Sovago M, Campen RK, Wurfel GWH, Müller M, Bakker HJ, Bonn M. Vibrational response of hydrogen-bonded interfacial water is dominated by intramolecular coupling. *Phys Rev Lett*. 2008;100(17):173901.  
<https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.100.173901>
  19. Sovago M, Vartiainen E, Bonn M. Observation of buried water molecules in phospholipid membranes by surface sum-frequency generation spectroscopy. *J Chem Phys*. 2009;131(16):161107.  
<https://doi.org/10.1063/1.3257600>
  20. Toledo-Fuentes X, Lis D, Cecchet F. Structural changes to lipid bilayers and their surrounding water upon interaction with functionalized gold nanoparticles. *J Phys Chem C*. 2016;120(38):21399–409.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b05460>
  21. Molinaro C, Cecchet F. Label-free, quantitative and sensitive detection of nanoparticle/membrane interaction through the optical response of water. *Sens Actuators B Chem*. 2019;289:169–74.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.03.006>
  22. Lis D, Cecchet F. Unique vibrational features as a direct probe of specific antigen–antibody recognition at the surface of a solid-supported hybrid lipid bilayer. *Chem Phys Chem*. 2016;17(17):2645–9.  
<https://doi.org/10.1002/cphc.201600419>
  23. Toledo-Fuentes X, Molinaro C, Cecchet F. Interfacial charges drive the organization of supported lipid membranes and their interaction with nanoparticles. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2018;172:254–61.  
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.08.018>
  24. Keller CA, Glasmästar K, Zhdanov VP, Kasemo B. Formation of supported membranes from vesicles. *Phys Rev Lett*. 2000;84(23):5443–6. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.84.5443>
  25. Cecchet F, Lis D, Guthmuller J, Champagne B, Caudano Y, Silien C, Mani AA, Thiry PA, Peremans A. Orientational analysis of dodecanethiol and p-nitrothiophenol SAMs on metals with polarization-dependent SFG spectroscopy. *Chem Phys Chem*. 2010;11(3):607–15. <https://doi.org/10.1002/cphc.200900733>
  26. Cecchet F, Lis D, Guthmuller J, Champagne B, Fonder G, Mekhalif Z, Caudano Y, Mani AA, Thiry PA, Peremans A. Theoretical calculations and experimental measurements of the vibrational response of p-NTP SAMs: an orientational analysis. *J Phys Chem C*. 2010;114(9):4106–13.  
<https://doi.org/10.1021/jp911836k>
  27. Miller JD, Fa K, Calara JV, Paruchuri VK. The surface charge of fluorite in the absence of surface carbonation. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*. 2004;238(1-3):91–7.  
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2004.02.030>

28. Lis D, Backus EHG, Hunger J, Parekh SH, Bonn M. Liquid flow along a solid surface reversibly alters interfacial chemistry. *Science*. 2014;344(6188):1138–42. <https://doi.org/10.1126/science.1253793>
29. Khatib R, Backus EHG, Bonn M, Perez-Haro M-J, Gageot M-P, Sulpizi M. Water orientation and hydrogen-bond structure at the fluorite/water interface. *Sci Rep*. 2016;6:24287. <https://doi.org/10.1038/srep24287>
30. Silvius JR. Thermotropic phase transitions of pure lipids in model membranes and their modifications by membrane proteins. In: Jost PC, Griffith OH, editors. *Lipid-Protein Interactions*. V.2. John Wiley & Sons, Inc., New York, 1982. p. 239-81.
31. Dreier LB, Nagata Y, Lutz H, Gonella G, Hunger J, Backus EHG, Bonn M. Saturation of charge-induced water alignment at model membrane surfaces. *Sci Adv*. 2018;4(3):7415. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aap7415>

Original article

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-10>

УДК 535.372:577.336

## ФЛУОРЕСЦЕНТНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОВЕРХНЕВИХ ТКАНИН ЯБЛУК РІЗНИХ СОРТІВ В ЗЕЛЕНІЙ ОБЛАСТІ СПЕКТРУ

**С.В. Кривець, Я.П. Лазоренко, В.П. Мицай, С.О. Мамілов**

*Інститут прикладних проблем фізики і біофізики Національної академії наук України,  
вул. Василя Степанченка, 3, м. Київ, 03142, Україна*

*e-mail: [resega@ukr.net](mailto:resega@ukr.net)*

Надійшла до редакції 6 вересня 2019 р.

Прийнята до друку 10 лютого 2020 р.

**Актуальність.** Традиційні методики визначення вмісту та складу корисних речовин у плодах досить трудомісткі та матеріалоемні, потребують подрібнення та спеціальної обробки біологічного матеріалу. Флуоресцентний метод є одним із найбільш сучасних і перспективних, він дозволяє визначити важливі фізіологічні та метаболічні параметри, не порушуючи цілісність рослинних тканин. Тому виявлення закономірностей та причин відмінностей флуоресцентних властивостей плодів яблуні різних сортів є актуальною задачею, яка дозволить вирішити проблему неінвазивного визначення складу і вмісту корисних речовин у плодах.

**Мета роботи** — визначення флуоресцентних характеристик поверхневих тканин яблук сортів з різним забарвленням екзокарпії у зеленій області спектру флуоресценції.

**Матеріали і методи.** Об'єкт дослідження — яблука чотирьох популярних зимових сортів, близьких за строками дозрівання, що мають різне забарвлення екзокарпії. Застосовано метод флуоресцентної спектроскопії поверхневих тканин яблук при збудженні напівпровідниковим лазером з довжиною хвилі 405 нм та потужністю 36 мВт, що працював у безперервному режимі. Забарвлення яблук визначено як координата *a* системи відображення кольорів CIELAB.

**Результати.** Виявлено, що у зеленій області спектру флуоресценції поверхневих тканин у різних сортів яблук довжина хвилі максимуму відрізняється приблизно на 8–18 нм. В той же час різниця довжин хвиль максимуму в червоній області спектру для різних сортів яблук не перевищує 5 нм. Виявлено, що довжина хвилі максимуму флуоресценції в зеленій області спектру відрізняється у різних сортів відповідно до забарвлення екзокарпії. Якщо у забарвленні екзокарпії переважає зелений колір, то максимум флуоресценції в зеленій області має більшу довжину хвилі, а якщо у забарвленні екзокарпії переважає червоний — меншу. Довжина хвилі у яблук з жовтим забарвленням екзокарпії займає проміжну позицію.

**Висновки.** Пігментний склад поверхневих тканин яблук впливає на їх флуоресценцію в зеленій області спектру. Причинами відмінностей довжини хвилі максимуму флуоресценції у зеленій області спектру можуть бути варіативність складу флавонолів в залежності від сорту яблук та поглинання флуоресцентного випромінювання червоними пігментами.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** флуоресценція; екзокарпій; яблука; флавоноли.

## ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА ПОВЕРХНОСТНЫХ ТКАНЕЙ ЯБЛОК РАЗНЫХ СОРТОВ В ЗЕЛЕННОЙ ОБЛАСТИ СПЕКТРА

**С.В. Кривец, Я.П. Лазоренко, В.П. Мицай, С.А. Мамілов**

*Інститут прикладних проблем фізики і біофізики Національної академії наук України,  
ул. Василя Степанченка, 3, г. Киев, 03142, Украина*

**Актуальность.** Традиционные методики определения содержания и состава полезных веществ в плодах достаточно трудоемкие и материалоемкие, требуют измельчения и специальной обработки биологического материала. Флуоресцентный метод является одним из самых современных и перспективных, он позволяет определять важные физиологические и метаболические параметры, не нарушая целостность растительных тканей. Поэтому выявление закономерностей и причин различий флуоресцентных свойств плодов яблони разных сортов является актуальной задачей, которая позволит решить проблему неинвазивного определения состава и содержания полезных веществ в плодах.

**Цель работы** — определение флуоресцентных характеристик поверхностных тканей яблук сортов с разной окраской экзокарпия в зеленой области спектра флуоресценции.

**Материалы и методы.** Объект исследования — яблоки четырех популярных зимних сортов, близких по срокам созревания, имеющих различную окраску экзокарпия. Применен метод флуоресцентной спектроскопии поверхностных тканей яблук при возбуждении полупроводниковым лазером с длиной волны 405 нм и мощностью 36 мВт, работавшим в непрерывном режиме. Окраска яблук определена как координата *a* системы отображения цветов CIELAB.

**Результаты.** Обнаружено, что длина волны максимума в зеленой области спектра флуоресценции поверхностных тканей у разных сортов яблук отличается примерно на 8–18 нм. В то же время разница длин волн максимума в красной области спектра для разных сортов яблук не превышает 5 нм. Обнаружено, что длина волны максимума флуоресценции в зеленой области спектра отличается у разных сортов в соответствии с окраской экзокарпия. Если в окраске экзокарпия преобладает зеленый цвет, то максимум флуоресценции в зеленой области имеет большую длину волны, а если в окраске экзокарпия преобладает красный — меньшую. Длина волны у яблук с желтой окраской экзокарпия занимает промежуточную позицию.

**Выводы.** Пигментный состав поверхностных тканей яблук влияет на их флуоресценцию в зеленой области спектра. Причинами отличий длины волны максимума флуоресценции в зеленой области спектра может быть вариативность состава флавонолов в зависимости от сорта яблук и влияние красных пигментов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** флуоресценция; экзокарпий; яблоки; флавонолы.

#### FLUORESCENT PROPERTIES OF SURFACE TISSUES OF APPLES OF DIFFERENT VARIETIES IN THE GREEN AREA OF SPECTRUM

S.V. Kryvets, Ya.P. Lazorenko, V.P. Mitsai, S.O. Mamilov

*Institute of Applied Problems of Physics and Biophysics of the National Academy of Science of Ukraine,  
3 Vasilya Stepanchenka Str., Kyiv, 03142, Ukraine*

**Background:** Traditional methods of the content and composition of fruits nutrients determining are labor-intensive and material-intensive, require grinding and special processing of biological material. The fluorescent method is one of the most modern and promising. It allows determining physiological and metabolic parameters without plant tissues destruction. Therefore, the patterns and causes of differences identification of the different apple varieties fluorescent properties is an important task, which will solve the problem of non-invasive determination of the composition and content of useful substances in fruits.

**Objectives:** The determination of the surface tissues fluorescent properties in the green area of the fluorescence spectrum of apple varieties with different coloring of exocarp is the purpose of the work.

**Materials and methods:** The object of the study is apples of four popular winter varieties, close in maturity, with different coloring of exocarp. The method of fluorescence spectroscopy of the apples surface tissues was used. The excitation was made by a semiconductor laser with a wavelength of 405 nm and a power of 36 mW, operating in a continuous mode. The apples coloring is defined as the coordinate *a* of the CIELAB color mapping system.

**Results:** It was found that the wavelength of the maximum in the green area of the fluorescence spectrum of different apple varieties surface tissues differs by approximately 8–18 nm. At the same time, the difference of wavelengths of the maximum in the red area for different apple varieties does not exceed 5 nm. It was found that wavelength of the maximum in the green area of the fluorescence spectrum differs in different varieties in accordance with the coloring of the exocarp. If green color prevails in the exocarp coloring the fluorescence maximum in the green area has a longer wavelength, and if red prevails it has a shorter wavelength, while if yellow prevails, the wavelength occupies an intermediate position.

**Conclusions:** The pigment composition of the surface tissues of apples affects on their fluorescence in the green area of the spectrum. Possible reasons for the differences of the maximum wavelength in the green area of the fluorescence spectrum are the variability of flavonols composition depending on the apple variety and the influence of red pigments.

**KEY WORDS:** fluorescence; exocarp; apples; flavonols.

Традиційні методики визначення вмісту та складу корисних речовин у плодах досить трудомісткі та матеріалоємні, потребують подрібнення та спеціальної обробки біологічного матеріалу [1]. Дослідження флуоресценції рослин є однією із найбільш



сучасних і перспективних методик, яка дозволяє не порушуючи цілісність рослинних тканин визначати важливі фізіологічні та метаболічні параметри.

Досить широке застосування знайшли показники флуоресценції рослин з максимумами у червоній (~680 нм) та дальній червоній (~730 нм) областях спектру, які відповідають хлорофілу *a* фотосистеми II та фотосистеми I відповідно [2]. Ці показники використовують для оцінки кількості хлорофілу в тканинах та його фотохімічної активності, що дозволяє оцінити стан рослин та вплив на них різних стресових факторів [3].

Дослідження останніх десятиліть показали, що для тканин багатьох видів рослин, окрім максимумів в червоній та дальній червоній області, характерні також максимуми у синій (~440 нм) та зеленій (~520 нм) областях спектру флуоресценції [4, 5]. З флуоресценцією в зеленій області спектру пов'язують флавоноли [5]. Зокрема в роботі Е.А. Ягольник з співавторами [6] показано, що кверцетин при збудженні на 370 нм має максимум інтенсивності у спектрі флуоресценції на 545 нм, проте довжина хвилі його максимуму може бути зміщена в залежності від властивостей середовища. Флавоноли мають виражені антиоксидантні, антирадикальні, ангіопротекторні властивості [7]. Тому визначення складу та вмісту флавонолів у рослинних плодах має значне практичне значення. Крім флавонолів за даними Н.К. Lichtenthaler з співавторами [8] значний вклад у синьо-зелену флуоресценцію рослин можуть вносити коричневі кислоти, які містяться в клітинних стінках. На флуоресценцію плодів в даній області спектру можуть впливати також антоціани, які формують червоний рум'янець на стороні плодів, що була більше освітлена сонцем, вони мають смуги поглинання як в ультрафіолетовій, так і у видимій області спектру, і частково поглинають як збуджуюче випромінювання, так і флуоресцентний сигнал синьо-зеленої області спектру [9].

Яблука є одним із найбільш популярних рослинних продуктів як в Україні, так і у багатьох країнах Європи та США. Харчова цінність яблук визначається високим вмістом у тканинах плодів, насамперед у екзокарпії, поліфенолів, яких нараховують більше двадцяти, при чому в недозрілих плодах переважають катехіни, лейкоантоціаніди та хлорогенова кислота, а в дозрілих плодах переважають більш окислені форми — флавоноли [10]. За даними Е.И. Тарун з співавторами [11] до складу яблучного соку входять такі флавоноли як рутин, кверцетин та епікатехін. За даними О.В. Перфілової з співавторами [12] тканини яблук містять до 7,2 мг кверцетину та до 10 мг антоціанідів на 100 г.

Оскільки за складом і вмістом флавонолів, антоціанів та коричневих кислот різні сорти яблук можуть відрізнятися [13], це може впливати на флуоресцентні характеристики плодів. Дослідження оптичних властивостей тканин яблук останніх років показали наявність флуоресценції в синьо-зеленій області. С.А. Родіковим з співавторами [14] при збудженні на довжині хвилі ~350 нм поверхневих тканин яблук сорту Антонівка звичайна отримано максимум флуоресценції в області 400–410 нм з плавним зниженням до 670 нм. При цьому виявлено, що плоди флуоресціюють у більшій мірі на тіньовому боці. Пізніше в інших дослідженнях авторами було отримано два максимуми на 550 нм і 630 нм [14]. Н.К. Lichtenthaler з співавторами [9] при дослідженні сорту яблук Бребурн показали, що при збудженні ксеноновою лампою в області 280–400 нм в поверхневих тканинах яблук спостерігаються максимуми флуоресценції на 440 нм та 520 нм. При цьому інтенсивність флуоресценції на цих довжинах хвиль збільшується при зберіганні яблук протягом шести місяців. М.С. Kim з співавторами [15] також виявили флуоресценцію яблук сорту Голден Делішес у синьо-зеленій області спектру на довжинах хвиль 460 нм та 530 нм. При цьому у дозрілих плодів максимуми у синій і червоній області по відношенню до максимуму у зеленій

області є нижчими ніж у недозрілих. Таким чином у різних дослідженнях отримано дещо відмінні результати щодо довжини хвилі максимуму флуоресценції яблук в зеленій області спектру. Закономірності та причини відмінностей флуоресценції яблук різних сортів у зеленій області спектру потребують подальшого вивчення.

Метою роботи є визначення флуоресцентних характеристик поверхневих тканин у зеленій області спектру флуоресценції для сортів яблук з різним забарвленням екзокарпію. Використання оптичних вимірювань має на меті розробку неінвазивного методу моніторингу деградації корисних речовин у плодах рослин при тривалому зберіганні.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Об'єктом дослідження були яблука чотирьох популярних зимових сортів, що мали різне забарвлення екзокарпію. Сорт Ренет Симиренко мав зелене забарвлення, Голден Делішес — жовте, Айдаред — світло-зелене з малиновим рум'янцем, Флоріна — зеленувато-жовте з вираженим малиновим рум'янцем. Для дослідження відбиралось по 7–8 яблук кожного сорту. Всі яблука мали щільну гладку поверхню і однакову ступінь стиглості. Для характеристики забарвлення яблук кожного сорту з поверхні кожного плода було зроблено по дванадцять цифрових фотографій за допомогою веб-камери Mustek Wcam 300 при незмінних налаштуваннях камери та незмінному освітленні поверхні зразків. Після цього колір на кожній фотографії усереднювався за допомогою фільтру Average програми Adobe Photoshop CS4 і визначалась координата  $a$  системи відображення кольорів CIELAB, яка показує положення кольору в діапазоні від зеленого до червоного. Отримані дані усереднювались для кожного сорту, визначалось середнє арифметичне та довірчий інтервал з рівнем значимості  $p \leq 0,05$ .

Спектри флуоресценції поверхневих тканин яблук реєструвались за допомогою установки на основі флуоресцентного спектрометра SL40-2 з оптоволоконним входом та світлочутливою матрицею TCD1304, яка дозволяла реєструвати спектр в діапазоні 450–800 нм (Рис. 1). Промінь напівпровідникового лазера (1) з довжиною хвилі 405 нм та

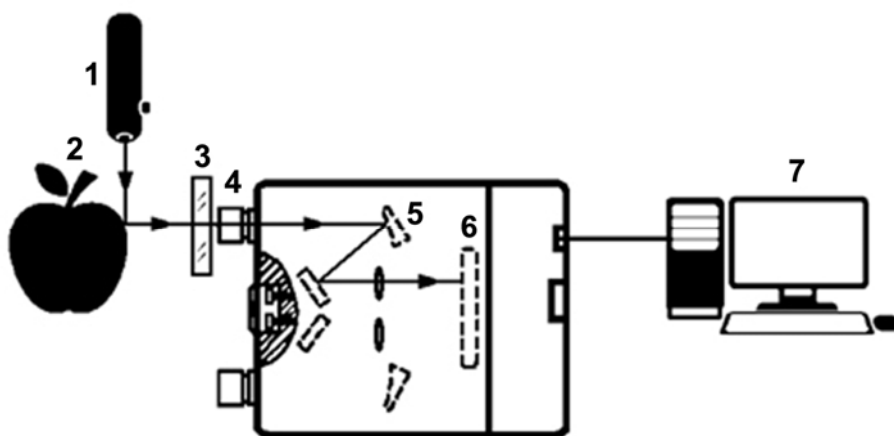


Рис. 1. Схема установки на основі флуоресцентного спектрометра SL40-2: 1 — напівпровідниковий лазер 405 нм, 2 — зразок яблука, 3 — світлофільтр GVK48, 4 — оптоволоконний вхід SL40-2, 5 — монохроматор, 6 — світлочутлива матриця TCD1304, 7 — персональний комп'ютер.

потужністю 36 мВт, що працював у безперервному режимі, направлявся на поверхню зразка яблука (2) по дотичній. Для відсікання збуджуючого випромінювання між оптоволоконним входом та поверхнею яблука розміщувався світлофільтр GVK48 (3) з областю пропускання 455 нм і вище. Флуоресцентний сигнал від зразка яблука через оптоволоконний вхід (4) флуоресцентного спектрометра SL40-2 передавався на

монохроматор (5), а потім на світлочутливу матрицю (6). Отримані спектри передавалися на персональний комп'ютер (7) для подальшої обробки. Спектри флуоресценції реєструвалися по чергово у дев'яти точках поверхні кожного яблука по колу, через кожні  $40^\circ$ , з кількаразовим повторенням.

Для згладжування стохастичних шумів у спектрах використовувався фільтр Савіцького-Голея з поліномом шостого степеня та усереднюючим інтервалом у 199 значень, який дозволяв мінімізувати викривлення амплітуд спектральних піків при згладжуванні. Після цього визначались довжини хвиль максимумів флуоресценції у зеленій (500–565 нм) та червоній (625–710 нм) областях спектрів у нанометрах. Для усунення із вибірки можливих артефактів застосовувався критерій трьох  $\sigma$  для набору значень кожного окремого зразка яблук. Отримані значення усереднювались для кожного сорту, визначалось середнє арифметичне та довірчий інтервал з рівнем значимості  $p \leq 0,05$ . Для обробки результатів використано програми OriginPro 8 та Microsoft Office Excel 2010.

### РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ

На рисунку наведено типові спектри флуоресценції поверхневих тканин яблук чотирьох сортів при збудженні напівпровідниковим лазером на 405 нм (Рис. 2). На спектрах усіх зразків яблук простежувалось два більш виражені піки з максимумами у зеленій (max 1) та у червоній області (max 2), а також менш виражений пік з максимумом у далекій червоній області (max 3).

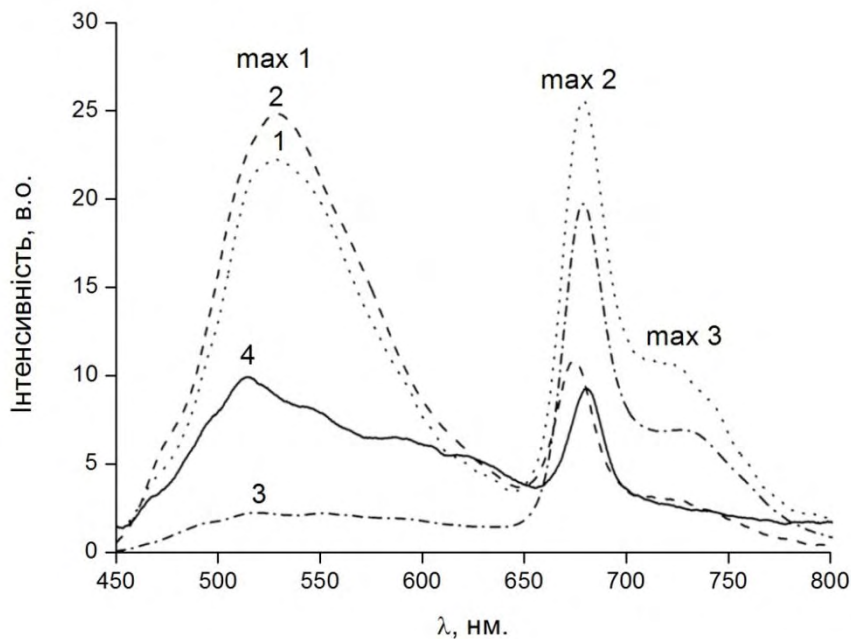


Рис. 2. Типові спектри флуоресценції поверхневих тканин яблук чотирьох сортів при збудженні напівпровідниковим лазером на 405 нм: 1 — Ренет Симиренко, 2 — Голден Делішес, 3 — Айдаред, 4 — Флоріна, max 1 — максимум у зеленій області спектру, max 2 — максимум у червоній області спектру, max 3 — максимум у далекій червоній області спектру.

Статистичний аналіз набору спектрів показав, що довжини хвиль максимумів флуоресценції поверхневих тканин у різних сортів яблук відрізняються. Різниця довжин хвиль максимуму флуоресценції в зеленій області спектру мала різні значення, від  $\sim 8$  нм для сортів Айдаред і Флоріна до  $\sim 18$  нм для сортів Ренет Симиренко і Флоріна. В той же час різниця довжин хвиль максимуму в червоній області спектру для різних сортів яблук не перевищувала 5 нм.

Виявлено, що довжина хвилі максимуму флуоресценції в зеленій області спектру відрізняється у різних сортів відповідно до забарвлення екзокарпію. Якщо у забарвленні екзокарпія переважав зелений колір, то максимум флуоресценції в зеленій

області мав більшу довжину хвилі, а якщо у кольорі екзокарпії переважав червоний — меншу, у яблук з жовтим кольором екзокарпії довжина хвилі займала проміжну позицію (Рис. 3).

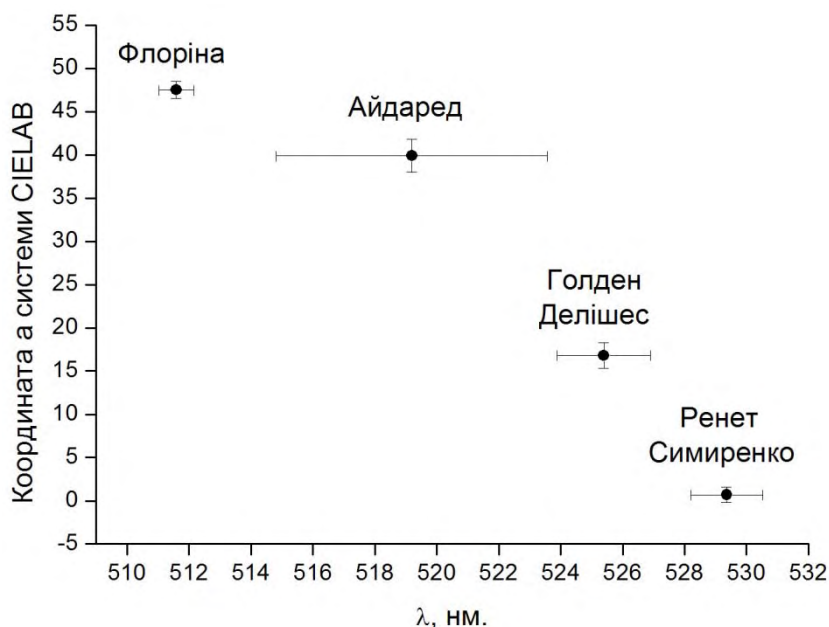


Рис. 3. Довжини хвиль флуоресценції у зеленій області спектру поверхневих тканин яблук чотирьох сортів різного кольору при збудженні лазером на 405 нм ( $p \leq 0,05$ ).

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що пігменти, які формують забарвлення яблук, впливають на довжину хвилі максимуму флуоресценції поверхневих тканин яблук в зеленій області. За літературними даними серед пігментів джерелом зеленої флуоресценції можуть бути деякі флавоноли, а також можливий вплив ряду пігментів на флуоресценцію інших речовин у зеленій області спектру. Зокрема, частина флуоресцентного сигналу може поглинатися червоними пігментами, які мають смуги поглинання в синьо-зеленій області спектру, що також може призвести до зміщення довжини хвилі максимуму в зеленій області спектру флуоресценції. Тому вірогідною причиною відмінності довжини хвилі максимуму в зеленій області флуоресценції може бути різний склад флавонолів та інших пігментів у різних сортів яблук. З'ясування більш точних причин знайденої закономірності потребує подальших досліджень.

### ВИСНОВКИ

В результаті проведених досліджень виявлено залежність між забарвленням екзокарпії яблук та довжиною хвилі максимуму в зеленій області спектру флуоресценції, що дозволяє зробити висновок про вплив пігментного складу плодів на їх флуоресценцію в зеленій області спектру. Вірогідними причинами знайденої залежності є варіативність складу флавонолів в залежності від сорту яблук та поглинання флуоресцентного випромінювання червоними пігментами.

### ПОДЯКА

Робота виконана в рамках НДР Національної академії наук України «Дослідження спектрально залежних процесів та засобів візуалізації і морфометрії поверхні біологічних об'єктів».

### КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ

Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

## Authors' ORCID ID

S.V. Kryvets  <https://orcid.org/0000-0002-1511-7995>  
Ya.P. Lazorenko  <https://orcid.org/0000-0003-2925-3338>  
V.P. Mitsai  <https://orcid.org/0000-0002-0730-0853>  
S.O. Mamilov  <https://orcid.org/0000-0002-0175-7019>

## REFERENCES

1. Sinyutina SE, Romantsova SV, Savelyeva VYu. Extraction of flavonoides from plant material and study of their antioxidant properties. Tambov University Reports. Series: Natural and Technical Sciences. 2011;16(1):345–7. Available from: <http://journals.tsutmb.ru/a8/upload/2018-december/temp.aed4b5ec6fb6a11c593eac7166b89c5a.pdf> (In Russian)
2. Lysenko VS, Varduni TV, Soier VG, Krasnov VP. Plant chlorophyll fluorescence as an environmental stress characteristic: a theoretical basis of the method application. Fundamental research. 2013;(4):112–20. Available from: <https://www.fundamental-research.ru/en/article/view?id=31109> (In Russian)
3. Fedotov YuV, Bullo OA, Belov ML, Gorodnichev VA. Experimental research into laser method for detecting plant stress. Herald of the Bauman Moscow State Technical University. Series Instrument Engineering. 2017;(2):21–32. <http://doi.org/10.18698/0236-3933-2017-2-21-32> (In Russian)
4. Buschmann C, Langsdorf G, Lichtenthaler HK. Imaging of the blue green and red fluorescence emission of plants: An overview. Photosynthetica. 2000;38(4):483–91. <https://doi.org/10.1023/A:1012440903014>
5. Lideker W, Ginther K, Dahn HG, inventors; Deutsches Zentrum fur Luft-und Raumfahrt E.V., assignee. Fluorescence detection assembly for determination of significant vegetation parameters. United States patent US 6563122. 2003 May 13. <https://doi.org/10.1023/A:1012440903014>
6. Yagolnik EA, Muzafarov EN, Kim YuA, Tarahovsky YuS. The interaction of flavonol quercetin with collagen. Izvestiya TulGU. 2015;(2):121–32. Available from: <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2000025114> (In Russian)
7. Bondariuk EV, Senchuk VV. The study of flavonols and their interaction with serum albumin by fluorescence analysis. Vestnik of Belarusian State University. Ser. 2, Chemistry. Biology. Geography. 2006;2(1):27–30. Available from: <https://elib.bsu.by/bitstream/123456789/22406/1/27-30.pdf> (In Russian)
8. Lichtenthaler HK, Schweiger J. Cell wall bound ferulic acid, the major substance of the blue-green fluorescence emission of plants. Journal of Plant Physiology. 1998;152(2-3):272–82. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(98\)80142-9](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(98)80142-9)
9. Lichtenthaler HK, Langsdorf G, Buschmann C. Multicolor fluorescence images and fluorescence ratio images of green apples at harvest and during storage. Israel Journal of Plant Sciences. 2012;60:97–106. <https://doi.org/10.1560/ijps.60.1-2.97>
10. Moskaliuk IV. The determination of jellying capacity of pectin substances of active peroxidase. Odes'kyi Politechnichnyi Universytet. Pratsi. 2009;1(31):177–9. Available from: <http://pratsi.opu.ua/app/webroot/articles/1312459824.pdf> (In Russian)
11. Tarun EI, Chudnovskaia EV. Inhibition of reactions of free radicals in the fenton system under the influence of flavonoids. Proceedings of Belarusian State University Physiological, biochemical and molecular basis for the functioning of biosystems. 2014;9(1):114–21. Available from: <https://elib.bsu.by/bitstream/123456789/121737/1/114-121.pdf> (In Russian)
12. Perfilova OV, Skripnikov YuG. Powder from fruit and vegetable cakes. Bulletin of Michurinsk State Agrarian University. 2006;(2):61–63. Available from: [http://www.mgau.ru/sciense/journal/PDF\\_files/Vestnik\\_2\\_2006.pdf](http://www.mgau.ru/sciense/journal/PDF_files/Vestnik_2_2006.pdf) (In Russian)
13. Makarova NV, Valiulina DF, Bakharev VV. Use of summer varieties of apples as an antioxidant. Food Processing: Techniques and Technology. 2012;(2):70–5. Available from: <http://fptt.ru/stories/archive/25/16.pdf> (In Russian)
14. Rodikov SA. Chlorophyll fluorescence of fruit skin in blue and red ranges of spectrum. Bulletin of Michurinsk State Agrarian University. 2011;2(2):66–72. Available from: [http://www.mgau.ru/sciense/journal/PDF\\_files/Vestnik\\_2\\_2011\\_2.pdf](http://www.mgau.ru/sciense/journal/PDF_files/Vestnik_2_2011_2.pdf) (In Russian)
15. Kim MS, Chen Y-R, Cho B-K, Chao K, Yang C-C, Lefcourt AM, et al. Hyperspectral reflectance and fluorescence line-scan imaging for online defect and fecal contamination inspection of apples. Sensing and instrumentation for food quality and safety. 2007;(1):151–9. <https://doi.org/doi:10.1007/s11694-007-9017-x>



Original article

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-11>

UDC 577.32:615.28:544.173

## MASS SPECTROMETRY STUDY OF NONCOVALENT COMPLEXES FORMATION OF ANTIBIOTIC CYCLOSERINE WITH N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE AND ASCORBIC ACID

V.A. Pashynska<sup>1</sup>, M.V. Kosevich<sup>1</sup>, A. Gomory<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*B. Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine, 47 Nauky Ave., Kharkiv, 61103, Ukraine*

*e-mail: [pashynska@ilt.kharkov.ua](mailto:pashynska@ilt.kharkov.ua)*

<sup>2</sup>*Institute of Organic Chemistry of Research Centre for Natural Sciences, 2 Magyar tudosok korutja, Budapest, H-1117, Hungary*

Submitted December 18, 2019

Accepted January 28, 2020

**Background:** While antibiotic cycloserine (CYS) is widely applied in the treatment of tuberculosis, our knowledge of the drug intermolecular interactions with targeting biomolecules and other drugs remains incomplete. It is believed that the CYS antibacterial activity is related to inhibiting the bacterial cell wall biosynthesis. On the other hand, intermolecular interactions of CYS with ascorbic acid (ASC) molecules is worth of studying taking into account that ASC can be used as supporting vitamin preparation or can be affiliated with the patients nutrition.

**Objectives:** The purpose of the current model study are to examine biologically significant intermolecular interactions of CYS with N-acetyl-D-glucosamine (NAG) as one of the main component of peptidoglycan of bacterial cell wall and to verify the possibility of noncovalent complexes formation between CYS and ASC molecules using electrospray ionization mass spectrometry (ESI MS) technique.

**Materials and methods:** The objects of the study are model systems composed of CYS and NAG or CYS and ASC prepared in a polar methanol solvent for the ESI MS probing. ESI mass spectra are obtained using the approach earlier developed by us for investigation of the noncovalent complexation of drugs with targeting biomolecules.

**Results:** The experiments reveal that the ESI mass spectrum of (CYS–NAG) model system contains peaks of protonated molecular clusters of CYS with NAG:  $[\text{CYS}\cdot\text{NAG}\cdot\text{H}]^+$  and  $[\text{CYS}\cdot 2\text{NAG}\cdot\text{H}]^+$ . Existing of such peaks in the spectrum testifies to formation of stable noncovalent complexes between CYS and NAG in the studied solution. ESI MS examining of (CYS–ASC) system reveals the noncovalent pair complexation of CYS and ASC molecules confirmed by the recording of intensive peak of  $[\text{CYS}\cdot\text{ASC}\cdot\text{H}]^+$  cluster in the spectrum.

**Conclusions:** The ESI MS findings point to the possibility of noncovalent complexation of CYS with NAG in the polar media including biological systems. Such complexation between the antibiotic and NAG as component of peptidoglycan of bacterial cell wall is considered to be biologically significant for the process of the cell wall biosynthesis inhibiting by CYS. Stable noncovalent complexes formation between the CYS and ASC molecules is suggested as a potential molecular mechanism of the drugs activity modulation under their joint usage.

**KEY WORDS:** cycloserine; N-acetyl-D-glucosamine; ascorbic acid; noncovalent complexes; electrospray ionization mass spectrometry.

## МАС-СПЕКТРОМЕТРИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ФОРМУВАННЯ НЕКОВАЛЕНТНИХ КОМПЛЕКСІВ АНТИБІОТИКА ЦИКЛОСЕРИНА З N-АЦЕТИЛ-D-ГЛЮКОЗАМІНОМ ТА АСКОРБІНОВОЮ КИСЛОТОЮ

В.А. Пашинська<sup>1</sup>, М.В. Косевич<sup>1</sup>, А. Гоморі<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б.І. Веркіна Національної академії наук України,  
просп. Науки, 47, Харків, 61103, Україна*

<sup>2</sup>*Інститут органічної хімії Наукового центру природничих наук,  
Бульвар Магяр tudosok, 2, Будапешт, H-1117, Угорщина*

**Актуальність.** Антибіотик циклосерин (CYS) активно застосовується при лікуванні туберкульозу, проте наші знання щодо міжмолекулярної взаємодії молекул цього препарату з біомолекулами-



мішенями та з молекулами інших ліків наразі є обмеженими. Вважається, що антибактеріальна дія CYS пов'язана з пригніченням процесу біосинтезу клітинної стінки бактерій. Поряд з цим певний інтерес становить вивчення міжмолекулярних взаємодій CYS з молекулами аскорбінової кислоти (ASC), оскільки вона може використовуватися як допоміжний вітамінний препарат при лікуванні туберкульозу або знаходитися у їжі пацієнтів.

**Мета роботи.** Задачами даного модельного дослідження стали вивчення біологічно важливих міжмолекулярних взаємодій циклосерину з N-ацетил-D-глюкозаміном (NAG), що є одним з головних компонентів полімерного пептидоглікану клітинної стінки бактерій, та перевірка можливості формування нековалентних комплексів між молекулами CYS та ASC за допомогою методу мас-спектрометрії з іонізацією електророзпиленням (МСІЕР).

**Матеріали й методи.** Об'єктами дослідження обрано модельні системи, складовими яких є CYS та NAG або CYS та ASC, розчинені у полярному розчиннику метанолі для МСІЕР експериментів. Мас-спектри було отримано з використанням розробленого нами раніше підходу до дослідження нековалентного комплексоутворення між молекулами лікарських агентів та біологічними молекулами-мішенями.

**Результати.** Показано, що мас-спектр ІЕР модельної системи (CYS–NAG) містить піки протонуваних молекулярних кластерів CYS та NAG:  $[\text{CYS}\cdot\text{NAG}\cdot\text{H}]^+$ ,  $[\text{CYS}\cdot 2\text{NAG}\cdot\text{H}]^+$ . Наявність цих піків у спектрі свідчить про формування стабільних нековалентних комплексів між CYS та NAG у дослідженій розчині. МСІЕР дослідження системи (CYS–ASC) виявило утворення нековалентних парних комплексів молекул CYS та ASC, що підтверджується наявністю у спектрі інтенсивних піків кластерів  $[\text{CYS}\cdot\text{ASC}\cdot\text{H}]^+$ .

**Висновки.** Результати МСІЕР експериментів вказують на можливість нековалентного комплексоутворення між молекулами CYS та NAG у полярному середовищі, включаючи біологічні системи. Ми вважаємо, що таке зв'язування молекул протитуберкульозного антибіотика CYS з NAG-компонентами пептидоглікану клітинної стінки бактерій може бути біологічно важливим для процесу пригнічення біосинтезу клітинної стінки. Виявлене формування стабільних нековалентних комплексів молекул CYS та ASC в розчині пропонується як потенційний молекулярний механізм модуляції активності цих лікарських засобів при їх одночасному застосуванні.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** циклосерин; N-ацетил-D-глюкозамін; аскорбінова кислота; нековалентні комплекси; мас-спектрометрія з іонізацією електророзпиленням.

## МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФОРМИРОВАНИЯ НЕКОВАЛЕНТНЫХ КОМПЛЕКСОВ АНТИБИОТИКА ЦИКЛОСЕРИНА С N-АЦЕТИЛ- D-ГЛЮКОЗАМИНОМ И АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТОЙ

В.А. Пашинська<sup>1</sup>, М.В. Косевич<sup>1</sup>, А. Гомори<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б.І. Веркіна НАН України, просп. Науки, 47, Харків, 61103, Україна

<sup>2</sup>Інститут органічної хімії Научного центру естественних наук, Бульвар Мадьяр тудосок, 2, Будапешт, H-1117, Венгрія

**Актуальность.** Антибиотик циклосерин (CYS) широко используется при лечении туберкулеза, однако наши знания о межмолекулярных взаимодействиях этого лекарственного препарата с биомолекулами-мишенями и молекулами других лекарств остаются неполными. Предполагается, что антибактериальное действие CYS связано с ингибированием биосинтеза клеточной стенки бактерий. Наряду с этим определенным интерес представляет изучение межмолекулярных взаимодействий CYS с молекулами аскорбиновой кислоты (ASC), поскольку она может применяться как вспомогательный витаминный препарат при лечении туберкулеза или находится в пище пациента.

**Цель работы.** Задачами настоящего модельного исследования стали изучение биологически значимых межмолекулярных взаимодействий CYS с N-ацетил-D-глюкозаміном (NAG), который является основным составным компонентом пептидогликана клеточной стенки бактерий, а также оценка возможности формирования нековалентных комплексов между молекулами CYS и ASC методом масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением (МСІЕР).

**Материалы и методы.** Объектами исследования были выбраны модельные двухкомпонентные системы, состоящие из CYS и NAG или CYS и ASC, приготовленные на основе полярного растворителя метанола для МСІЕР анализа. Масс-спектры получали, используя разработанный нами ранее подход для исследований нековалентного комплексообразования между молекулами лекарственных агентов и биомолекулами-мишенями.



**Результаты.** Показано, что масс-спектр ИЭР модельной системы (CYS–NAG) содержит пики протонированных молекулярных кластеров CYS и NAG:  $[\text{CYS}\cdot\text{NAG}\cdot\text{H}]^+$ ,  $[\text{CYS}\cdot 2\text{NAG}\cdot\text{H}]^+$ . Наличие этих пиков в спектре свидетельствует о формировании стабильных нековалентных комплексов CYS и NAG. МСИЭР исследование системы (CYS–ASC) выявило формирование парных нековалентных комплексов молекул CYS и ASC, что подтверждается присутствием в спектре интенсивных пиков кластеров  $[\text{CYS}\cdot\text{ASC}\cdot\text{H}]^+$ .

**Выводы.** Результаты МСИЭР экспериментов указывают на возможность нековалентного комплексообразования между молекулами CYS и NAG в полярном окружении, включая биосистемы. Считаем, что такое связывание молекул противотуберкулезного антибиотика CYS с NAG-компонентами пептидогликана клеточной стенки бактерий может быть биологически значимым для процесса ингибирования биосинтеза клеточной стенки. Обнаруженное формирование стабильных нековалентных комплексов молекул CYS и ASC в растворе предлагается как потенциальный молекулярный механизм модуляции активности этих лекарственных агентов при их совместном применении.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** циклосерин; N-ацетил-D-глюкозамин; аскорбиновая кислота; нековалентные комплексы; масс-спектрометрия с ионизацией электрораспылением.

Antibiotic cycloserine (CYS) is widely used in medical practice to treat a number of infection diseases, foremost tuberculosis and its drug resistant forms [1, 2]. At the same time our knowledge on molecular mechanisms of CYS antimicrobial and, in particular anti-tuberculosis activity remains incomplete and requires further advancement anticipating the demand in overcoming of drug resistance of the pathogens [3–6].

It is believed that CYS reveals its antibacterial effect by inhibiting the biosynthesis of bacteria cell wall peptidoglycan and this inhibition may result from multi-targeting action of D-cycloserine in the bacteria cell [3–6], e.g. reaction with enzyme alanine racemase [6] or binding to another enzyme involved in peptidoglycan biosynthesis — D-alanine:D-alanine ligase [3,4]. Moreover recently it was shown that the inhibition of D-alanine:D-alanine ligase by D-cycloserine can be proceeded via a distinct phosphorylated form of the drug [4]. Taking into account the continued studies of the mentioned enzymatic mechanisms of CYS antimicrobial activity and sharing the idea that the antibacterial agents can target multiple activities in the bacterial cells metabolism [7, 8], we think that from biophysical point of view it would be interesting to investigate the intermolecular interactions of CYS not just with the enzymes of the peptidoglycan biosynthesis, but also with the reagents participated in this crucial for bacteria biosynthetic process.

A purpose of the current model study is to examine the biologically significant intermolecular interactions of CYS with one of the main sugar component of peptidoglycan of bacterial cell wall — N-acetyl-D-glucosamine (NAG) applying electrospray ionization mass spectrometry (ESI MS) technique.

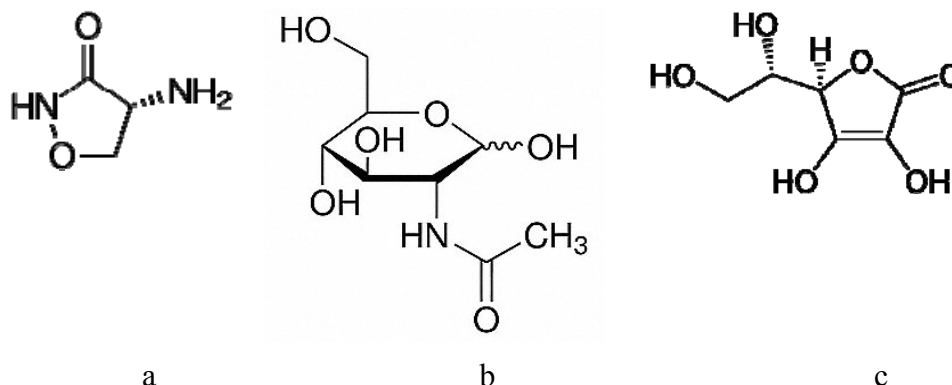
Furthermore, the multi-drugs schemes of therapy of infection diseases are commonly applied presently. A number of supporting preparations, such as anti-inflammatory agents, vitamin preparations, etc, may be used by patients jointly with antibiotic preparations; in this connection the effects of the drugs activity modulation on the molecular level is considered as an important subject to be investigated. In this light another task of the current work is to investigate possible complexation of the CYS molecules with ascorbic acid (ASC), known as vitamin C, which can be used in anti-tuberculosis therapy as supporting vitamin medication or could be affiliated with the patient's food.

To examine the problems stated above and to investigate the intermolecular interactions of CYS with its possible targeting molecule of NAG and with ascorbic acid we used ESI MS approach which was developed and successfully applied by us in our previous investigations of the drugs molecules interactions with biomolecules and other biologically active agents [9–12].

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

In our experiments we used cycloserine produced by company “Enamine” (Ukraine); N-acetyl-D-glucosamine and L-ascorbic acid (99% of purity) were provided by “Sigma-Aldrich” international company. Structures of the compounds under study are presented in Scheme 1.



Scheme 1. Structures of compounds under study: a) cycloserine (CYS); b) N-acetyl-D-glucosamine (NAG); c) L-ascorbic acid (ASC).

The 5 mM stock solutions of CYS, NAG and ASC were prepared in polar solvent methanol and model systems containing CYS and NAG (1:5 molar ratio) or CYS and ASC (1:1 molar ratio) were obtained by mixing on the appropriate volume parts of the stock solutions.

The mixtures were kept at the room temperature for at least 10 minutes before the ESI mass spectrometric analysis. For spraying procedure in the ESI MS experiments the primary CYS solution to be examined and the model systems (CYS–NAG) and (CYS–ASC) were diluted by methanol to the final 250  $\mu\text{M}$  concentration of CYS in each solution.

Note that methanol as the most appropriate solvent is recommended for standard ESI probing of biomolecules and their intermolecular interactions basing on a number of authoritative studies [13–17]. As to noncovalent intermolecular complexes of bioactive molecules, it was shown that their composition in water and methanol-based solutions is similar [17].

### Electrospray ionization mass spectrometry

ESI mass spectra of the model systems under study were obtained in the positive ion mode using triple quadrupole (QqQ) Micromass Quattro Micro mass spectrometer (Waters, Manchester, UK) equipped with the electrospray ion source. This source was operated in the standard ESI mode. The ESI source temperature was set to 120°C and the desolvation temperature was 200°C. The spraying capillary was operated at 3.5 kV. The cone voltage value of 10 V was applied. The analyzed solutions (20  $\mu\text{L}$ ) were injected into the mass spectrometer at a constant flow rate of 0.2  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$  of methanol solvent. The ESI spectra were recorded in the mass range of 100–2000 Da. Data acquisition and processing were performed using MassLynx 4.1 software (Waters, Manchester, UK).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Electrospray mass spectrometry probing of neat cycloserine solution

At the first stage of the experimental study the solution of the antibiotic CYS in methanol was investigated by ESI MS. It was established that characteristic ESI mass

spectrum of the preparation (Fig. 1) contained intensive peaks of the protonated molecule of CYS  $[\text{Cys}\cdot\text{H}]^+$  at  $m/z$  103.2, cationized molecule  $[\text{Cys}\cdot\text{Na}]^+$  at  $m/z$  125.2 and less intense peak of the protonated CYS dimer  $[2\text{Cys}\cdot\text{H}]^+$  at  $m/z$  205.4.

High quality of the obtained mass spectrum of the drug, characterized by a high signal to noise ratio, confirms the applicability of the ESI MS method for investigation of CYS containing model systems, including the systems generated for study of intermolecular interactions of CYS with biologically active molecules, as well as the effectiveness of the ESI MS for CYS identification in different biological and pharmacological samples in any clinical or technological investigations.

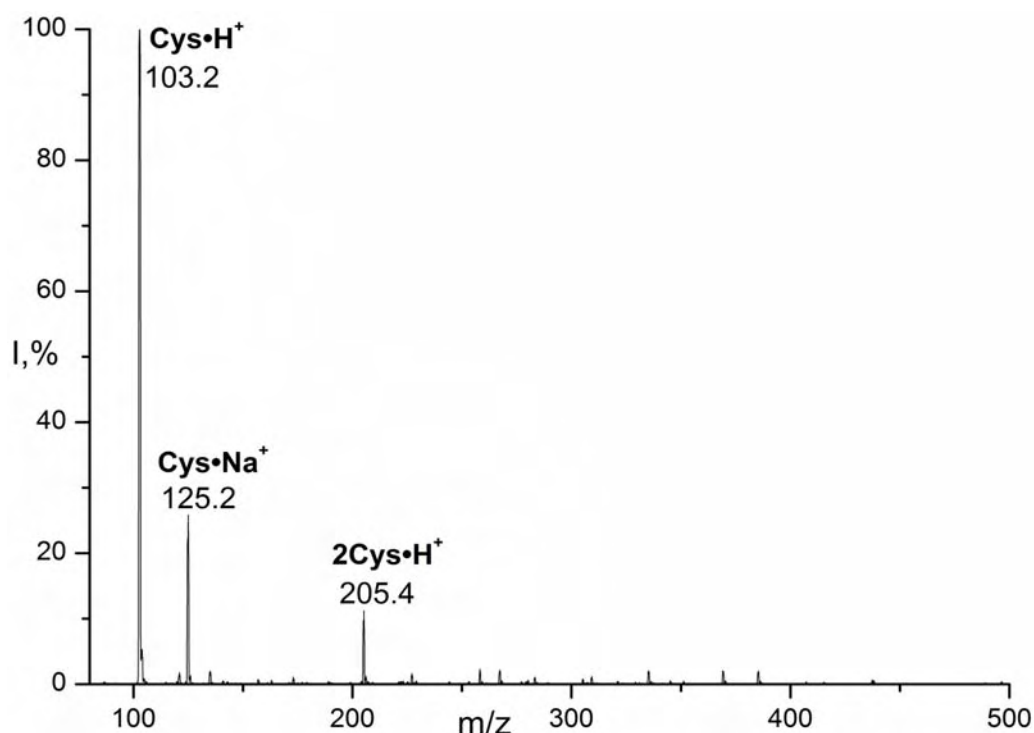


Fig. 1. ESI mass spectrum of CYS solution in methanol.

#### ***Electrospray mass spectrometric study of cycloserine-N-acetyl-D-glucosamine model system***

At the next stage, the model system of CYS with NAG (1:5 molar ratio) in methanol was probed with the purpose to examine the possibility of noncovalent complexes formation between the molecules of the system components. In the obtained ESI mass spectrum (Fig. 2) the ions characteristic of the individual components of the mixture such as:  $[\text{Cys}\cdot\text{H}]^+$  at  $m/z$  103.2,  $[\text{Cys}\cdot\text{Na}]^+$  at  $m/z$  125.2,  $[2\text{Cys}\cdot\text{H}]^+$  at  $m/z$  205.4 for CYS and  $[\text{NAG}\cdot\text{H}]^+$  at  $m/z$  222.2,  $[\text{NAG}\cdot\text{Na}]^+$  at  $m/z$  244.2,  $[2\text{NAG}\cdot\text{H}]^+$  at  $m/z$  443.4,  $[2\text{NAG}\cdot\text{Na}]^+$  at  $m/z$  465.4 for NAG; were accompanied by the peaks of protonated molecular clusters of CYS with NAG:  $[\text{Cys}\cdot\text{NAG}\cdot\text{H}]^+$  at  $m/z$  324.4 and  $[\text{Cys}\cdot 2\text{NAG}\cdot\text{H}]^+$  at  $m/z$  545.6.

Such molecular clusters recorded in the ESI mass spectrum testifies to the formation of stable noncovalent complexes between CYS and NAG in the studied model system and these complexes stability is sufficient to provide the clusters surveillance under the electrospray ionization processes. The ESI MS findings point to the possibility of noncovalent complexation of CYS with NAG in the polar media, including solutions in polar solvents like methanol or water, that model the media in biological systems. Such intermolecular interaction between the molecules of antibiotic CYS and the NAG components of bacteria

cell wall peptidoglycan is considered to be biologically significant for the process of the bacterial wall biosynthesis inhibition induced by CYS as well as can affect the drug penetration into the bacterial cell.

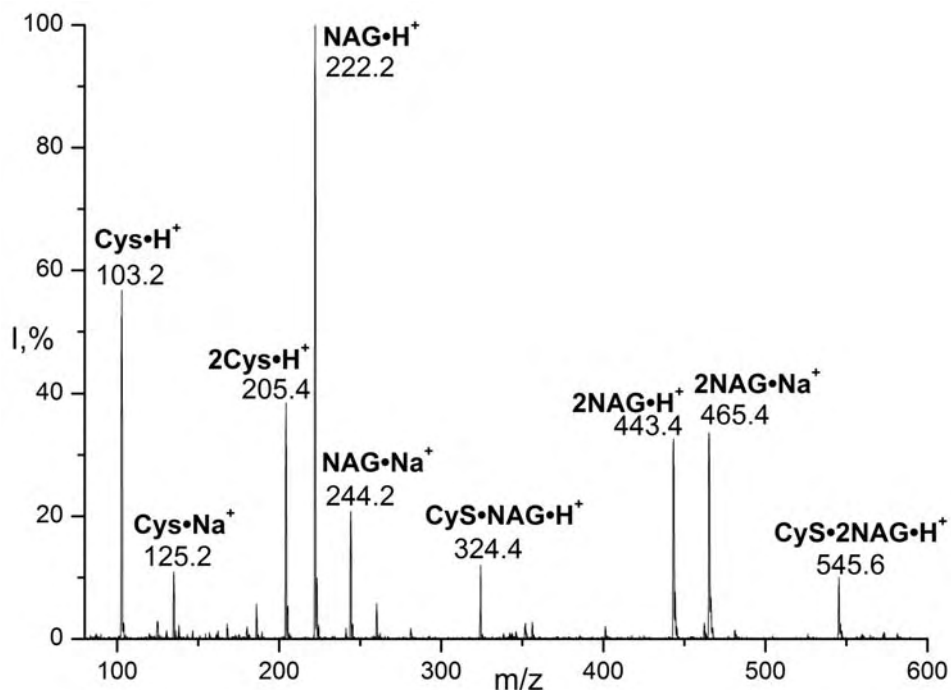


Fig. 2. ESI mass spectrum of (CYS-NAG) model system.

***Electrospray mass spectrometry study of cycloserine-ascorbic acid model system***

As the second task of this study we investigated the model system containing CYS and ASC. The obtained ESI mass spectrum of the studied system can be seen in Fig. 3.

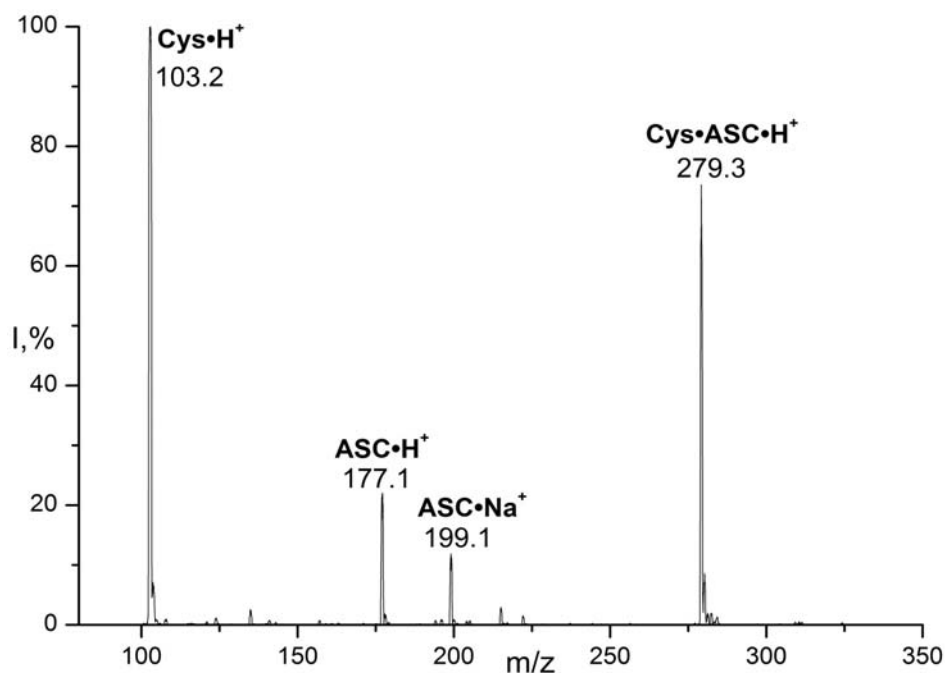


Fig. 3. ESI mass spectrum of (CYS-ASC) model system.

Similarly to the described above model system of (CYS–NAG), in the spectrum of (CYS–ASC) mixture the characteristic peaks of the system components are present:  $[\text{Cys}\cdot\text{H}]^+$  at  $m/z$  103.2 for CYS and  $[\text{ASC}\cdot\text{H}]^+$  at  $m/z$  177.1 and  $[\text{ASC}\cdot\text{Na}]^+$  at  $m/z$  199.1 for ASC. At the same time, neither cationized CYS —  $[\text{Cys}\cdot\text{Na}]^+$  nor CYS dimer —  $[\text{2Cys}\cdot\text{H}]^+$  peaks can be found in the spectrum of (CYS–ASC) system (Fig. 3), in contrast to the spectra of the neat CYS (Fig. 1) and (CYS–NAG) mixture (Fig. 2). Absence of the  $[\text{Cys}\cdot\text{Na}]^+$  ion in the presence of  $[\text{ASC}\cdot\text{Na}]^+$  ion points to the competition for the metal cation binding in favour of more acidic ascorbic acid, while the absence of CYS dimer peak in the spectrum can be connected with the change of the conditions for CYS dimerization reaction caused in the presence of ascorbic acid in the model system.

The most interesting from the biophysical point of view result is recording in the spectrum of high intensive peak of a cluster of CYS with ASC —  $[\text{Cys}\cdot\text{ASC}\cdot\text{H}]^+$ ,  $m/z$  279.3,  $I=75\%$  (Fig. 3). This peak points to the intensive process of formation of stable noncovalent complexes of CYS with ASC molecules in the polar solvent methanol.

Noncovalent complexation revealed between the molecules of cycloserine and ascorbic acid in solvents can modulate the drugs activity under their joint usage.

### CONCLUSIONS

Realization of biologically significant noncovalent complexation of antibiotic cycloserine molecules with the components of bacterial cell wall and with ascorbic acid in polar solvent is proved as the main result of the present model study by means of ESI MS.

The possibility of noncovalent clusters formation between the molecules of CYS and the main sugar component of peptidoglycan of the bacterial cell wall, N-acetyl-D-glucosamine, in polar medium is demonstrated. The intermolecular complexes formation between CYS and peptidoglycan components can play an important role in molecular mechanisms of the bacteria cell wall biosynthesis inhibiting induced by the CYS antimicrobial action.

ESI MS examining of the model system containing CYS and ASC points to the intensive process of formation of the pair noncovalent clusters of the different drugs molecules in the polar solution. Such complexation between the molecules of CYS and ASC under joint usage of the drugs by patients can modulate the individual drugs activity and should be taken into account in medical practice.

The performed mass spectrometry study also confirms the effectiveness of the ESI MS method for investigation of intermolecular interactions in cycloserine containing systems and for the drug identification in the biological and technological solutions in clinical and industrial applications.

### ACKNOWLEDGEMENTS

Authors acknowledge the Program of cooperation between Ukrainian and Hungarian Academies of Sciences for the financial support of the visits of the scientists from B. Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine to the Research Centre for Natural Sciences and the Hungarian Academy of Sciences, where the mass spectrometry experiments were carried out. We also thank Vashchenko O.V. and other colleagues from the Institute for Scintillation Materials of STC "Institute for Single Crystals" of the NAS of Ukraine for providing the cycloserine samples.

### CONFLICT OF INTERESTS

The authors declare that there is no conflict of interest.

## Authors' ORCID ID

V.A. Pashynska  <https://orcid.org/0000-0001-9786-6828>

M.V. Kosevich  <http://orcid.org/0000-0003-0257-4588>

A. Gomory  <http://orcid.org/0000-0001-5216-0135>

## REFERENCES

1. Cycloserine. [No authors listed] Tuberculosis (Edinb). 2008 Mar;88(2):100–1. [https://doi.org/10.1016/S1472-9792\(08\)70007-6](https://doi.org/10.1016/S1472-9792(08)70007-6)
2. Perri GD, Bonora S. Which agents should we use for the treatment of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*? J Antimicrob Chemother. 2004 Sep;54(3):593–602. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh377>
3. Prosser GA, de Carvalho LPS. Reinterpreting the Mechanism of Inhibition of *Mycobacterium tuberculosis* d-Alanine:d-Alanine Ligase by d-Cycloserine. Biochemistry. 2013;52(40):7145–49. <https://doi.org/10.1021/bi400839f>
4. Batson S, de Chiara C, Majce V, Lloyd AJ, Gobec S, Dean Rea, et. al. Inhibition of D-Ala:D-Ala ligase through a phosphorylated form of the antibiotic D-cycloserine. Nature Communications. 2017;8:1939. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02118-7>
5. Neuhaus FC, Lynch JL. The enzymatic synthesis of D-alanyl-D-alanine. 3. On the inhibition of D-alanyl-D-alanine synthetase by the antibiotic D-cycloserine. Biochemistry. 1964;3(4):471–80. <https://doi.org/10.1021/bi00892a001>
6. Lambert MP, Neuhaus FC. Mechanism of D-cycloserine action: alanine racemase from *Escherichia coli* W. J Bacteriol. 1972 Jun;110(3):978–87.
7. East SP, Silver LL. Multitarget ligands in antibacterial research: progress and opportunities. Expert Opin Drug Discov. 2013 Feb;8(2):143–56. <https://doi.org/10.1517/17460441.2013.743991>
8. Walsh CT, Wenczewicz TA. Prospects for new antibiotics: a molecule-centered perspective. J Antibiot. 2014 Jan;67(1):7–22. <https://doi.org/10.1038/ja.2013.49>
9. Pashynska VA, Kosevich MV, Gomory A, Vekey K. Model mass spectrometric study of competitive interactions of antimicrobial bisquaternary ammonium drugs and aspirin with membrane phospholipids. Biopolym Cell. 2013;29(2):157–62. <https://doi.org/10.7124/bc.000814>
10. Pashynska V, Stepanian S, Gomory A, Vekey K, Adamowicz L. Competing intermolecular interactions of artemisinin-type agents and aspirin with membrane phospholipids: Combined model mass spectrometry and quantum-chemical study. Chem Phys. 2015;455:81–7. <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2015.04.014>
11. Pashynska V, Stepanian S, Gomory A, Vekey K, Adamowicz L. New cardioprotective agent flokalin and its supramolecular complexes with target amino acids: An integrated mass-spectrometry and quantum-chemical study. J Mol Struct. 2017;1146:441–9. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.06.007>
12. Pashynska VA, Zholobak NM, Kosevich MV, Gomory A, Holubiev PK, Marynin AI. Study of intermolecular interactions of antiviral agent tilorone with RNA and nucleosides. Biophys Bull. 2018;39(1):15–26. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2018-39-02>
13. Cole R, editor. Electrospray and MALDI mass spectrometry: fundamentals, instrumentation, practicalities, and biological applications. 2nd edition. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.; 2010. 896 p. ISBN: 978-0-471-74107-7
14. Loo JA. Electrospray ionization mass spectrometry: a technology for studying non-covalent macromolecular complexes. Int J Mass Spectrom. 2000;200(1–3):175–86. [https://doi.org/10.1016/S1387-3806\(00\)00298-0](https://doi.org/10.1016/S1387-3806(00)00298-0)
15. Wytenbach Th, Bowers MT. Intermolecular interactions in biomolecular systems examined by mass spectrometry. Annu Rev Phys Chem. 2007;58:511–33. <https://doi.org/10.1146/annurev.physchem.58.032806.104515>
16. McCullough BJ, Gaskell SJ. Using electrospray ionisation mass spectrometry to study non-covalent interactions. Comb Chem High Throughput Screen. 2009;12(2):203–11. <https://doi.org/10.2174/138620709787315463>
17. Guevremont R, Siu KWM, Le Blanc JCY, Berman SS. Are the electrospray mass spectra of proteins related to their aqueous solution chemistry? J Am Soc Mass Spectrom. 1992 Mar;3(3):216–24. [https://doi.org/10.1016/1044-0305\(92\)87005-J](https://doi.org/10.1016/1044-0305(92)87005-J)

Original article

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-12>

УДК 577.359

## NOVEL CYANINE DYE AS COMPETITIVE LIGAND FOR PROBING THE DRUG–NUCLEIC ACID INTERACTIONS

O. Zhytniakivska<sup>1</sup>, U. Tarabara<sup>1</sup>, A. Kurutos<sup>2</sup>, A. Zabrudska<sup>1</sup>, K. Vus<sup>1</sup>, V. Trusova<sup>1</sup>,  
G. Gorbenko<sup>1</sup>, T. Deligeorgiev<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Physics and Biomedical Nanotechnologies,

V.N. Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry, Bulgarian Academy of Sciences,  
9 Acad. G. Bonchev Blvd., Sofia, 1113, Bulgaria

<sup>3</sup>Faculty of Chemistry and Pharmacy, Sofia University "St. Kliment Ohridski"

1 J. Bourchier Blvd., Sofia, 1164, Bulgaria

e-mail: [olya\\_zhitiakivska@yahoo.com](mailto:olya_zhitiakivska@yahoo.com)

Submitted October 31, 2019

Accepted January 8, 2020

**Background:** During the past decades, increasing attention has been given to elucidating the molecular details of interactions between the pharmacological agents and nucleic acids since the drug–DNA complexation may lead to impairment of DNA replication, strand breaking and mutations. A variety of techniques have been developed to characterize the drug–nucleic acid binding, among which the fluorescence dye displacement assay is one of the most informative approaches. Recently, it was demonstrated that cyanine dyes can be successfully employed for the high throughput screening of the interactions between nucleic acids and drugs. To the best of our knowledge, so far, the potential application of cyanine dyes for the drug–displacement studies remains insufficiently evaluated.

**Objectives:** The aim of the present study was to investigate the ability of a novel cyanine dye to serve as a competitor for the potential antitumor compounds, lanthanide complexes bearing europium (III) tris- $\beta$ -diketonate (EC) for the DNA and RNA binding sites.

**Materials and methods:** Calf thymus DNA, yeast RNA, trimethine cyanine dye and lanthanide complexes bearing europium (III) tris- $\beta$ -diketonate were used for sample preparation. The fluorescence data were acquired using Perkin-Elmer LS-55 spectrofluorimeter.

**Results:** Using the fluorescence spectroscopy technique we conducted the displacement reaction trimethine cyanine dye/europium coordination complexes in the presence of double stranded DNA and single-stranded RNA. An increase of the EC concentration in the systems AK3-5/DNA or AK3-5/RNA was followed by a gradual reduction in the AK3-5 fluorescence intensity, indicating that europium (III) tris- $\beta$ -diketonate compounds can serve as competitors for the trimethine cyanine dye on the nucleic acids. Both the drug chemical structure and the type of nucleic acid proved to control the extent of EC-induced decrease of AK3-5 fluorescence in the presence of the DNA or RNA.

**Conclusion:** By recruiting the potential antitumor agents europium chelate complexes as the competitive ligands for the cyanine dye for the DNA and RNA binding sites, we found that a novel trimethine compound can be effectively used in the fluorescence drug displacement assays.

**KEY WORDS:** trimethine cyanine dye; europium coordination complexes; RNA; DNA; antitumor drug; association constant.

## НОВИЙ ЦІАНІНОВИЙ БАРВНИК ЯК КОНКУРЕНТНИЙ ЛІГАНД ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОДІЙ МІЖ ЛІКАРСЬКИМИ ПРЕПАРАТАМИ ТА НУКЛЕІНОВИМИ КИСЛОТАМИ

O. Житняківська<sup>1</sup>, У. Тарабара<sup>1</sup>, А. Курутос<sup>2</sup>, А. Забрудська<sup>1</sup>, К. Вус<sup>1</sup>, В. Трусова<sup>1</sup>,  
Г. Горбенко<sup>1</sup>, Т. Делігеоргієв<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Кафедра медичної фізики та біомедичних нанотехнологій,

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, 61022, Україна

<sup>2</sup>Інститут органічної хімії та біохімії рослин, Болгарська академія наук, бульвар Академіка Г. Бончева, 9,  
Софія, 1113, Болгарія

<sup>3</sup>Факультет хімії і фармації, Софійський університет, бульвар Дж. Баучера, 1, Софія, 1164, Болгарія



**Актуальність.** Упродовж останніх десятиріч все більше уваги приділяється з'ясуванню молекулярних особливостей взаємодій між фармакологічними агентами та нуклеїновими кислотами, оскільки комплексоутворення між ДНК та лікарськими препаратами може призвести до порушення реплікації ДНК, розриву полінуклеотидних ланцюгів та мутацій. Розроблено різноманітні методи для вивчення зв'язування лікарських засобів з нуклеїновими кислотами, серед яких підхід, що базується на заміщенні флуоресцентного барвника, є одним із найбільш інформативних. Нещодавно було продемонстровано, що ціанінові барвники можуть успішно застосовуватись для дослідження взаємодій між нуклеїновими кислотами та лікарськими препаратами. Наскільки нам відомо, можливість застосування ціанінових барвників як конкурентних лігандів до цього часу залишається недостатньо вивченою.

**Мета роботи.** Метою даної роботи було дослідити здатність нового ціанінового барвника виступати конкурентом для потенційних протипухлинних сполук, комплексів лантанідів, що містять європій (III) трис- $\beta$ -дикетонат (ККС), за центри зв'язування на ДНК та РНК.

**Матеріали і методи.** Для приготування зразків використовувались ДНК тимуса теляти, дріжджова РНК, триметиновий ціаніновий барвник та комплекси лантанідів, що містять європій (III) трис- $\beta$ -дикетонат. Флуоресцентні спектри реєстрували за допомогою Perkin-Elmer LS-55 спектрофлуориметра.

**Результати.** За допомогою методу флуоресцентної спектроскопії було досліджено заміщення триметинового ціанінового зонда координаційними комплексами європію при їх зв'язуванні з подвійною спіраллю ДНК та одноланцюговою РНК. Підвищення концентрації координаційних комплексів європію в системі АК3-5/ДНК чи АК3-5/РНК супроводжувалось падінням інтенсивності флуоресценції АК3-5, вказуючи на те, що трис- $\beta$ -дикетонатні комплекси європію (III) можуть конкурувати з триметиновим ціаніновим барвником за сайти зв'язування на нуклеїнових кислотах. Припускається, що як хімічна структура лікарського препарату, так і тип нуклеїнової кислоти впливають на ступінь зменшення флуоресценції АК3-5, викликаного комплексами європію, в присутності ДНК або РНК.

**Висновки.** З використанням потенційних протипухлинних агентів, хелатів європію, як конкурентних лігандів для ціанінового барвника при асоціації цих сполук з ДНК чи РНК, було виявлено, що новий триметиновий барвник АК3-5 може ефективно використовуватись в флуоресцентних реакціях заміщення лікарських препаратів.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** триметиновий ціаніновий барвник; координаційні комплекси європію; РНК; ДНК; протипухлинний препарат; константа асоціації.

## НОВЫЙ ЦИАНИНОВЫЙ КРАСИТЕЛЬ КАК КОНКУРЕНТНЫЙ ЛИГАНД ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ МЕЖДУ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ И НУКЛЕИНОВЫМИ КИСЛОТАМИ

О. Житняковская<sup>1</sup>, У. Тарабара<sup>1</sup>, А. Куротос<sup>2</sup>, А. Забрудская<sup>1</sup>, К. Вус<sup>1</sup>, В. Трусова<sup>1</sup>,  
Г. Горбенко<sup>1</sup>, Т. Делигеоргиев<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Кафедра медицинской физики и биомедицинских нанотехнологий,

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, 61022, Украина

<sup>2</sup>Институт органической химии и Центр биохимии растений,

Болгарская академия наук, бульвар Академика Г. Бончева, 9, София, 1113, Болгария

<sup>3</sup>Факультет химии и фармации, Софийский университет, бульвар Дж. Баучера, 1, София, 1164, Болгария

**Актуальность.** В течение последних десятилетий все большее внимание уделяется выяснению молекулярных особенностей взаимодействий между фармакологическими агентами и нуклеиновыми кислотами, поскольку комплексообразование между ДНК и лекарственными препаратами может приводить к нарушению репликации ДНК, разрывам полинуклеотидных цепей и мутациям. Разработаны различные методы для изучения связывания лекарственных препаратов с нуклеиновыми кислотами, среди которых подход, который базируется на замещении флуоресцентного красителя, является одним из наиболее информативных. Недавно было продемонстрировано, что цианиновые красители могут успешно применяться для исследования взаимодействий между нуклеиновыми кислотами и лекарственными препаратами. Насколько нам известно, возможность применения цианиновых красителей как конкурентных лигандов к настоящему времени остается недостаточно изученной.

**Цель работы.** Целью данной работы была оценка возможности применения нового триметинового цианинового красителя в качестве конкурентного лиганда для потенциальных противоопухолевых препаратов, комплексы лантаноидов, содержащие трис- $\beta$ -дикетонат европия (III) (ККЕ), за центры связывания на ДНК и РНК.

**Материалы и методы.** Для приготовления образцов использовали ДНК тимуса теленка, дрожжевую РНК, триметиновий цианіновий краситель АК3-5 і комплекси лантаноїдів,

содержащие трис- $\beta$ -дикетонат европия (III). Флуоресцентные спектры были получены с помощью Perkin-Elmer LS-55 спектрофлуориметра.

**Результаты.** С помощью метода флуоресцентной спектроскопии было исследовано замещение триметинового цианинового зонда координационными комплексами европия при их связывании с двойной спиралью ДНК и одноцепочечной РНК. Повышение концентрации координационных комплексов европия в системах АКЗ-5/ДНК и АКЗ-5/РНК сопровождалось падением интенсивности флуоресценции АКЗ-5, указывая на то, что соединения трис- $\beta$ -дикетоната европия (III) могут конкурировать с АКЗ-5 за сайты связывания на нуклеиновых кислотах. Предполагается, что как химическая структура лекарственного препарата, так и тип нуклеиновой кислоты влияют на степень уменьшения флуоресценции АКЗ-5, индуцированного комплексами европия в присутствии ДНК или РНК.

**Выводы.** С использованием потенциальных противоопухолевых агентов, хелатов европия, как конкурентных лигандов для цианинового красителя при ассоциации этих соединений с ДНК или РНК, было обнаружено, что новый триметиновый краситель может эффективно использоваться в флуоресцентных реакциях замещения лекарственных препаратов.

**Ключевые слова:** триметиновый цианиновый краситель; координационный комплекс европия; противоопухолевый препарат; РНК; ДНК; константа ассоциации.

Cyanine dyes, photosensitive compounds possessing two quaternized nitrogen containing heterocyclic structures which are linked through a polymethine bridge, have found numerous applications in a variety of fields as optical imaging agents [1, 2], active ingredients in semiconducting materials [3, 4], laser dyes [5], photographic sensitizers [6, 7], photopolymerization initiators [8, 9], stains and fluorescent labels [10–13], to name only a few. These compounds are of particular interest for biomedical research and diagnostics due to their favorable spectral characteristics, namely, an intensive absorption in a broad spectral region from UV to NIR; a high sensitivity to physicochemical properties of their microenvironment; a capability to convert light energy to electricity, etc. Likewise, due to dual hydrophobic and cationic nature of cyanines, which leads to a strong interaction with polyanionic DNA duplex, cyanines have been mainly employed for sizing and purification of DNA fragments [14, 15], DNA damage detection [16], microarray-based expression analysis [17], DNA sequencing [18], staining of nucleic acids in electrophoresis [19], and as fluorescent ligands in drug displacement assay [20]. The application of cyanines for high-throughput analysis of the drug-nucleic acid interactions is of particular importance because ethidium bromide, a most widespread dye in the fluorescence drug displacement assay, is shown to be carcinogenic, mutagenic, teratogenic and toxic [21]. Since DNA and RNA represent the prime targets for various anticancer drugs and antibiotics [22, 23], the fluorescence drug displacement assay seems to be an especially promising tool in clarifying the mechanisms underlying the interactions between nucleic acids and drugs.

To the best of our knowledge, the cyanine dyes have not yet found a wide application in the drug-displacement studies. To exemplify, Achyuthan et al. [20] have demonstrated that the supramolecular self-assembling cyanine dye may serve as an alternative to the mutagenic ethidium bromide in probing the DNA-drug interactions. To fill this gap, herein we directed our efforts towards assessing the applicability of a novel trimethine cyanine dye as a competitor to the potential antitumor compounds, europium chelates for the DNA and RNA binding sites. The choice of Eu(III) tris- $\beta$ -diketonato coordination complexes as the model drugs was dictated by the fact that these agents have been reported to exert a cytotoxic effect against different tumor cell lines whereas the DNA-intercalating motifs in the structure of europium complexes is a key to the augmentation of their cytotoxicity [23].

## MATERIALS AND METHODS

Calf thymus DNA and yeast RNA were from Sigma (Sigma, St. Louis, MO, USA). Trimethine cyanine dye [24] and Eu(III) coordination complexes [23] denoted here as V5, V7, V9 and V10 were synthesized in the University of Sofia, Bulgaria, as described

previously (Fig. 1). All other materials and solvents were commercial products of analytical grade and were used without further purification.

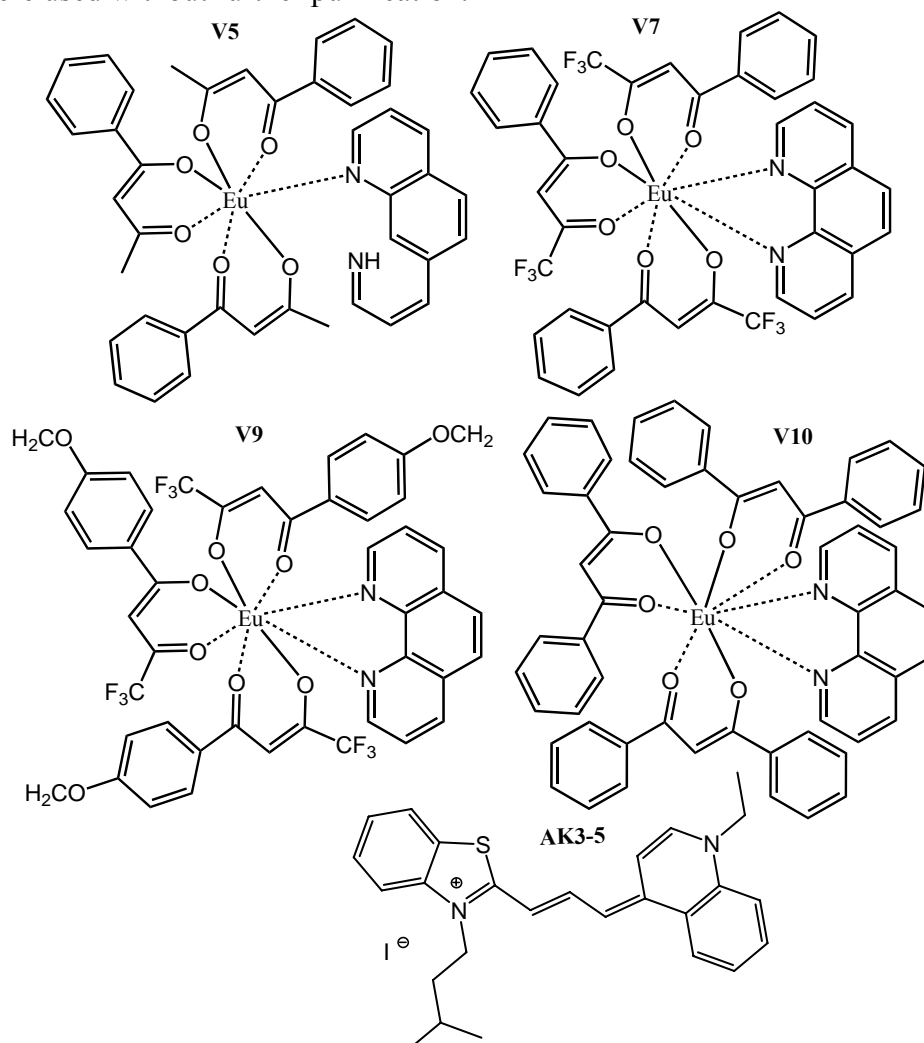


Fig.1. Structures of the cyanine dye AK3-5 and europium coordination complexes V5, V7, V9 and V10.

The stock solutions of the cyanine dye and Eu(III) coordination complexes were prepared by dissolving the compounds in dimethyl sulfoxide, while the calf thymus DNA and yeast RNA were dissolved in 5 mM sodium phosphate buffer (pH 7.4). The concentrations of the dye, EC complexes and nucleic acids were determined spectrophotometrically using their molar extinction coefficients:  $\epsilon_{631}^{AK3-5} = 1.5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ,  $\epsilon_{266}^{V5} = 2.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ,  $\epsilon_{266}^{V7} = 2.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ,  $\epsilon_{271}^{V9} = 3.4 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ,  $\epsilon_{267}^{V10} = 3.4 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ,  $\epsilon_{260}^{DNA} = 6.6 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  and  $\epsilon_{260}^{RNA} = 6.9 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

The fluorescence data were acquired using Perkin-Elmer LS-55 spectrofluorimeter equipped with 10 mm quartz cuvettes at 20°C. The measurements were carried out in 5 mM sodium phosphate buffer (pH 7.4) within the range 620–800 nm upon excitation at 600 nm. The excitation and emission slit widths were set at 10 nm.

The dye-nucleic acid binding was analyzed using the McGhee-von Hippel formalism for non-cooperative ligand binding to a one-dimensional lattice [25]:

$$\frac{B}{F} = K_a P \left( 1 - \frac{nB}{P} \right) \left[ \frac{1 - (nB/P)}{1 - (n-1)(nB/P)} \right]^{n-1}, \quad (1)$$

where  $B$  and  $F$  are the concentrations of the bound and free dye, respectively,  $P$  is the total phosphate concentration,  $K_a$  is the association constant and  $n$  represents the site exclusion parameter (i.e. the number of base pairs excluded by the binding of a single ligand molecule). The values of  $K_a$  and  $n$  were estimated using the nonlinear least-square fitting procedure.

The competition between the cyanine dye and EC complexes for the binding sites on the DNA or RNA matrices was analyzed in terms of the model proposed by Gaugain et al. [26]. In the ternary systems nucleic acid–cyanine dye–EC, the concentration of the bound dye ( $B_{dye}$ ) was calculated by the numerical solution of the system of two equations:

$$\frac{B_{dye}}{(Z_{dye} - B_{dye})} = \frac{K_{dye} [P - n_{dye} B_{dye} - n_{drug} B_{drug}]^{n_{dye}}}{[P - (n_{dye} - 1) B_{dye} - (n_{drug} - 1) B_{drug}]^{n_{dye} - 1}}, \quad (2)$$

$$\frac{B_{drug}}{(Z_{drug} - B_{drug})} = \frac{K_{drug} [P - n_{dye} B_{dye} - n_{drug} B_{drug}]^{n_{drug}}}{[P - (n_{dye} - 1) B_{dye} - (n_{drug} - 1) B_{drug}]^{n_{drug} - 1}}$$

where  $K_{dye}$ ,  $n_{dye}$  are the association constant and stoichiometry of the dye–nucleic binding found in the absence of a drug;  $Z_{dye}$ ,  $Z_{drug}$  are the total concentrations of the dye and EC, respectively;  $K_{drug}$ ,  $n_{drug}$  are the association constant and stoichiometry of the drug–nucleic complexation. The experimental dependencies of the EC-induced decrease of the dye fluorescence  $\Delta I^{exp}(Z_{drug})$  were approximated by the following expression:

$$\Delta I^{calc} = (a_{bound} - a_{free})(B_0 - B_{dye}) = F_{mol}(B_0 - B_{dye}), \quad (3)$$

where  $B_0$  and  $B_{dye}$  are the concentrations of the bound dye in the absence and presence of a drug, respectively,  $F_{mol} = (a_{bound} - a_{free})$  is a coefficient proportional to the difference of the dye quantum yields in buffer and when bound to macromolecule.

## RESULTS AND DISCUSSION

In general, to explore the drug–nucleic acid interactions, the fluorescence displacement assays can be carried out in two ways: *i*) a drug associated with DNA or RNA is then displaced by a dye; and *ii*) a dye bound to nucleic acid is dislodged by a drug [20]. Reasoning from the ability of the examined cyanine dye to respond to nucleic acid complexation by a marked fluorescence increase, we conducted our measurements using the latter of the above approaches. The first step of the study was aimed at quantifying the binding of the novel cyanine dye AK3-5 to DNA and RNA. More specifically, the following questions have been addressed: *i*) what are the binding mode and the parameters of the dye association with nucleic acids; *ii*) is the cyanine dye capable of distinguishing between a double stranded DNA and a single stranded RNA structures. To this end, we performed a series of the fluorimetric titrations of AK3-5 with nucleic acids. The typical fluorescence spectra of this dye in the DNA- and RNA-containing systems are presented in Fig. 2 A. The examined cyanine dye was found to have a negligible fluorescence in the buffer solution, in the absence of nucleic acids. Such a dramatic fluorescence reduction of cyanine dyes is explained by their rapid deactivation from the singlet excited state as a result of rotation around the doublebond joining the benzothiazole and quinoline rings [16]. As seen from Fig. 2 A, the fluorescence intensity drastically increases upon the AK3-5–nucleic acid complexation because of the restricted motional freedom of the dye on the nucleic acid matrix leading to the energy dissipation via fluorescence [16]. It appeared that the enhancement of AK3-5 fluorescence is

significantly stronger on the dye binding to DNA, compared to RNA, whereas the dye emission maximum in the presence of RNA is bathochromically shifted by  $\sim 10$  nm compared to that of dsDNA. This finding can be used to differentiate between DNA and RNA in solution. Despite a long-standing tradition of the use of cyanine dyes in the nucleic acid studies, only a few cyanines are capable of distinguishing between DNA and RNA [27, 28].

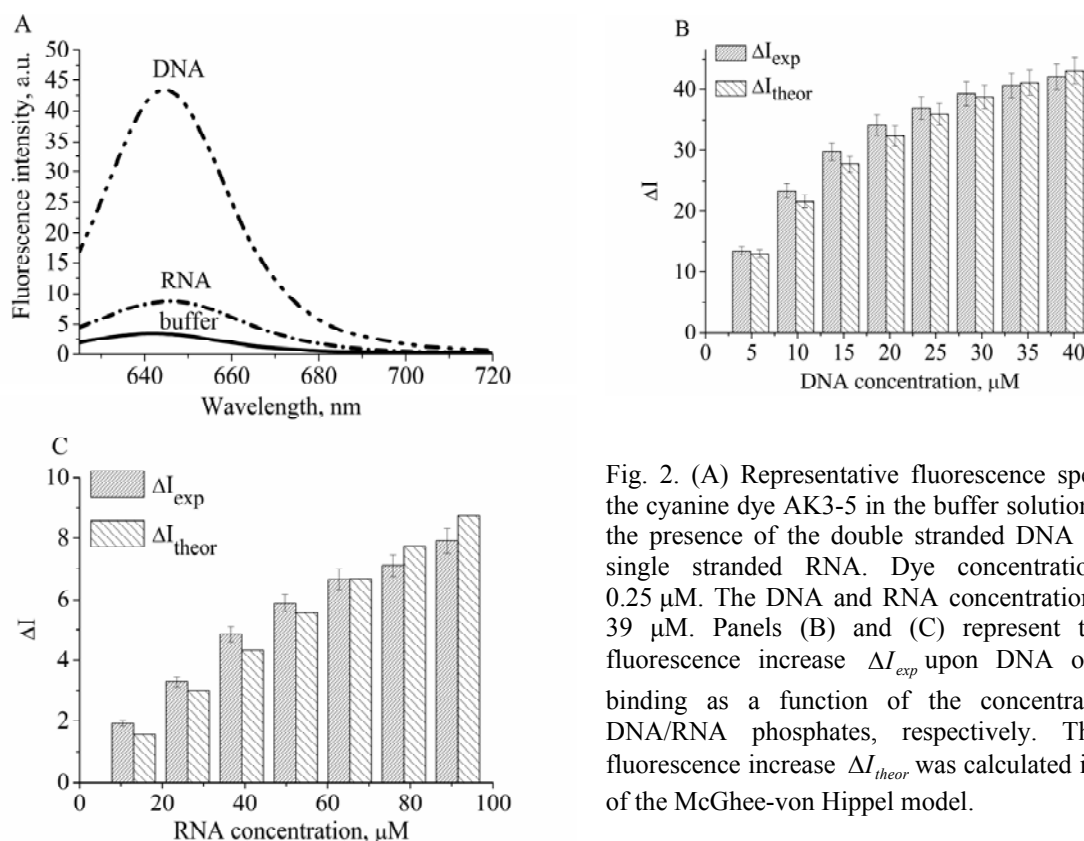


Fig. 2. (A) Representative fluorescence spectra of the cyanine dye AK3-5 in the buffer solution and in the presence of the double stranded DNA and the single stranded RNA. Dye concentration was  $0.25 \mu\text{M}$ . The DNA and RNA concentrations were  $39 \mu\text{M}$ . Panels (B) and (C) represent the dye fluorescence increase  $\Delta I_{\text{exp}}$  upon DNA or RNA binding as a function of the concentration of DNA/RNA phosphates, respectively. The dye fluorescence increase  $\Delta I_{\text{theor}}$  was calculated in terms of the McGhee-von Hippel model.

Next, the binding parameters and the underlying binding mechanisms were obtained from the fluorescence titration data. The experimental dependencies of the dye fluorescence increase upon DNA or RNA binding ( $\Delta I$ ) as a function of phosphate concentration are presented in Fig. 2 B and C, respectively. These dependencies were analyzed in terms of the non-cooperative McGhee & von Hippel model (Eq. (1)) [25]. The association constants for the dye-DNA and the dye-RNA complexes were found to be  $(5.1 \pm 1.1) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ,  $(3 \pm 0.6) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ , respectively, while the site exclusion parameters were equal to 2 for both systems. Based on the analysis of the available information [12, 14, 16] on the nucleic acid interactions of intercalating agents the following two tendencies can be highlighted: *i*) the highest possible dye-base pair ratio is 1:2, since, according to the principle of the nearest neighbor exclusion, the binding of one intercalating molecule between the two base pairs hinders the access of the next binding site to another intercalator [12, 14, 16, 29]; *ii*) the association constants for intercalators do not exceed  $10^5 \text{ M}^{-1}$  [12, 14, 16]. Allowing for the fact that the association constants and the neighbor exclusion parameters recovered here for the novel trimethine dye under study in the presence of the double stranded DNA and single stranded RNA are in accordance with those observed for typical intercalators, we assumed that the examined dyes associate with nucleic acids via intercalating binding mode. Importantly, despite the fact that the calculated thermodynamic parameters of the AK3-5 in

the RNA-containing systems are similar to those of typical intercalators, one cannot exclude the possibility of a “partial” intercalation of AK3-5 between the RNA bases [30, 31].

Recently we demonstrated that the cyanine dye AK3-5 can be employed in the fluorescence displacement assay [29]. Specifically, we have evaluated the ability of the potential pharmacological agents, Eu(III) tris- $\beta$ -diketonate to coordination complexes to dislodge the AK3-5 dye bound to the double stranded DNA [29]. In a continuation of our interest in fluorescent dyes suitable for the drug displacement analysis on the nucleic acid, herein we directed our efforts towards investigation of the ability of a novel cyanine dye AK3-5 to serve as a competitor for europium coordination complexes for DNA and RNA binding sites. Importantly, for the quantitative analysis of the AK3-5 displacement assays it was reasonable to collect the multiple data sets. Therefore, we performed the competitive binding experiments under conditions of simultaneous varying the concentrations of EC and nucleic acids. The plots of the fluorescence intensity decrease vs EC concentration are presented in Fig. 3.

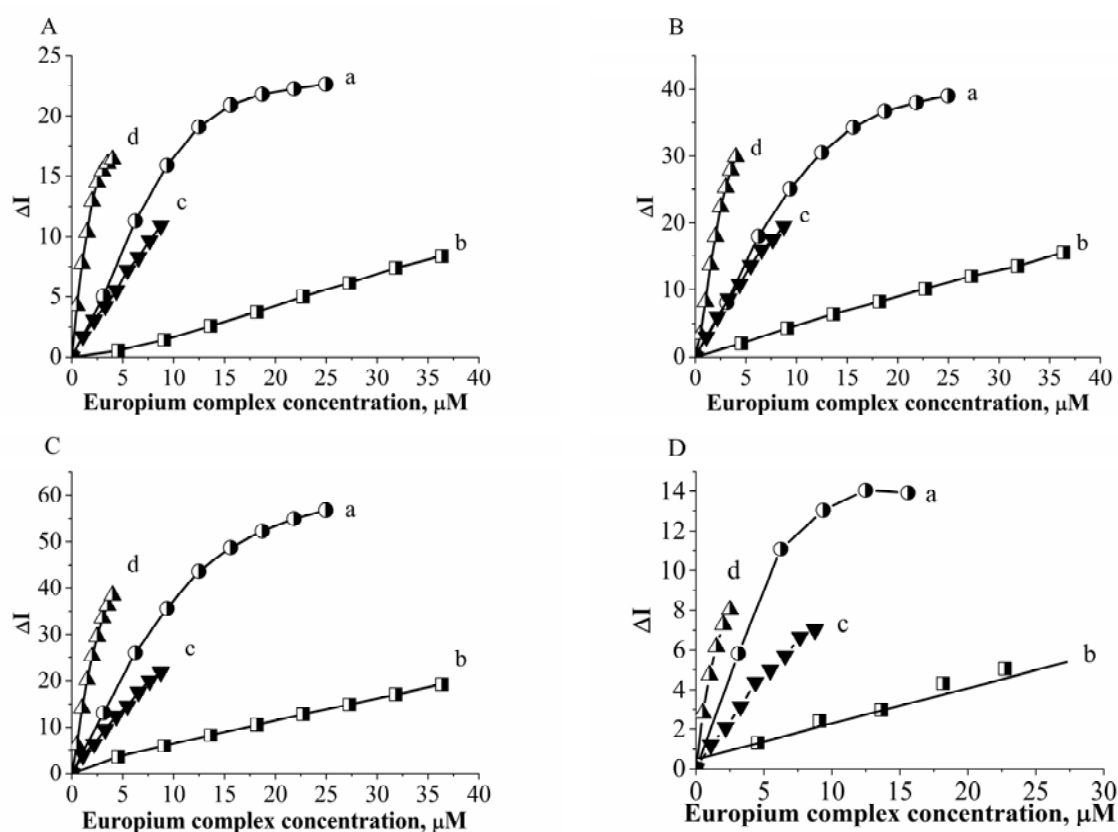


Fig. 3. The fluorescence intensity decreases of AK3-5-DNA (A-C) and AK3-5-RNA (D) complexes in the presence of the increasing concentrations of europium complexes V5(a), V7(b), V9(c), V10 (d). The concentrations of DNA were 9.3  $\mu\text{M}$  (A), 27.9  $\mu\text{M}$  (B), 46.5  $\mu\text{M}$  (C), respectively. The RNA concentration was 24.5  $\mu\text{M}$ . The concentration of AK3-5 was 0.25  $\mu\text{M}$ .

However, due to a significantly smaller binding affinity of AK3-5 to the single stranded RNA, no significant fluorescence decrease was observed at RNA concentrations lower than 25  $\mu\text{M}$  (Fig. 3 D). As seen in Fig. 3, Eu(III) coordination complexes produced a dose-dependent fluorescence decrease reflecting the competition between the cyanine dye and EC for the binding sites on DNA or RNA. Notably, the magnitude of the fluorescence intensity decrease in the RNA-containing systems, similarly to the DNA-containing systems, was more

pronounced for V5 and V10 compared to other europium complexes under study [29]. Next, the dependencies of the AK3-5 fluorescence decrease with increasing concentration of europium complexes were analyzed in terms of the competition model proposed by Gaugain et al. (Eqs. 2, 3) to obtain the association constants of the drug binding to DNA or RNA [26, 29]. The calculated values of this parameter were estimated to be  $(1.8 \pm 0.4) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  and  $(5 \pm 1.1) \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  for V7 and V9, respectively, regardless of the DNA concentration in the tested sample. However, in line with our previous results [29], the values of the binding parameters for the europium complexes V5 and V10 in the DNA-containing system were unrealistic. The above finding most probably stems from: *i*) the quenching of the AK3-5 fluorescence by V5 and V10, accompanying the competition between the dye and EC for the DNA binding sites; and *ii*) the limitations of the competition model [26] in describing the complex nature of interactions between europium complexes, AK3-5 and DNA. Moreover, we obtained inappropriate association constants for all EC under study in the presence of single stranded RNA, which, most likely, may be related with the low binding affinity of the europium coordination complexes to the RNA. To the best of our knowledge, the exact mechanisms and EC binding mode to the single stranded nucleic acids are still unclear. Therefore, further studies are needed.

## CONCLUSIONS

In conclusion, by recruiting the potential antitumor europium chelate complexes as the competitive ligands for the cyanine dye associating with DNA or d RNA, we found that the novel trimethine compound AK3-5 can be effectively used in the fluorescence drug displacement assays. Both the drug chemical structure and the type of nucleic acid seem to control the extent of EC-induced reduction of AK3-5 fluorescence in the presence of the DNA or RNA.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the Ministry of Education and Science of Ukraine (the Young Scientist project № 0117U004966 “Nano- and microsized liophilic and liophilized self-associated systems: application in modern technologies and biomedicine”) and by the President’s of Ukraine grant No 0118U002284 from the State Fund for Fundamental Research of Ukraine “Development of novel anti-amyloid strategies by high-throughput screening of inhibitors of pathological protein aggregation”.

## CONFLICT OF INTEREST

The authors report that there is no conflict of interest.

### Authors’ ORCID ID

Olga Zhytniakivska  <https://orcid.org/0000-0002-2068-5823>

Uliana Tarabara  <https://orcid.org/0000-0002-7677-0779>

Atanas Kurutos  <https://orcid.org/0000-0002-6847-198X>

Anna Zabrudska  <https://orcid.org/0000-0002-3611-8188>

Kateryna Vus  <http://orcid.org/0000-0003-4738-4016>

Valeriya Trusova  <https://orcid.org/0000-0002-7087-071X>

Galyna Gorbenko  <http://orcid.org/0000-0002-0954-5053>

## REFERENCES

1. Pauli J, Vag T, Haag R, Spieles M, Wenzel M, Kaiser W, et al. An in vitro characterization study of new near infrared dyes for molecular imaging. *Eur J Med Chem.* 2009;44:3496–503. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.01.019>



2. Ebert B, Sukowski U, Riefke B, Licha K. Cyanine dyes as contrast agents for near-infrared imaging *in vivo*: acute tolerance, pharmacokinetics and fluorescence imaging. *J Biomed Opt.* 2011;16(6):060030–39. <https://doi.org/10.1117/1.3585678>
3. Lidzey D, Bradley D, Virgili T, Armitage A, Skolnick H, Walker S. Room temperature polariton emission from strongly coupled organic semiconductor microcavities. *Phys Rev Lett.* 1999;82(16):3316–9. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.82.3316>
4. Jenatsch S, Geiger T, Heier J, Kirsch C, Nuesch F, Paracchino A, et al. Influence of chemically p-type doped active organic semiconductor on the film thickness versus performance trend in cyanine/C<sub>60</sub> bilayer solar cells. *Sci Technol Adv Mater.* 2015;16:035003. <https://doi.org/10.1088/1468-6996/16/3/035003>
5. Czerney P, Graneß G, Birckner E, Vollmer F, Rettig W. Molecular engineering of cyanine-type fluorescent and laser dyes. *J Photochem Photobiol A: Chem.* 1995;89:31–6. [https://doi.org/10.1016/1010-6030\(94\)04018-W](https://doi.org/10.1016/1010-6030(94)04018-W)
6. Castro F, Faes A, Geiger T, Graeff C, Nagel M, Nuesch F, Hany R. On the use of cyanine dyes as low-bandgap materials in bulk heterojunction photovoltaic devices. *Synthetic Metals.* 2006;156:973–8. <https://doi.org/10.1016/j.synthmet.2006.06.010>
7. Wu W, Hua J, Jin Yi, Zhan W, Tian H. Photovoltaic properties of tree new cyanine dyes for dye-sensitized solar cells. *Photochem Photobiol Sci.* 2008;7:63–8. <https://doi.org/10.1039/b712439b>
8. Chatterju S, Gottschalk P, Davis P, Schuster G. Electron-transfer reactions in cyanine borate ion pairs: photopolymerization initiators sensitive to visible light. *J Am Chem Soc.* 1988;110(7):2326–8. <https://doi.org/10.1021/ja00215a067>
9. Kobac Ja, Zasada M, Paczkowski J. Photopolymerization reaction initiated by a visible light photoinitiating system: cyanine dye/borate salt/1,3,5,-triazine. *J Polym Sci Part A: Polym Chem.* 2007; 45(16):3626–36. <https://doi.org/10.1002/pola.22112>
10. Markova L, Malinovskii V, Patsenker L, Häner R. J- vs. H-type assembly: penthamethine cyanine (Cy5) as a near-IR chiroptical reporter. *Chem Commun.* 2013;49:5298–300. <https://doi.org/10.1039/C3CC42103A>
11. Nanjunda R, Owens E, Mickelson L, Dost T, Stroevea K, Huynh H, Germann M, Henary M, Wilson W. Selective G-Quadruplex DNA recognition by a new class of desined cyanines. *Molecules.* 2013;18:13588–607. <https://doi.org/10.3390/molecules181113588>
12. Kaloyanova S, Trusova V, Gorbenko G, Deligeorgiev T. Synthesis and fluorescence characterization of novel asymmetric cyanine dyes for DNA detection. *J Photochem Photobiol A.* 2011;217:147–56. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2010.10.002>
13. Guralchuk G, Sorokin A, Katrunov I, Yefimova S, Lebedenko A, Malyukin Yu, Yarmoluk S. Specificity of cyanine dye L-21 aggregation in solution with nucleic acids. *J Fluoresc.* 2007;17:370–6. <https://doi.org/10.1007/s10895-007-0201-5>
14. Rye H, Yue S, Wemmer D, Quesada M, Haugland P, Mathies R, Glazer A. Stable fluorescent complexes of double-stranded DNA with bis-intercalating asymmetric cyanine dyes: properties and applications. *Nucleic Acid Res.* 1992;20(11):2803–12. <https://doi.org/10.1093/nar/20.11.2803>
15. Yan X, Grace W, Yoshida T, Habbersett R, Velappan N, Jett J, Keller R, Marrone B. Characteristics of different nucleic acid staining dyes for DNA fragment sizing by flow cytometry. *Anal Chem.* 1999;71(24):5470–80. <https://doi.org/10.1021/ac990780y>
16. Armitage B. Cyanine dye-DNA interactions: intercalation, groove binding, and aggregation. In: Waring MJ, Chaires JB., editors. *Topics in Current Chemistry*, Vol. 253. DNA Binders and Related Subjects. Berlin, Heidelberg: Springer; 2005: p. 55–76. <https://doi.org/10.1007/b100442>
17. Kricka L Stains, labels and detection strategies for nucleic acids assays. *Ann Clin Biochem.* 2002;39(2):114–129. <https://doi.org/10.1258/0004563021901865>
18. Biver T, Boggioni A, Secco F, Turriani E, Venturini S, Yarmoluk S. Influence of cyanine dye structure on self-aggregation and interaction with nucleic acids: A kinetic approach to TO and BO binding. *Arch Biochem Biophys.* 2007;465:90–100. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2007.04.034>
19. Kurutos A, Ryzhova O, Trusova V, Tarabara U, Gorbenko G, Gadjev N, Deligeorgiev T. Novel asymmetric monomethine cyanine dyes derived from sulfobetaine benzothiazolium moiety as potential fluorescent dyes for non-covalent labeling of DNA. *Dyes and Pigments.* 2016;130:122–8. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2016.03.021>
20. Achyuthan K, Whitten D, Branch D. Supramolecular self-assembling cyanine as an alternative to ethidium bromide displacement in DNA-drug model interactions during high throughput screening. *Anal Sci.* 2010;26:55–61. <https://doi.org/10.2116/analsci.26.55>
21. Cerutti P. Prooxidant states and tumor promotion. *Science.* 1985;227:375–81. <https://doi.org/10.1126/science.2981433>

22. Cui S, Ren Y, Zhang S, Peng X, Damu G, Geng R, Zhou C. Synthesis and biological evaluation of a class of quinolone triazoles as potential antimicrobial agents and their interactions with calf thymus DNA. *Bioorg Med Chem Lett*. 2013;23:3267–3272. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.03.118>
23. Momekov G, Deligeorgiev T, Vasilev A, Peneva K, Konstantinov S, Karaivanova M. Evaluation of the cytotoxic and pro-apoptotic activities of Eu(III) complexes with appended DNA intercalators in a panel of human malignant cell lines. *Med Chem*. 2006;2:439–45. <https://doi.org/10.2174/157340606778250234>
24. Kurutos A, Crnolatac I, Orehovec I, Gadjev N, Piantanida I, Deligeorgiev T. Novel synthetic approach to asymmetric monocationic trimethine cyanine dyes derived from N-ethyl quinolinium moiety. Combined fluorescent and ICD probes for AT-DNA labeling. *J Luminescence*. 2016;174:70–6. <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2016.01.035>
25. Petty J, Bordelon M, Robertson M. Thermodynamic characterization of the association of cyanine dyes with DNA. *J Phys Chem B*. 2000;104(30):7221–7. <https://doi.org/10.1021/jp000916s>
26. Gaugain B, Barbet J, Capelle N, Roques B, Le Pecq J, Le Bret M. DNA bifunctional intercalators. 2. Fluorescence properties and DNA binding interaction of an ethidium homodimer and an acridine ethidium heterodimer. Appendix: Numerical solution of McGhee and von Hippel equations for competing ligands. *Biochemistry*. 1978;17(24):5078–88. <https://doi.org/10.1021/bi00617a002>
27. Li Z, Sun S, Yang Z, Zang S, Zan H, Hu M, et al. The use of a near-infrared RNA fluorescent probe with a large Stokes shift for imaging living cells assisted by the macrocyclic molecule CB7. *Biomaterials*. 2013;34:6473–81. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.05.020>
28. Lu Y, Deng Q, Hu D, Wang Z, Huang B, Du Z, et al. A molecular fluorescent dye for specific staining and imaging of RNA in live cells: a novel ligand integration from classical thiazole orange and styryl compounds. *Chem Comm*. 2015;51:15241–4. <https://doi.org/10.1039/C5CC05551B>
29. Zhytniakivska O, Zabrudska A, Tarabara U, Vus K, Trusova V, Gorbenko G, et al. Competitive binding of novel cyanine dye AK3-5 and europium coordination complexes to DNA. *East Eur J Phys*. 2019;3:63–70. <https://doi.org/10.26565/2312-4334-2019-3-08>
30. Kapuscinski J, Darzynkiewicz Z, Melamed M. Interactions of acridine orange with nucleic acids: Properties of complexes of acridine orange with single stranded ribonucleic acid. *Biochem Pharmacol*. 1983;32:3679–94. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(83\)90136-3](https://doi.org/10.1016/0006-2952(83)90136-3)
31. Islam M, Pandya P, Chowdhury S, Kumar S, Kumar G. Binding of DNA-binding alkaloids berberine and palmatine to tRNA and comparison to ethidium: spectroscopic and molecular modeling studies. *J Mol Struct*. 2008;891:498–507. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2008.04.043>



Original article

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-13>

УДК 577.3

## ГИПОТЕЗА УОТСОНА-КРИКА О РЕДКОЙ ТАУТОМЕРНОЙ МУТАЦИИ И РЕАЛЬНОСТЬ

**Е.С. Крячко***Институт теоретической физики им. Н.Н. Боголюбова НАН Украины,  
ул. Метрологическая, 14-б, Киев, 03143, Украина**e-mail: e\_kryachko@yahoo.com*

Поступила в редакцию 23 декабря 2019 г.

Принята 22 мая 2020 г.

**Актуальность.** В своей основополагающей работе в *Nature* (*Nature*. 1953;171:737), Уотсон и Крик отметили, что структура ДНК допускает т.н. таутомерную модель спонтанных точечных мутаций. Настоящая работа, доложенная на конференции «Нанобиофизика-2019» (Киев) как пленарный доклад, есть, по сути, попытка ответить на такие вопросы: (i) «Да, таутомеризм оснований является вполне привлекательной моделью, но насколько она важна в мутагенезе?», вопрос поставленный Морганом (*Morgan AR. Trends Biochem. Sci.* 1993;18:160–163); (ii) Какую реальность описывает модель редкой таутомерной мутации? В настоящей работе в качестве структуры выбрана уотсон-криковская пара  $[A\cdot T]_{WC}$ . Развивая предложенную ранее модель образования мутаций в паре  $[A\cdot T]_{WC}$  вследствие сдвига оснований в паре относительно друг друга и переключения внутри-парных водородных связей (*Kryachko ES, Sabin JR. Int. J. Quantum Chem.* 2003;91:695–710), показано, что некоторые результирующие мутации обладают достаточно высоким (в  $\sim 1,7$  раз) сродством к электрону по сравнению с канонической парой, что, несомненно, представляет интерес в свете многочисленных явлений, связанных с переносом заряда и присоединением электрона к ДНК.

**Цель работы** — ответить на вопросы, поднятые в **Актуальности**, и показать реалистичность таутомерной модели мутации, модифицированной в настоящей работе на примере уотсон-криковской пары  $[A\cdot T]_{WC}$  и названной моделью *парной таутомерии*.

**Материалы и методы.** Основной метод — компьютерное моделирование, основанное на методе функционала плотности. Все расчеты были проведены с использованием пакета программ GAUSSIAN методом функционала плотности Бекке-Ли-Янга-Парра (Becke-Lee-Yang-Parr), V3LYP.

**Результаты.** В работе показано существование и стабильность *парной таутомерной мутации* в паре аденин–тимин и исследовано, к каким неоднозначным (wobble) парам она может приводить. Также показано, что в силу специфики строения *парной таутомерной мутации* пары аденин–тимин, мутация обладает большим электронным сродством по сравнению с породившей ее парой и тем самым может быть наблюдаема в реальности, и посредством ее можно объяснить ряд явлений переноса заряда в ДНК, что, опять же, подчеркивает ее реальность.

**Выводы.** С одной стороны, предложено обобщение таутомерной гипотезы Уотсона-Крика, получившее в данной работе, конкретно для пары аденин-тимин, название парной таутомерной мутации. Данная мутация относится к дипольно-связывающим-электрон системам, что подразумевает их высокое адиабатическое сродство к электрону. Последнее, с другой стороны, подчеркивает реалистичность предложенной мутационной модели и ее возможное применение к объяснению явлений переноса заряда в ДНК и процессов присоединения электрона к ДНК.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** ДНК; мутация; таутомерная модель Уотсона-Крика мутаций в ДНК; дипольно-связанный электрон; адиабатическое электронное сродство; модель парной таутомерии.

### THE WATSON-CRICK RARE TAUTOMER HYPOTHESIS OF MUTATIONS AND REALITY

**E.S. Kryachko***Bogolyubov Institute for Theoretical Physics, 14-b Metrolohichna Str., Kiev, 03143, Ukraine*

**Background:** In their *Nature's* seminal work (*Nature*. 1953;171:737), J.D. Watson and F.H.C. Crick noted that the structure of DNA admits a so-called tautomeric model of spontaneous point mutations. This

work reported at the conference "Nanobiophysics-2019" (Kiev) as a plenary report, is actually an attempt to answer the following questions: (i) "Yes, the tautomerism of the bases is a very attractive model, but how important is it in mutagenesis?" by Morgan (*Morgan AR. Trends Biochem. Sci. 1993;18:160–163*); (ii) What reality does the rare tautomeric mutation model describe? The structure  $[A\cdot T]_{WC}$  was selected in the work. Developing the previously proposed mutation model of the Watson-Crick pair  $[A\cdot T]_{WC}$  due to the shift of the bases in the pair relative to each other and the interconnection hydrogen bonds (*Kryachko ES, Sabin JR. Int. J. Quantum Chem. 2003;91:695–710*), it is shown that some resultant structures possess the electron affinity that is 1.7 times higher compared to the canonical pair, which is definitely of interest in the view of the numerous phenomena associated with a charge transfer in and attachment of an electron to DNA.

**Objectives:** Answer the questions raised in the **Background**, and show the realism of the tautomeric  $[A\cdot T]_{WC}$ -mutation model modified in the present work on the example of the Watson-Crick pair  $[A\cdot T]_{WC}$  that is dubbed as a pair-tautomerism model.

**Materials and Methods:** The key method is a computer simulation based on the density functional method. All calculations performed in the present work use the package of programs GAUSSIAN with the density functional method invoking the Becke-Lee-Yang-Parr density functional, B3LYP.

**Results:** The paper shows the existence and stability of paired tautomeric mutations in a pair of adenine-thymine and investigates to what wobble pairs it can lead. It is also shown that, due to the specific structure of the paired tautomeric mutation of the adenine-thymine pair, the mutation possesses a larger electronic affinity in comparison with the pair that it generates, and thus can be observed in reality and through it one can explain a number of phenomena of charge transfer in DNA, which, again, emphasizes its reality.

**Conclusions:** On the one hand, a generalization of the Watson-Crick tautomeric hypothesis, proposed in this work, specifically for the adenine-thymine pair, the name of the paired tautomeric mutation. This mutation refers to dipole-binding-electron systems, which implies their high adiabatic electron affinity. The latter, on the other hand, emphasizes the realism of the proposed mutational model and its possible application to the explanation of the phenomena of charge transfer in DNA and the processes of attachment electron to DNA.

**KEYWORDS:** DNA; mutation; Watson-Crick tautomeric model of DNA mutations; dipole-bound electron; adiabatic electron affinity; pair-tautomerism model.

## ГІПОТЕЗА УОТСОНА-КРІКА ПРО РІДКІШНУ ТАУТОМЕРНУ МУТАЦІЮ І РЕАЛЬНІСТЬ

Е.С. Крячко

*Інститут теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова НАН України,  
вул. Метрологічна, 14-б, Київ, 03143, Україна*

**Актуальність.** У своїй основоположній статті у *Nature* (*Nature. 1953;171:737*) Дж. Д. Уотсон та Ф.Н.С. Крик зазначили, що структура ДНК допускає так звану таутомерну модель спонтанних точкових мутацій. Дана робота, викладена на конференції "Нанобіофізика-2019" (Київ) як пленарна доповідь, є, по суті, спробою відповідати на такі питання: (i) "Так, таутомеризм основ є цілком привабливою моделлю, але наскільки вона важлива в мутагенезі?", поставлений Морганом (*Morgan AR. Trends Biochem. Sci. 1993;18:160–163*); (ii) Яку реальність описує модель рідкісної таутомерної мутації? У даній роботі на прикладі структури уотсон-криковської пари  $[A\cdot T]_{WC}$  використана більш рання модель мутацій, спричинених зсувом основ у парі і перемиканням водневих зв'язків всередині пари  $[A\cdot T]_{WC}$  (*Kryachko ES, Sabin JR. Int. J. Quantum Chem. 2003;91:695–710*). Показано, що деякі результуючі структури мають спорідненість до електронів у 1,7 разів вищу порівняно з канонічною парою, що, безумовно, представляє інтерес з огляду на численні явища, пов'язані з переносом заряду і приєднанням електрона до ДНК.

**Мета роботи.** Відповісти на питання, підняті в **Актуальності**, і показати реалістичність таутомерної моделі мутацій, модифікованої в даній роботі на прикладі уотсон-криковської пари  $[A\cdot T]_{WC}$  і названої моделлю *парної таутомерії*.

**Матеріали та методи.** Основним методом є комп'ютерне моделювання, засноване на методі функціоналу густини. Всі розрахунки були проведені з використанням пакета програм GAUSSIAN методом функціоналу густини Бекке-Лі-Янга-Парра (Becke-Lee-Yang-Parr), B3LYP.

**Результати.** У роботі показано існування і стабільність *парної таутомерної мутації* в парі аденін-тимін і досліджено, до яких неоднозначних (wobble) пар вона може призводити. Також показано, що внаслідок специфіки будови *парної таутомерної мутації* пари аденін-тимін, мутація володіє великою електронною спорідненістю в порівнянні з початковою парою і тому

може спостерігатись в реальності і за її допомогою можна пояснити ряд явищ переносу заряду в ДНК, що, знову ж таки, підкреслює її реальність.

**Висновки.** З одного боку, запропоновано узагальнення таутомерної гіпотези Уотсона-Крика, що отримало в даній роботі, конкретно для пари аденін-тимін, назву *парної таутомерної мутації*. Така мутація відноситься до дипольно-зв'язуючих-електрон систем, що зумовлює їх високу адіабатичну спорідненість до електрону. Останнє, з іншого боку, підкреслює реалістичність запропонованої мутаційної моделі і її можливе застосування для пояснення явищ переносу заряду в ДНК і процесів приєднання електрона до ДНК.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** ДНК; мутація; таутомерна модель Уотсона-Крика мутацій в ДНК; дипольно-пов'язаний електрон; адіабатична електронна спорідненість; модель парної таутомерії.

*"Though facts are inherently less satisfying than the intellectual conclusions drawn from them, their importance should never be questioned."*

James D. Watson (2002)

*"Science and everyday life cannot and should not be separated. Science, for me, gives a partial explanation of life. In so far it goes, it is based on fact, experience and experiment."*

Rosalind Franklin (in a letter to her father, summer 1940)

### **Преамбула и мотивация: суть проблемы**

Не скрою, по суті, проблеми две, и обе связаны с гипотезой Уотсона и Крика о механизме таутомерной мутации. Напомним ее суть.

Итак, по Уотсону и Крику [1, 2], ДНК представляет собой двойную спираль, т.е. две спирали, закрученные друг относительно друга и комплементарно [3] удерживаемые друг с другом молекулярными комплексами, сложенными в стопки вдоль ее оси. Эти молекулярные комплексы — т.н. уотсон-криковские пары,  $[A \cdot T]_{WC}$  и  $[G \cdot C]_{WC}$ , — представляют собой особым образом, посредством водородных связей, спаренные основания нуклеиновых кислот. Последние бывают четырех типов: пуриновые — гуанин и аденин, и пиримидиновые — цитозин и тимин. Уотсон-криковские пары — это пары гуанина с цитозином, и аденина с тимином. Они изображены на Рис. 1.

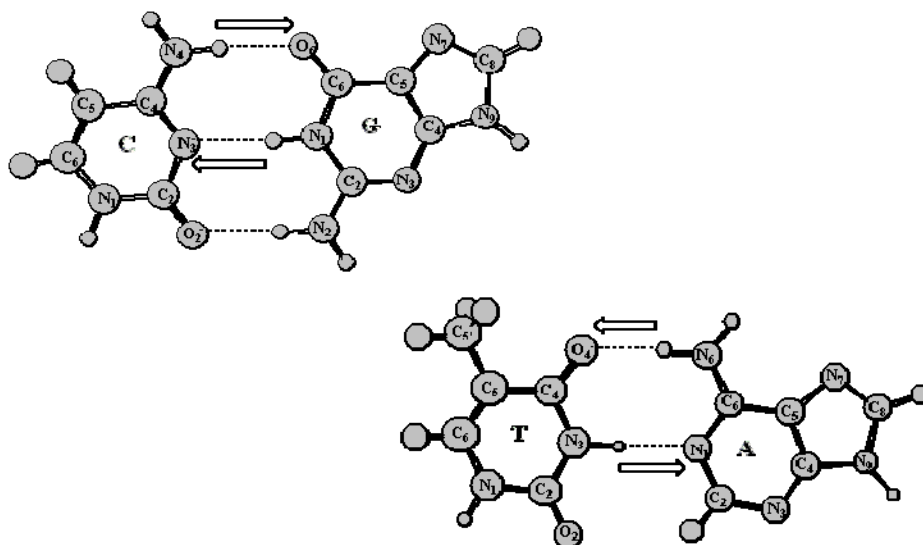


Рис. 1. Уотсон-криковские пары оснований  $[G \cdot C]_{WC}$  (верхняя панель) и  $[A \cdot T]_{WC}$  (нижняя). Их геометрии характеризуются т.н. C'-C' расстоянием  $R$ , которое определяется как расстояние между  $N_9(G,A)$  и  $N_1(C,T)$ , соответственно (см. [20], стр. 37). Стрелки указывают типичные одно-протонные переходы по водородным связям, изображенными пунктирными линиями.

Основания нуклеиновых кислот могут находиться в присущих им таутомерных состояниях. Если предположить, согласно Уотсону и Крику, что основания в ДНК пребывают в основном (т.е. самом энергетически низко-лежащем состоянии), то мутации, определяемые как изменения любого типа [4], возникают вследствие таутомерных переходов этих оснований.

Физика, и биофизика в частности, базируется, в основном, на эксперименте, на фактах [5, 6] (см. также эпиграфы в начале настоящей работы). Факты берутся из наблюдений и экспериментов, цель которых состоит в изучении явлений природы или реальности [7]. Одна из основных целей физики, да и науки вообще — создание моделей (теорий), правдиво описывающих эти факты и реальность [8, 9].

По сути, настоящая работа была навеяна известной работой Эйнштейна, Подольского и Розена «Можно ли считать квантово-механическое описание физической реальности полным?» [10], больше известной как ЭПР-парадокс, парадоксальность которой состоит не только в том [11], что, во-первых, на 1978 год (т.е. спустя 43 года со дня ее публикации) она была процитирована более миллиона раз, во-вторых, она не содержит ни одной ссылки, и в-третьих, по сути, она инициировала т.н. вторую квантовую революцию [12]. В этой работе [10], Эйнштейн, Подольский и Розен подвергли сомнению полноту квантовой теории, полноту в смысле адекватного описания квантовой механикой физической реальности. Примерно в таком же ключе, а именно: «Да, таутомеризм оснований является вполне привлекательной моделью, но насколько она важна в мутагенезе?» — вышла работа Моргана [13] в Разделе «Открытый Вопрос». Добавлю от себя: какую реальность она описывает? Аналогичные вопросы также обсуждались в работах [14–17] (см. также [18]): стоит отметить работу [17], в которой выражается надежда, что «редкие таутомеры и анионные основания ... играют фундаментальную биологическую роль». Более того, согласно предположению Уотсона и Крика, таутомеры являются основным источником неправильных включений пар в структуре ДНК [2, 13]. Свидетельством того, что похожие вопросы отнюдь не абстрактны в данной области свидетельствует, например, работа [19].

Настоящая работа, доложенная на конференции «Нанобиофизика-2019» (Киев) как пленарный доклад, — есть, по сути, попытка ответить на поставленный выше вопрос о реалистичности и важности модели редкого таутомеризма для описании мутагенеза. Естественно, ответ, который и составляет цель настоящей работы, должен лежать в несколько иной плоскости, нежели сама модель редкого таутомеризма (в дальнейшем, сокращенно, таутомерная). В качестве структуры в работе была выбрана уотсон-криковская пара  $[A \cdot T]_{WC}$  (см. нижнюю панель Рис. 1). Причина подобного выбора двоякая: первая обусловлена работой [16] о пребиотическом отборе  $[A \cdot T]_{WC}$  пары, а вторая будет изложена ниже и связана со стабильностью этой пары после таутомерного перехода.

### *Таутомерная модель и репликация*

Начнем с определения таутомерии: это обратимая изомерия, т.е. переход одного изомера молекулы в другой, который идентичен первому по атомной формуле, но различается пространственным расположением атомов. Обычно, как, например, в контексте настоящей работы, рассматривается прототропная таутомерия или таутомеризация, которая связана со сдвигом или переносом одного или нескольких атомов водорода при переходе от одного изомера к другому

Так вот, таутомерная гипотеза Уотсона и Крика состоит в следующем ([2], стр. 129): «В нашей схеме дублирования специфичность репликации достигается посредством специфического спаривания между пуриновым и пиримидиновым

основаниями; аденин с тимином и гуанин с одним из цитозинов. Эта специфичность проистекает из нашего предположения, что каждое из оснований обладает одной таутомерной формой, которая намного более стабильна, чем любая из других возможностей. Однако тот факт, что соединение является таутомерным, означает, что атомы водорода могут иногда менять свое местоположение. Нам представляется правдоподобным, что спонтанная мутация, которая, как мы подразумевали ранее, является изменением в последовательности оснований, происходит из-за того, что основание встречается очень редко в одной из менее вероятных таутомерных форм, в момент, когда комплементарная цепь формируется. Например, в то время как аденин обычно соединяется с тимином, при наличии таутомерного сдвига одного из его атомов водорода он может соединяться с цитозином (Рис. 1, верхняя панель). В следующий раз, когда происходит спаривание, аденин (восстановив свою более обычную таутомерную форму) образует пару с тимином, но цитозин будет спариваться с гуанином, и поэтому произойдет изменение в последовательности оснований».

Давайте рассмотрим таутомерную гипотезу на примере пары  $[G \cdot C]_{WC}$ , представленной на верхней панели Рис. 1. Из последнего следует, что атомы водорода на гуанине следующие: 2 атома H на  $N_2(G)$ , по одному H на  $N_1(G)$ , на  $N_9(G)$ , и на  $C_8(G)$ . Соответствующий таутомер G — это кето 9H-1H (в обозначениях [21]; см. также [22]; «кето» в силу двухвалентного  $O_6(G)$ ), который, согласно Табл. 1 из [21] лежит энергетически выше на  $400 \text{ см}^{-1} \approx 1,144 \text{ ккал} \cdot \text{моль}^{-1}$  (для B3LYP, применяемого в работе [21]; для MP2, применяемого в [22], эта оценка составляет  $100 \text{ см}^{-1}$ ) таутомера 7H-1H, занимающего основное таутомерное состояние. Так что гуанин в уотсон-криковской паре G·C не находится в энергетически нижайшем таутомерном состоянии, а в кето-форме (об истории выбора такой формы Уотсоном и Криком поведал Морган в [13]). В данной паре G·C таутомерный переход, указанный двумя стрелками на Рис. 1, можно формально представить в виде:



где  $G^*$  и  $C^*$  — таутомеры гуанина: 9H-АН, — и цитозина: имино, соответственно. По аналогии, для пары А·Т имеем,



$A^*$  — это имино- ( $-N_6(A)H$ -) таутомер А, а  $T^*$  — энольная ( $=O_4(T)H$ ) форма Т.

Итак, согласно таутомерной гипотезе, мутация (таутомерная) возникает в результате перехода или скачка (квантового, по Шрёдингеру [23]) атома водорода (часто говорят о протоне: см., например, [20]) из одного локального положения в другое. По этой причине таутомерная мутация является точечной [24]. Поскольку таутомерия есть частный случай изомерии, то естественно, дабы сохранить число атомов водорода, должно быть два таких перехода: прямой и обратный, что суммарно эквивалентно двойному переносу протона (ДПП), который был впервые предложен Лёвдиным [25] (см. также [26, 27] и приведенные там ссылки). В этом случае — назовем его I — таутомеры остаются в паре как бы сами по себе, не запутанными (unentangled), аналогично первоначальным основаниям.

Другой случай, II — это когда происходит только один перенос водорода, как, например, вдоль связи  $N_3(T)H_3 \cdots N_1(A)$  на нижней панели Рис. 1. В результате образуется такой «запутанный» димер, состоящий из тимина без  $H_3$  и аденина с  $H_3$ , который можно рассматривать как некоторую мутацию пары, но не отдельно ее оснований. Такая мутация возникла ранее в работе [28] — комплекс  $[A \cdot w \cdot T]_1$  (Рис. 4 из [28]), — который оказался наиболее устойчивым при переносе протона в паре А·Т, приоткрытой молекулой воды.



Давайте процитируем Данилова и Квенцеля ([23], стр. 28): «Для появления [мутации] необходим хотя бы один акт репликации». Так при репликации — давайте рассмотрим, например, механизм Уотсона-Крика (т.н. полуконсервативной репликации; см. [1, 2], а также [29, 30]), — фермент геликаза «проходит» вдоль оси материнской ДНК по водородным связям, связывающих основания в пары, и разрывает их. Ясно, что в процессе репликации доминируют канонические уотсон-криковские пары  $[A \cdot T]_{WC}$  («начало» репликации [31]), которые легче разорвать, чем пару  $[G \cdot C]_{WC}$ , поскольку первые связаны двумя водородными связями [31]. В результате каждая нить становится матрицей при синтезе комплементарной цепи. Давайте предположим, что в стопке пар оснований, среди которых есть как уотсон-криковские, так и таутомерные типов I и II, произошла репликация.

Естественно предположить, что матричная нить должна быть стабильной — в противном случае, синтез дочерних молекул может прерваться. Однако, как было показано в работах [32, 33], пара  $A^* \cdot T^*$ , не является устойчивой, поскольку не удовлетворяет критерию Лёвдина [34], т.к. высота барьера, отделяющая ее от  $[A \cdot T]_{WC}$ , составляет всего лишь  $0,22 \text{ ккал} \cdot \text{моль}^{-1}$ , и поэтому соответствующая потенциальная яма не достаточно глубоко, дабы удерживать основное состояние. Таким образом, при предположении существования таутомерной пары оснований  $A^* \cdot T^*$  типа I, механизм полуконсервативной репликации не работает. Какой тогда выход из данной ситуации? В этом и состоит суть настоящей работы.

Исходя из работы [35], мы показываем существование иного механизма таутомеризации, приводящего к типу II таутомеров. Более того, мы показываем, в рамках приведенной ниже компьютерной методологии, что некоторые из новых II-таутомеров характеризуются достаточно высоким (в  $\sim 1,7$  раз) сродством к электрону по сравнению с канонической парой.

Последнее, несомненно, представляет интерес в свете многочисленных явлений, связанных с переносом заряда в ДНК и присоединением, скажем при радиационном поражении (см. например, [36–45] и представленные там ссылки), электрона к ДНК (в контексте настоящей работы представляет интерес работа [45], показывающая, что слабо-энергетические электроны способны вызвать точечную мутацию).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### *Компьютерная методология*

Все расчеты, выполненные в настоящей работе по оптимизации геометрии выбранных пар ДНК в нейтральном и анионном зарядовых состояниях, без ограничений на возможную планарность, были проведены с использованием пакета программ GAUSSIAN [46] методом функционала плотности Бекке-Ли-Янга-Парра (Becke-Lee-Yang-Parr), B3LYP. Как и положено, выбор молекулярного базиса определяется зарядовым состоянием. Для нейтральных молекул были выбраны базисы: оптимальный  $N \equiv 6-31+G(d)$  и дополненный двойной-зета  $A \equiv \text{aug-cc-pVDZ}$ . Анионные структуры рассчитывались в  $A \equiv \text{aug-cc-pVDZ}$  согласно методике, описанной в работах Шефера [47–49]. В настоящей работе были рассчитаны энергии,  $E$ , исследуемых структур,  $S$ , в обоих зарядовых состояниях (нейтральные — в  $N$  и  $A$ ; анионные — только в  $A$ ) и соответствующие, некалированные, энергии нулевых колебаний (ZPE) и (также некалированные) гармонические колебания. Более того, было рассчитано адиабатическое сродство к электрону, определяемое по формуле (естественно, в одном и том же базисе  $A$ ):

$$AEA(S) := E(S_{\text{neutral}}) - E(S_{\text{anion}}). \quad (3)$$

На вычислительном уровне В3LYP/N пары  $[A\cdot T]_{WC}$  и  $[G\cdot C]_{WC}$  характеризуются, соответственно, расстоянием  $R = 10,18$  и  $10,23$  Å, дипольным моментом  $2,05$  и  $6,13$  D, и энергиями связи (с учетом ZPE)  $E_{binding} = 11,3$  и  $24,3$  ккал·моль<sup>-1</sup>.

В большинстве работ по ДНК можно найти утверждение, что уотсон-криковскую пару  $[A\cdot T]_{WC}$  легче разорвать, чем пару  $[G\cdot C]_{WC}$ , поскольку первая связана двумя водородными связями [28]. Выше, в этом разделе, это утверждение также упоминалось. На самом деле, как считает Морган ([13], стр. 161), пара  $[G\cdot C]_{WC}$  является более устойчивой по сравнению с парой  $[A\cdot T]_{WC}$  благодаря энтропийным эффектам из-за организации гидратационных оболочек и «электронной комплементарности». Последнюю мы понимаем следующим образом. Полярность молекулы, а также ее поляризационное взаимодействие с соседними молекулами, зависит от дипольного момента первой и ее поляризуемости. Рис. 2 демонстрирует «сложение» дипольных моментов оснований гуанина ( $6,8$  D) и цитозина ( $6,9$  D) в рассчитанный полный дипольный момент пары  $[G\cdot C]_{WC}$ , равный  $6,1$  D (поляризуемость пары составляет  $241,5$  а.е.). Рассчитанный полный дипольный момент пары  $[A\cdot T]_{WC}$  равен  $2,1$  D, который плохо складывается из дипольных моментов аденина ( $2,5$  D) и тимина ( $4,6$  D), направленных почти навстречу друг другу. Рассчитанная поляризуемость последней пары несколько меньше ( $235,3$  а.е.), чем первой.

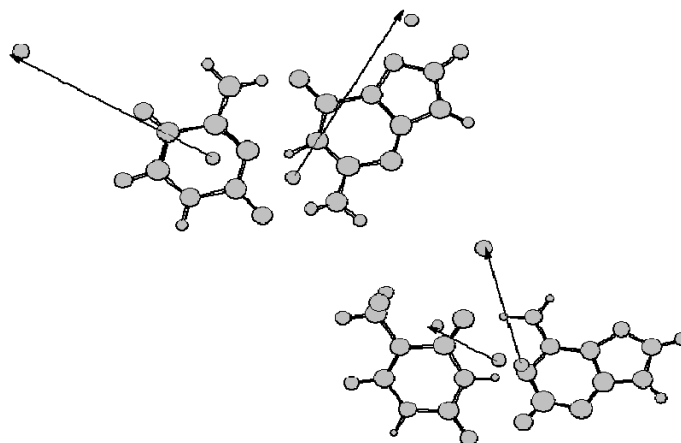


Рис. 2. Демонстрация «сложения» дипольных моментов оснований при образовании канонических пар  $[G\cdot C]_{WC}$  (верхняя панель) и  $[A\cdot T]_{WC}$  (нижняя; см. Рис. 1). Стрелки указывают полные дипольные моменты оснований.

### ***Модель таутомеризации в паре А·Т: нейтральное зарядовое состояние***

Итак, выше мы выяснили, что таутомерная модель по механизму Лёвдина не работает в паре  $[A\cdot T]_{WC}$ . Предположив противное, т. е. что если бы он существовал, то образуемая таутомерная пара  $A^*\cdot T^*$  оказалась бы неустойчивой. Иной механизм формирования таутомерной пары  $[A\cdot T]_{tautomer}$  из пары  $[A\cdot T]_{WC}$  был предложен в работе [35].

В настоящей работе он представлен на Рис. 2 и Рис. 3. Идея механизма такова. В паре  $[A\cdot T]_{WC}$  есть две водородные связи:  $N_3-H_3(T)\cdots N_1(A)$  и  $N_6-H_6(A)\cdots O_4(T)$ . Они, естественно, могут переключаться между различными донорами. Так, переключение последней,  $N_6-H_6(A)\cdots O_4(T)$ , между  $O_4(T)$  и  $N_3(T)$  приводит к проталкиванию  $H_3(T)$  к  $N_1(A)$  и образованию двух бифуркантных водородных связей — этим всем «оркестрирует» переходная структура  $[A\cdot T]^{TS-1}$ , которая изображена на Рис. 3. Она отстоит от  $[A\cdot T]_{WC}$  на  $16,6$  ккал·моль<sup>-1</sup> и характеризуется частотой  $114i$  см<sup>-1</sup>. Таким образом, пара  $[A\cdot T]_{WC}$ , преодолевая вышеуказанный барьер, переходит в пару  $[A\cdot T]_1$ ,



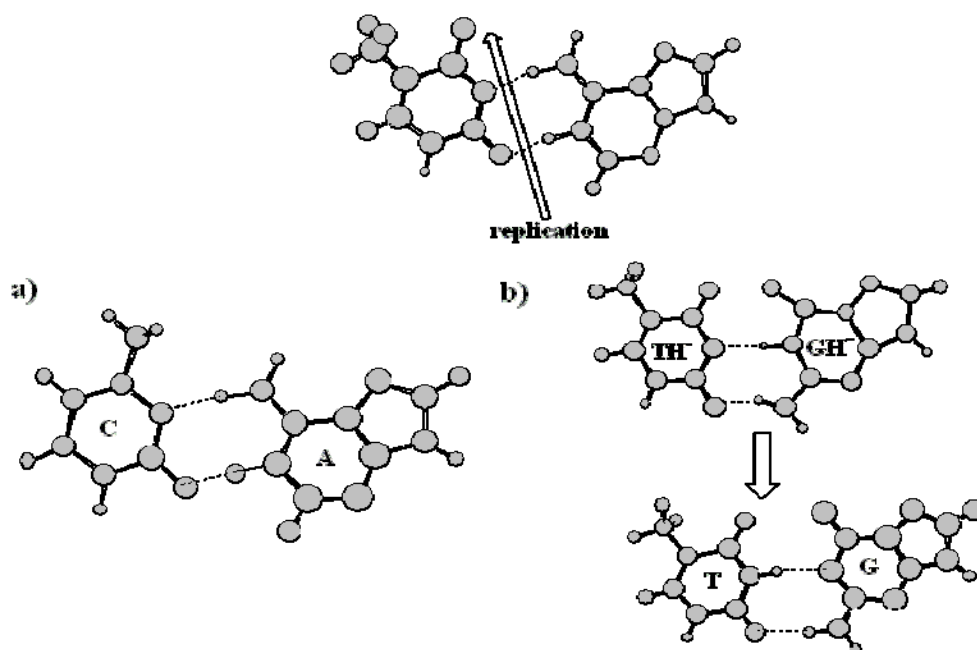


Рис. 5. Два возможных сценария образования неправильно-спаренных пар [A-C], а), и [G-T], б), при репликации пары [A·T]<sub>1</sub>. Заметим, что дефис в обозначениях пар применяется вместо центральной точки в уотсон-криковских парах используется для демонстрации их неоднозначности (wobble).

### Модель таутомеризации в паре А·Т: анион

Выше мы часто упоминали дипольные моменты оснований и их канонических пар. Давайте посмотрим на это с иной стороны, со стороны работы Ферми и Теллера 1947 года [51] (см. также [52]), в которой Ферми и Теллер рассматривали связывание электрона простейшим двух-зарядным диполем. Оказалось (см. [53–55] и приведенные там ссылки), что минимальный дипольный момент для такого связывания должен быть больше 1,625 D (в приближении Борна-Оппенгеймера) и 2,5 D (вне его).

В разделе «Компьютерная методология» было показано, что дипольный момент пары [A·T]<sub>WC</sub> равен 2,1 (точнее, 2,05) D. На основании указанных выше оценок, естественно полагать, что эта пара является недостаточно электрон-связывающей: рассчитанная в базисе B3LYP/AEА ([A·T]<sub>WC</sub>) = 0,35 eВ. Напротив, полный дипольный момент пары [A·T]<sub>1</sub> равен 7,16 D и, следовательно, ее адиабатическое сродство к электрону должно быть выше — именно, согласно расчетам, равно 0,507 eВ, т.е. превосходит примерно в 1,7 раза АЕА ([A·T]<sub>WC</sub>). В этом, по нашему мнению, заключается возможная роль таутомерной мутации типа II аденин-тиминовой пары оснований.

### Обсуждение

Мотивация и логика данной работы достаточно проста. Очевидно, — см. например, обзор [27], — что таутомерная модель мутаций в ДНК реалистична только для пары гуанин-цитозин, и не реалистична для пары аденин-тимин. В чем причина такой дискриминации между каноническими парами оснований ДНК? В чем тогда состоит их такое различие, что гипотеза Уотсона-Крика о редкой таутомерной мутации не работает для второй? На первый взгляд, вроде бы ни в чем, хотя, естественно, доводы о том, что вторая пара слабее первой, если судить по энергии связи, могут сыграть свою роль. Доводы эти уже обсуждались — см., например, ([13], стр. 161), и были признаны несостоятельными. Они также были обсуждены в настоящей работе, в разделе «Компьютерная методология».

Тем не менее, различие между парами существует, и оно заключается в подвижности их водородных связей (переключении между соседними донорами), и из этой подвижности следует несколько иная модель таутомерной мутации в контексте гипотезы Уотсона-Крика: в настоящем контексте, мутация — это не следствие спаривания таутомеров оснований, а следствие *парной таутомерии*, которое есть внутреннее свойство самой пары, только ей присущее. Ранее нами введен термин «парной таутомерии», при котором происходит только один перенос водорода, как, например, вдоль связи  $N_3(T)H_3 \cdots N_1(A)$  (см. нижнюю панель Рис. 1). В результате образуется такой «запутанный» димер, состоящий из тимина без  $H_3$  и аденина с  $H_3$ , который можно рассматривать как некоторую *мутацию пары*, но не отдельно ее оснований.

В этом и состоит суть настоящей работы, которая, с помощью компьютерного эксперимента, показывает существование и стабильность *парной таутомерной мутации* в паре аденин-тимин, и исследует, к каким раскачивающимся или неоднозначным (wobble) парам она может приводить. Последние, на наш взгляд, вносят вклад в общее число парных таутомерных мутаций, которое считалось несколько несогласованным (см. [13], стр. 160). Нами также показано, что в силу специфики строения *парной таутомерной мутации* пары аденин-тимин, мутация обладает большим электронным сродством по сравнению с породившей ее парой и тем самым может быть наблюдаема в реальности: так, посредством ее можно объяснить ряд явлений переноса заряда в ДНК, что, опять же, подчеркивает ее реальность.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор не имеет никаких конфликтов интересов.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Настоящая работа выполнена в рамках темы «Властивості низьковимірних функціональних матеріалів на наномасштабах» отделения Физики и астрономии НАН Украины (0120U100855). Я хотел бы выразить благодарность Сергею Н. Волкову и Виктору И. Данилову за многократные обсуждения, а также Джеку Саймонсу (J. Simons) и Киту Боуэну (K. Bowen) за обсуждение вопросов существования дипольно-связанных анионов, и Шандору Сухаи (S. Suhai) за грант в Немецком центре раковых исследований (DKFZ, Hei-delberg). Я также благодарю рецензентов данной работы за их полезные комментарии и замечания и Марию Суховию за полезные замечания и редактирование украинского реферата.

### Author's ORCID ID

E. S. Kryachko  <https://orcid.org/0000-0002-8179-1849>

### REFERENCES

1. Watson JD, Crick FHC. Molecular structure of nucleic acids: A structure for deoxyribose nucleic acid. Nature. 1953;171:737–8. <https://doi.org/10.1038/171737a0>
2. Watson JD, Crick FHC. The structure of DNA. Cold Spring Harb Symp Quant Biol. 1953;18:123–31. <https://doi.org/10.1101/sqb.1953.018.01.020>
3. Crick FHC, Watson JD. The complementary structure of deoxyribonucleic acid. P Roy Soc A–Math Phy. 1954;223:80–96. <https://doi.org/10.1098/rspa.1954.0101>
4. Auerbach C. Problems in chemical mutagenesis. Cold Spring Harb Symp Quant Biol. 1951;16:199–213. <https://doi.org/10.1101/sqb.1951.016.01.016>
5. Vol'kenstein MV. Molekulyarnaya biofizika [Molecular biophysics]. Moscow: Nauka; 1975. 616 p. (in Russian)
6. Marais A, Adams B, Ringsmuth AK, Ferretti M, Gruber JM, Hendrikx R, et al. The future of quantum biology. J R Soc Interface. 2018;15:20180640. <https://doi.org/10.1098/rsif.2018.0640>

7. Mirman R. The reality and dimension of space and the complexity of quantum mechanics. *Int J Theor Phys.* 1988;27:1257–76. <https://doi.org/10.1007/BF00670681>
8. Kryachko ES. Selected theses on science. In: Valsiner J, Lutsenko A, Antoniouk A, editors. *Sustainable Futures for Higher Education: The Making of Knowledge Makers.* Springer, Cham; 2018. pp. 189–206. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-96035-7>
9. Engel'gardt VA. Facts and ideas in the creative work of scientist. In: *Kratkii mig torzhestva: O tom, kak delayutsya nauchnye otruzhiya* [A brief moment of triumph: How scientific discoveries are made]. Moscow: Nauka; 1989. pp. 20–26. (in Russian).
10. Einstein A, Podolsky B, Rosen N. Can quantum-mechanical description of physical reality be considered complete? *Phys Rev.* 1935;47:777–80. Available from: <https://journals.aps.org/pr/cited-by/10.1103/PhysRev.47.777>
11. Cantrell CD, Scully MO. The EPR paradox revisited. *Phys Rep.* 1978;43:499–508. [https://doi.org/10.1016/0370-1573\(78\)90211-9](https://doi.org/10.1016/0370-1573(78)90211-9)
12. Jaeger L. *The second quantum revolution: From entanglement to quantum computing and other super-technologies.* Springer, Cham; 2018. 339 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-98824-5>
13. Morgan AR. Base mismatches and mutagenesis: how important is tautomerism? *Trends Biochem Sci.* 1993;18(5):160–3. [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(93\)90104-U](https://doi.org/10.1016/0968-0004(93)90104-U)
14. Topal MD, Fresco JR. Complementary base pairing and the origin of substitution mutations. *Nature* 1976;263:285–9. <https://doi.org/10.1038/263285a0>
15. Kimsey, IJ, Petzold K, Sathyamoorthy B, Stein ZW, Al-Hashimi HM. Visualizing transient Watson-Crick-like mispairs in DNA and RNA duplexes. *Nature.* 2015;519:315–20. <https://doi.org/10.1038/nature14227>
16. Quinn JR, Zimmerman SC, Del Bene JE, Shavitt I. Prebiotic selection of the AT base-pair? A physical organic approach to understanding AT base-pair stability indicates special stability (1,2). *ACS Symposium Series.* 2009 Dec 20;1025:95–107. <https://doi.org/10.1021/bk-2009-1025.ch005>
17. Nollau P, Wagener Ch. Methods for detection of point mutations: performance and quality assessment. *Clin Chem.* 1997;43(7):1114–28. <https://doi.org/10.1093/clinchem/43.7.1114>
18. Grebneva EA. Role of hydrogen bonds in the processes of formation of gene mutations. *Soviet Journal of Chemical Physics [Khimicheskaya Fizika].* 1993;12(7):1024–31. (in Russian)
19. Brovarets' OO, Hovorun DM. Proton tunnelling in the A-T Watson-Crick DNA base pair: myth or reality? *J Biomol Struct Dyn.* 2015;33:2716–20. <https://doi.org/10.1080/07391102.2015.1092886>
20. Saenger W. *Principy strukturnoj organizacii nukleinykh kislot* [Principles of Nucleic Acid Structure]. Moscow: Mir; 1987. 584 p. (in Russian)
21. Marian CM. The guanine tautomer puzzle: quantum chemical investigation of ground and excited states. *J. Phys. Chem.* 2007;111:1545–53. <https://doi.org/10.1021/jp068620v>
22. Alonso JL, Pena I, Lopez JC, Vaquero V. Rotational spectral signatures of four tautomers of guanine. *Angew Chem Int Ed.* 2009;48(33):6141–3. <https://doi.org/10.1002/anie.200901462>
23. Schroedinger E. *Chto takoe zhizn' s tochki zreniya fiziki?* [What is life? The physical aspect of the living cell]. Moscow: Gosudarstvennoe izdatel'stvo inostrannoj literatury; 1947. 150 p. (in Russian).
24. Danilov VI, Kvencel' GF. *Jelektronnye predstavleniya v teorii tochechnykh mutacij* [Electronic representations in point mutation theory]. Kiev: Naukova dumka; 1971. 84 p. (in Russian)
25. Löwdin P-O. Proton tunneling in DNA and its biological implications. *Rev Mod Phys.* 1963;35:724–32. <https://doi.org/10.1103/RevModPhys.35.724>
26. Kryachko ES. The origin of spontaneous point mutations in DNA via Löwdin mechanism of proton tunneling in DNA base pairs: cure with covalent base pairing. *Int J Quantum Chem.* 2002;90:910–23. <https://doi.org/10.1002/qua.975>
27. Kryachko ES. The origin of spontaneous point mutations in DNA: Löwdin's mechanism of proton tunneling in DNA base pairs. In: Brändas EJ, Kryachko ES, editors. *Fundamental world of quantum chemistry: A Tribute to the Memory of Per-Olov Löwdin.* Vol. II. Dordrecht: Kluwer; 2003. pp. 583–629. ISBN: 1-4020-1286-1
28. Kryachko ES, Volkov SN. To the understanding of the mechanism of formation of point mutations in DNA. *Dopov. Nac. akad. nauk Ukr.* 2018;7:103–12. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2018.07.103> (in Ukrainian)
29. Lehninger AL. *Biochemistry. The molecular basis of cell structure and function.* New York: Worth Publishers, Inc; 1970. 833 p.
30. Alberts B. DNA replication and recombination. *Nature.* 2003;421(6921):431–5. <https://doi.org/10.1038/nature01407>
31. Widłak W. DNA replication, mutations, and repair. In: Widłak W, editor. *Molecular Biology. Lecture Notes in Computer Science,* vol. 8248. Berlin: Springer; 2013. p. 49–69. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-45361-8\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-642-45361-8_4)



32. Florián J, Hroudá V, Hobza P. Proton transfer in the adenine-thymine base pair. *J Am Chem Soc.* 1994;116(4):1457–60. <https://doi.org/10.1021/ja00083a034>
33. Gorb L, Podolyan Y, Dziekonski P, Sokalski WA, Leszczynski J. Double-proton transfer in adenine-thymine and guanine-cytosine base pairs. A post-Hartree-Fock ab initio study. *J Am Chem Soc.* 2004;126(32):10119–29. <https://doi.org/10.1021/ja049155n>
34. Löwdin P.-O. The mathematical definition of a molecule and molecular structure. In: Maruani J (ed) *Molecules in physics, chemistry, and biology: Physical Aspects of Molecular Systems. Series: Topics in molecular organization and engineering, vol 2.* Dordrecht: Kluwer; 1988. pp 3–60. [https://doi.org/10.1007/978-94-009-2851-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-009-2851-0_1)
35. Kryachko ES, Sabin JR. Quantum chemical study of the hydrogen-bonded patterns in A-T base pair of DNA: Origins of tautomeric mispairs, base flipping, and Watson-Crick  $\Rightarrow$  Hoogsteen conversion. *Int J Quantum Chem.* 2003;91:695–710. <https://doi.org/10.1002/qua.10462>
36. Arnold AR, Grodick MA, Barton JK. DNA charge transport: from chemical principles to the cell. *Cell Chemical Biology.* 2016;23(1):183–197. <https://doi.org/10.1016%2Fj.chembiol.2015.11.010>
37. Apalkov VM, Chakraborty T. Electron dynamics in a DNA molecule. *Phys Rev B.* 2005;71:033102. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.71.033102>
38. Simons J. How do low-energy (0.1-2 eV) electrons cause DNA-strand breaks? *Acc Chem Res.* 2006;39(10):772–9. <https://doi.org/10.1021/ar0680769>
39. Wetmore SD, Boyd RJ, Eriksson LA. Electron affinities and ionization potentials of nucleotide bases. *Chem Phys Lett.* 2000;322(1–2):129–35. [https://doi.org/10.1016/S0009-2614\(00\)00391-2](https://doi.org/10.1016/S0009-2614(00)00391-2)
40. Wang YF, Tian SX. Shape resonance states of the low-energy electron attachments to DNA base tautomers. *Phys Chem Chem Phys.* 2011;13:6169–75. <https://doi.org/10.1039/C0CP01721C>
41. Boldissar S, de Vries MS. How nature covers its bases. *Phys Chem Chem Phys.* 2018;20:9701–16. <https://doi.org/10.1039/C8CP01236A>
42. Danilov VI, Mikhaleva OV, Slyusarchuk ON, Stewart JJ, Alderfer JL. On the new mechanism of mutations induced by UV-light. A theoretical study of the double-proton phototautomerism in a model base pair of DNA. *Biopolym Cell.* 1997;13(4):261–8. <http://doi.org/10.7124/bc.000488>
43. Shukla M, Leszczynski J, editors. *Radiation induced molecular phenomena in nucleic acids. A comprehensive theoretical and experimental analysis.* Dordrecht: Springer; 2008. 677 p. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8184-2>
44. Kumar A, Mishra PC, Suhai S. Adiabatic electron affinities of the polyhydrated adenine-thymine base pair: A density functional study. *J Phys Chem A.* 2005;109(17):3971–9. <https://doi.org/10.1021/jp0456178>
45. Sukhoviya MI, Birdus SE, Shafranyosh MI, Svida YuYu, Shafranyosh II. Molecular mechanisms of influence of slow electrons on biological structures. *Biophysal bulletin.* 2019;42(1),68–74. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2019-42-06> (in Ukrainian).
46. Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, et al. *Gaussian 09*, Revision C.01; Gaussian, Inc.: Wallingford CT, 2010. Available from: <https://gaussian.com/>
47. Gu J, Leszczynski J, Schaefer HF III. Interactions of electrons with bare and hydrated biomolecules: From nucleic acid bases to DNA segments. *Chem Rev.* 2012 June 13;112(11):5603–40. <https://doi.org/10.1021/cr3000219>
48. Wesolowski SS, Leininger ML, Pentchev PN, Schaefer HF III. Electron affinities of the DNA and RNA bases. *J Am Chem Soc.* 2001;123:4023–8. <http://doi.org/10.1021/ja003814o>
49. Richardson NA, Wesolowski SS, Schaefer HF III. Electron affinity of the guanine-cytosine base pair and structural perturbations upon anion formation. *J Am Chem Soc.* 2002; 124(34):10163–70. <http://doi.org/10.1021/ja020009w>
50. Modrich P. Mechanism in *E. coli* and human mismatch repair (Nobel Lecture). *Angew Chem Int Ed.* 2016 May 20;55(30):8490–501. <http://doi.org/10.1002/anie.201601412>
51. Fermi E, Teller E. The capture of negative mesotrons in matter. *Phys Rev.* 1947 Sep 1;72(5):399–408. <http://doi.org/10.1103/PhysRev.72.399>
52. Turner JE. Minimum dipole moment required to bind an electron—molecular theorists rediscover phenomenon mentioned in Fermi-Teller paper twenty years earlier. *Am J Phys.* 1977;45:758–66. <https://doi.org/10.1119/1.10767>
53. Desfrancois Ch, Abdul-Carime H, Schermann JP. Ground-state dipole-bound anions. *Int J Mod Phys B.* 1996;10(12):1339–95. <https://doi.org/10.1142/S0217979296000520>
54. Jordan KD, Wang F. Theory of dipole-bound anions. *Annu Rev Phys Chem.* 2003;54:367–96. <https://doi.org/10.1146/annurev.physchem.54.011002.103851>
55. Simons J. Molecular anions. *J Phys Chem A.* 2008 Jul;112(29):6401–511. <http://doi.org/10.1021/jp711490b>





Огляд

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-14>

УДК 535.214

ДІЯ ФІЗИЧНИХ ФАКТОРІВ НА БІОЛОГІЧНІ ОБ'ЄКТИ

## ВПЛИВ КОМПОНЕНТ ОПТИЧНОГО ІМПУЛЬСУ ТА СПІНУ ЕВАНЕСЦЕНТНИХ ХВИЛЬ НА МІКРО- ТА НАНООБ'ЄКТИ (ОГЛЯД)

О.В. Ангельський<sup>1,2</sup>, К.Ю. Зенкова<sup>2</sup>, Д.І. Іванський<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Науково-дослідний інститут Тайчжоу університету Джейян, шосе Джеда, 38, Ханчжоу, провінція  
Джейян, 310027, Китай

<sup>2</sup>Інститут фізико-технічних та комп'ютерних наук, Чернівецький національний університет імені Юрія  
Федьковича, вул. Коцюбинського, 2, Чернівці, 58012, Україна

e-mail: [idmitrow@gmail.com](mailto:idmitrow@gmail.com)

Надійшла до редакції 10 листопада 2019 р.

Прийнята 7 травня 2020 р.

**Актуальність.** Механічні властивості світла знаходять широке застосування в прикладних сферах, таких, як оптичне захоплення та маніпулювання, сортування, деформування біологічних клітин та молекул. В загальному випадку, в еванесцентному полі можуть виникати три компоненти оптичного імпульсу та спінового кутового моменту (спіну), що при взаємодії з об'єктами проявляються у виникненні відповідної компоненти оптичної сили та обертового моменту. Такі неординарні властивості еванесцентних хвиль відкривають нові можливості для маніпулювання мікро- та нанооб'єктами, в порівнянні з класичними оптичними пінцетами та маніпуляторами, що може бути застосовано для розв'язання прикладних задач, зокрема, біомедицини.

**Мета роботи.** Метою роботи є аналіз та узагальнення останніх досліджень стосовно механічного впливу з боку еванесцентного поля на мікро- та нанооб'єкти, зокрема, пов'язаного із впливом поперечних компонент оптичного імпульсу та спіну.

**Матеріали і методи.** Метод імпульсів дозволяє виділити в еванесцентному полі дію на частинки оптичних сил та обертових моментів, пов'язаних із компонентами оптичного імпульсу та кутового моменту, різної природи та напрямку дії, в залежності від поляризації падаючої хвилі. Експериментальні методики маніпулювання частинками в ближньому полі дозволяють візуалізувати такий вплив, що робить його можливим для застосування в прикладних задачах.

**Результати.** Нещодавні дослідження демонструють вплив на нано- та мікрооб'єкти таких «незвичайних» компонент оптичного імпульсу та спіну, як поперечний спіновий імпульс, поперечний спін, поперечна уявна компонента оптичного імпульсу та вертикальний спін. Пропонується застосування, зокрема, останніх, для розв'язання прикладних задач біомедицини, таких, як транспортування терапевтичних агентів в патологічні ділянки чи відновлення прохідності судин та кровопостачання тканин.

**Висновки.** Отримані результати теоретичного та експериментального дослідження механічної дії компонент оптичного імпульсу та спіну еванесцентного поля дозволяють розширити підходи оптичного маніпулювання мікро- та нанооб'єктами, з можливістю прикладних застосувань, зокрема, в задачах біомедицини.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** еванесцентна хвиля; оптичний імпульс; спін; оптична сила; обертовий момент; наночастинка.

## INFLUENCE OF COMPONENTS OF OPTICAL MOMENTUM AND SPIN OF EVANESCENT WAVES ON MICRO- AND NANOOBJECTS (REVIEW)

O.V. Angelsky<sup>1,2</sup>, C.Yu. Zenkova<sup>2</sup>, D.I. Ivanskyi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Taizhou Research Institute of Zhejiang University, 38 Zheda Road, Hangzhou, Zhejiang Province, 310027, China

<sup>2</sup>Institute of Applied-Physics and Computer Sciences, Yuri Fedkovich Chernivtsi National University,  
2 Kotsyubynsky Str., Chernivtsi, 58012, Ukraine

**Background:** Mechanical properties of light are widely used in applied areas, such as optical trapping and manipulation, sorting, deformation of biological cells and molecules. In general, the evanescent field may exhibit three components of optical momentum and spin angular momentum (spin), which manifest themselves in the occurrence of corresponding components of optical force and torque. Such extraordinary properties of evanescent waves open up new possibilities for manipulating of micro- and

nanoobjects, in comparing with classical optical tweezers and manipulators, which can be used for solving the applied problems, in particular, of biomedicine.

**Objectives:** Aim of this work is to analyze and summarize recent studies regarding to the mechanical influence of evanescent field on micro- and nanoobjects, in particular, related to the influence of transverse components of optical momentum and spin.

**Materials and methods:** Method of momenta allows one to distinguish in an evanescent field the action of optical forces and torques, associated with the components of optical momentum and angular momentum of different nature and action direction, depending on the polarization of the incident wave. Experimental methods of particle manipulation in the near field allow visualizing such an influence, which makes it possible for solving the applied problems.

**Results:** Recent studies demonstrate the action on nano- and microobjects of such "extraordinary" optical momentum and spin components, as transverse spin momentum, transverse spin, transverse imaginary optical momentum component, and vertical spin. Using, in particular, the latter, to solve the applied problems of biomedicine is proposed, such as transporting of therapeutic agents to pathological areas or restoring vascular patency and tissue blood supply.

**Conclusions:** Obtained results of theoretical and experimental investigation of the mechanical action of the optical momentum and spin components of evanescent field allow us to extend the approaches of optical manipulation of micro- and nanoobjects, with the possibility of applications, in particular, for the problems of biomedicine.

**KEY WORDS:** evanescent wave; optical momentum; spin; optical force; torque; nanoparticle.

## ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТ ОПТИЧЕСКОГО ИМПУЛЬСА И СПИНА ЭВАНЕСЦЕНТНЫХ ВОЛН НА МИКРО- И НАНООБЪЕКТЫ (ОБЗОР)

О.В. Ангельский<sup>1,2</sup>, К. Ю. Зенкова<sup>2</sup>, Д.И. Иванский<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт Тайчжоу университета Джэйянга, шоссе Джеда, 38, Ханчжоу, провинция Джэйянг, 310027, Китай

<sup>2</sup>Институт физико-технических и компьютерных наук, Черновицкий национальный университет имени Юрия Федьковича, ул. Коцюбинского, 2, Черновцы, 58012, Украина

**Актуальность.** Механические свойства света находят широкое применение в прикладных сферах, таких, как оптический захват и манипулирование, сортировка, деформирование биологических клеток и молекул. В общем случае, в эванесцентном поле могут возникать три компонента оптического импульса и спинового углового момента (спина), что при взаимодействии с объектами проявляется в возникновении соответствующей компоненты оптической силы и крутящего момента. Такие неординарные свойства эванесцентных волн открывают новые возможности для манипулирования микро- и нанообъектами, по сравнению с классическими оптическими пинцетами и манипуляторами, что может быть применено для решения прикладных задач, в частности, биомедицины.

**Цель работы.** Целью работы является анализ и обобщение последних исследований по механическому воздействию со стороны эванесцентного поля на микро- и нанообъекты, в частности, связанного с влиянием поперечных компонент оптического импульса и спина.

**Материалы и методы.** Метод импульсов позволяет выделить в эванесцентном поле воздействие на частицы оптических сил и вращательных моментов, связанных с компонентами оптического импульса и углового момента различной природы и направления действия, в зависимости от поляризации падающей волны. Экспериментальные методики манипулирования частицами в ближнем поле позволяют визуализировать такое влияние, что делает его возможным для применений в прикладных задачах.

**Результаты.** Последние исследования демонстрируют влияние на нано- и микрообъекты таких «необычных» компонент оптического импульса и спина, как поперечный спиновый импульс, поперечный спин, поперечная мнимая компонента оптического импульса и вертикальный спин. Предлагается применение, в частности, последних, для решения прикладных задач биомедицины, таких, как транспортировка терапевтических агентов в патологические участки или восстановления проходимости сосудов и кровоснабжение тканей.

**Выводы.** Полученные результаты теоретического и экспериментального исследования механического воздействия компонент оптического импульса и спина эванесцентного поля позволяют расширить подходы оптического манипулирования микро- и нанообъектами, с возможностью прикладных применений, в частности, в задачах биомедицины.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** эванесцентная волна; оптический импульс; спин; оптическая сила; крутящий момент; наночастица.

Ще у перших роботах Пойнтінга зазначається, що світло володіє лінійним імпульсом та кутовим моментом [1, 2, 9]. Здатність світла створювати механічний вплив на об'єкти вперше була використана А. Ешкінім в 1970 р. для створення оптичних пінцетів [3], за що ним у 2018 р. було отримано Нобелівську премію. Механічні властивості світла знаходять широке застосування в прикладних сферах, таких, як оптичне захоплення та маніпулювання мікро- та наночастинками, сортування, деформування біологічних клітин та молекул [4]. Принцип дії сучасних оптичних пінцетів базується на використанні складного просторово-неоднорідного розподілу інтенсивності, поляризації та фази [4, 14–16]. Відновлення, зокрема фазового розподілу оптичного поля є доволі складною задачею, що вирішується підходами сингулярної оптики [5–7]. В рамках даних підходів демонструється здатність світла маніпулювати об'єктами різної форми та різноманітних властивостей, розмірами в декілька нанометрів, мікрон [4, 14].

Нещодавні роботи демонструють, що структуровані, неоднорідні оптичні поля, такі як еванесцентні хвилі, володіють досить нетривіальною структурою розподілу поляризаційно-залежних та поляризаційно-незалежних компонент оптичного імпульсу та спіну [9]. Нещодавно було передбачено існування «незвичайних» поперечних компонент оптичного імпульсу та спіну еванесцентних хвиль, ортогональних до напрямку поширення та дії світлового тиску [8–12]. Лінійний імпульс та кутовий оптичний момент при взаємодії з частинками стає причиною виникнення тої чи іншої компоненти оптичної сили та обертового моменту. Найбільш повний аналіз та класифікацію оптичних сил та обертових моментів, пов'язаних з динамічними характеристиками еванесцентного поля, наводиться в [9]. Вплив тої чи іншої компоненти оптичної сили та обертового моменту задається не тільки поляризацією падаючого пучка, але й значною мірою залежить від типу частинок та відповідного наближення для опису взаємодії поля з частинкою [9].

При взаємодії з частинками в еванесцентному полі, в загальному випадку, можуть виникати три компоненти оптичної сили та обертового моменту [9, 12]. Деякі з них, наприклад, градієнтна сила у вертикальному напрямку або поздовжня сила тиску, що пов'язані з дійсною та уявною компонентами орбітального імпульсу, є досить добре вивченими та використовуються для розв'язання прикладних задач [4, 9]. Нещодавно було експериментально спостережено дію поперечної компоненти оптичної сили, ортогональної до напрямку світлового тиску, зумовленої поперечним спіновим імпульсом, що виникає у випадку збудження еванесцентного поля циркулярно поляризованою падаючою хвилею [11]. Еванесцентна хвиля володіє поперечним спіновим кутовим моментом (поперечним спіном), що виникає навіть при збудженні її лінійно поляризованою падаючою хвилею, створюючи обертовий момент частинки в площині падіння [9]. За умови реалізації еванесцентного поля при повному внутрішньому відбиванні (ПВВ) лінійно поляризованої падаючої хвилі з азимутом  $\pm 45^\circ$  також виникає поперечна уявна компонента оптичного імпульсу, що асоціюється з уявною частиною вектора Пойнтінга, та відображає потік так званої «накопиченої» енергії [9, 10, 12, 13]. В цьому випадку також виникає вертикальна компонента спінового кутового моменту (вертикальний спін) еванесцентного поля в напрямку, ортогональному до поверхні поділу, де реалізується ПВВ, що зумовлює дію обертового моменту на частинки в площині, паралельній до цієї поверхні (в горизонтальній площині) [9, 12]. Такі неординарні властивості еванесцентних хвиль розширюють, в порівнянні з класичними оптичними пінцетами, можливості оптичного маніпулювання та керування рухом мікро- та нанооб'єктів, із застосуванням такого впливу для розв'язання прикладних задач, зокрема, біомедицини [4, 52, 56–62].

### СТРУКТУРА ЕВАНЕСЦЕНТНОГО ПОЛЯ ПРИ ЯВИЩІ ПВВ

Еванесцентна хвиля є прикладом *структурованого* оптичного поля [14], яке характеризується неоднорідним розподілом інтенсивності та наявністю еліптичної поляризації, що може існувати у різних площинах в залежності від умов збудження [9, 20, 21]. Одним з методів генерації еванесцентної хвилі є явище повного внутрішнього відбивання (ПВВ) на плоскій межі поділу двох діелектричних середовищ з різними показниками заломлення ( $n_2 < n_1$ ), при кутах падіння, більших за *граничний* [17–19]. Еванесцентна хвиля виникає в середовищі з меншим показником заломлення та характеризується комплексним значенням хвильового вектора, дійсна частина якого описує поширення хвилі в поздовжньому ( $z$ -) напрямку, а уявна задає затухання хвилі по амплітуді у вертикальному напрямку  $x$ , ортогональному до межі поділу [17]. Поверхні рівних фаз та рівних амплітуд еванесцентної хвилі є взаємно перпендикулярними, тому така хвиля є неоднорідною [17]. Область, на яку еванесцентна хвиля проникає в середовище, визначається так званою *глибиною проникнення*, що залежить від співвідношення показників заломлення, довжини хвилі та кута падіння [19].

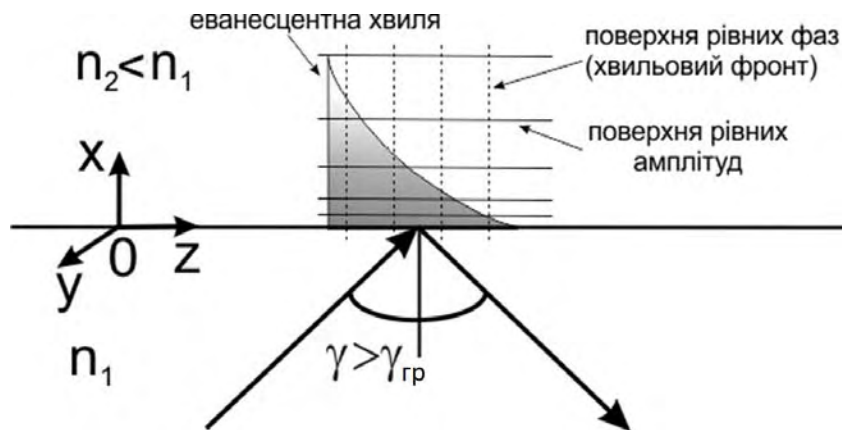


Рис. 1. Еванесцентна хвиля при ПВВ на плоскій межі поділу ( $n_1 > n_2$ ) [17]:  $\gamma$  — кут падіння на межу поділу;  $\gamma_{\text{гр}}$  — граничний кут падіння;  $n_1, n_2$  — показники заломлення відповідно першого та другого середовищ.

Вектор напруженості електричного поля еванесцентної хвилі, що виникає над межею поділу, може бути представлений у вигляді [9, 49]:

$$\vec{E}_{\text{ев}} = E \left( \vec{x} \frac{1}{\sqrt{1+|m|^2}} + \vec{y} \frac{m}{\sqrt{1+|m|^2}} \frac{k}{k_z} + \vec{z} (-i) \frac{1}{\sqrt{1+|m|^2}} \frac{\kappa}{k_z} \right) e^{ik_z z - \kappa x} e^{-i\omega t}, \quad (1)$$

де  $E = k_z / k \sqrt{\frac{\mu_1}{\mu_2}} T E_1$  — амплітуда електричного поля еванесцентної хвилі;  $E_1$  —

амплітуда падаючої хвилі;  $k$  — хвильове число;  $k_z = k \frac{n_1}{n_2} \sin \gamma$ ,  $\kappa = k \sqrt{\left(\frac{n_1}{n_2}\right)^2 \sin^2 \gamma - 1}$  — дійсна та уявна складові хвильового вектора;  $\gamma$  — кут падіння падаючої хвилі на

межу поділу;  $T = \frac{\sqrt{|T_{//}|^2 + |m_1|^2 |T_{\perp}|^2}}{\sqrt{1+|m_1|^2}} \exp[i \arg T_{//}]$  — коефіцієнт пропускання;  $T_{//}$ ,  $T_{\perp}$  —

френелівські коефіцієнти пропускання;  $m = \frac{T_{\perp}}{T_{//}} m_1$  — комплексний поляризаційний параметр, що описує поляризацію еванесцентної хвилі;  $m_1$  — поляризаційний параметр відповідно падаючої хвилі;  $\mu_1, \mu_2$  — магнітні проникності першого та другого середовища відповідно;  $n_1, n_2$  — показники заломлення першого та другого середовища відповідно;  $\vec{x}, \vec{y}, \vec{z}$ ,  $x, z$  — орти координатних осей та значення координат

в декартовій системі координат;  $i$  — уявна одиниця;  $\omega$  — циклічна частота;  $t$  — час.

На відміну від поширюваних хвиль еванесцентна хвиля не є поперечною оскільки містить поздовжню (уявну) компоненту поля. Наявність уявної одиниці у виразі для амплітуди поздовжньої компоненти поля задає фазовий зсув величиною  $\pi/2$  по відношенню до двох інших поперечних компонент. Це спричиняє обертання електричного вектора еванесцентної хвилі в площині, що збігається з площиною падіння (так звана *ефективна еліптична поляризація*), на відміну від звичайної циркулярно- чи еліптично-поляризованої хвилі, де обертання здійснюється в поперечній площині [9]. При цьому еліптичність поляризації еванесцентної хвилі виникає навіть у випадку лінійної поляризації падаючої хвилі (Рис. 2) [20]. Поляризація еванесцентних хвиль була виміряна експериментально [20, 21].

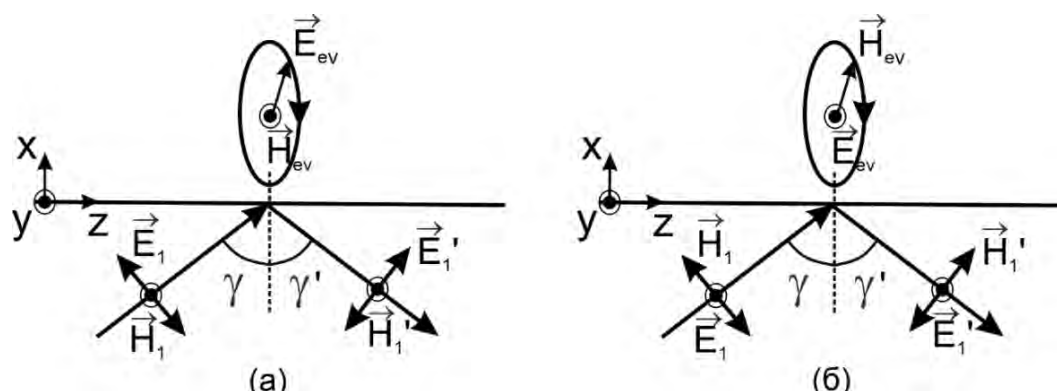


Рис. 2. Поляризація еванесцентної хвилі у випадку р- (а) та s- (б) поляризації падаючої хвилі [20]:

$\vec{E}_1$ ,  $\vec{E}'_1$ ,  $\vec{E}_{ev}$ ,  $\vec{H}_1$ ,  $\vec{H}'_1$ ,  $\vec{H}_{ev}$  — вектори напруженості електричного та магнітного полів падаючої, відбитої та еванесцентної хвилі відповідно;  $\gamma$ ,  $\gamma'$  — кути падіння та відбивання.

Наявність неоднорідного просторового розподілу інтенсивності та еліптичної поляризації еванесцентних хвиль, що, в загальному випадку може існувати в різних площинах, в залежності від поляризації падаючої хвилі, створюють умови для виникнення «незвичайних» компонент оптичного імпульсу та спіну, в порівнянні з поширюваними хвилями [9].

### ОПТИЧНИЙ ІМПУЛЬС ТА СПІН ЕВАНЕСЦЕНТНИХ ХВИЛЬ

Динамічні характеристики еванесцентного поля, такі, як густина імпульсу чи спіну, мають складну структуру розподілу, що залежить від поляризації падаючого пучка [9, 12]. Густина орбітального імпульсу еванесцентного поля може бути задана, як [9, 49]:

$$p_o = p_{oz} = \frac{A^2}{8\pi\omega} \left( k_z + \frac{m^2 k^2}{k_z} + \frac{\kappa^2}{k_z} \right) \exp(-2kx), \quad (2)$$

де  $A = \frac{E}{\sqrt{1+|m|^2}}$ . Орбітальний імпульс напрямлений у поздовжньому  $z$ -напрямку та задає дію сили тиску в еванесцентному полі.

Густина спінового імпульсу  $\vec{p}_s$  містить як поздовжню компоненту, що напрямлена протилежно до  $z$ -напрямку [9, 49]:

$$p_{sz} = -\frac{A^2}{4\pi\omega} \frac{\kappa^2}{k_z} \exp(-2kx), \quad (3)$$

так і поперечну компоненту в  $y$ -напрямку [9, 11, 49]:

$$p_{sy} = \frac{A^2}{4\pi\omega} \frac{k\kappa}{k_z} \text{Im } m \exp(-2kx). \quad (4)$$

Спіновий кутовий момент (спін) еванесцентного поля виникає внаслідок циркуляції густини спінового імпульсу  $\vec{s} = \nabla \times \vec{p}_s$ , що може відбуватись в різних

площинах, в залежності від поляризації падаючої хвилі [9, 10, 12].

Умови виникнення відповідних компонент оптичного імпульсу та спіну еванесцентного поля найбільш повно описуються в [9, 10, 12], з чого можна зробити наступні висновки:

- 1) Оптичний імпульс еванесцентного поля можна розкласти на спінову та орбітальну складові. При цьому орбітальний (канонічний) імпульс еванесцентної хвилі має тільки поздовжню  $z$ -компоненту, в той час, як спіновий імпульс характеризується як поздовжньою (напрявленою протилежно до напрямку орбітального імпульсу), так і поперечною компонентою. Поздовжня компонента спінового імпульсу, як і орбітальний імпульс, існують за будь-якої поляризації падаючої хвилі, в той час, як поперечна компонента спінового імпульсу визначається еліптичністю поляризації [9];
- 2) Спіновий кутовий момент (спін) еванесцентного поля характеризується поздовжньою  $z$ -, поперечною  $y$ - та вертикальною  $x$ -компонентою; при цьому, поздовжній спін, як і для класичного випадку, пропорційний ступеню циркулярної поляризації падаючої хвилі, в той час, як поперечна компонента спіну є поляризаційно-незалежною, та виникає навіть у випадку збудження еванесцентної хвилі лінійно поляризованою падаючою хвилею. Причина виникнення такої «незвичайної» компоненти спінового кутового моменту полягає у наявності еліптичної поляризації еванесцентної хвилі, яка виникає у площині падіння [19]. У випадку лінійної поляризації падаючої хвилі з азимутом  $\pm 45^\circ$  для спінового кутового моменту виникають «вертикальні» компоненти в  $x$ -напрямку, що утворюються внаслідок обертання векторів електричного та магнітного поля при проекції на горизонтальну площину  $yOz$  (Рис. 3.) [9]. Електрична та магнітна складові вертикального спіну є протилежно напрямленими; однак при взаємодії поля з речовиною переважний вплив здійснюватимуть характеристики поля, що визначаються його електричною складовою, тому при взаємодії еванесцентного поля з частинками електрична складова вертикального спіну буде породжувати відповідний обертальний момент [9, 10].
- 3) Густина імпульсу еванесцентного поля можна розкласти на дійсну та уявну частини; при цьому, дійсна частина імпульсу поля, що містить спінову та орбітальну складові, асоціюється з дійсним значенням вектора Умова-Пойнтінга, а уявна частина ( $y$ -компонента) задає потік, так званої, «накопиченої» енергії [9, 10, 12, 13]. Уявна частина густини імпульсу еванесцентного поля містить вертикальну  $x$ - та поперечну  $y$ -компоненти. Вертикальна компонента уявного імпульсу (уявна частина орбітального імпульсу) при взаємодії з частинками формує градієнтну силу, що діє в  $x$ -напрямку, в той час, як поперечна компонента виникає при лінійній поляризації з азимутом  $\pm 45^\circ$  та задаватиме поперечну поляризаційно-залежну силу [9].

Таким чином в еванесцентному полі може виникати три різні компоненти густини імпульсу поля та три компоненти спінового кутового моменту (спіну) в залежності від поляризації падаючого пучка [9] (Рис. 3). При взаємодії еванесцентного поля з частинками, наявність тої чи іншої компоненти густини імпульсу чи спіну буде породжувати відповідну оптичну силу та обертальний момент, що діятимуть на частинку. В [9] зазначається, що вплив на частинки таких характеристик поля, як поперечної дійсної (спінової) та уявної компоненти оптичного імпульсу, поперечного та вертикального спінового кутового моменту є недостатньо вивченими. Нещодавні роботи демонструють результати теоретичних та експериментальних досліджень саме такого впливу [9–12, 36, 49–52, 56, 57].

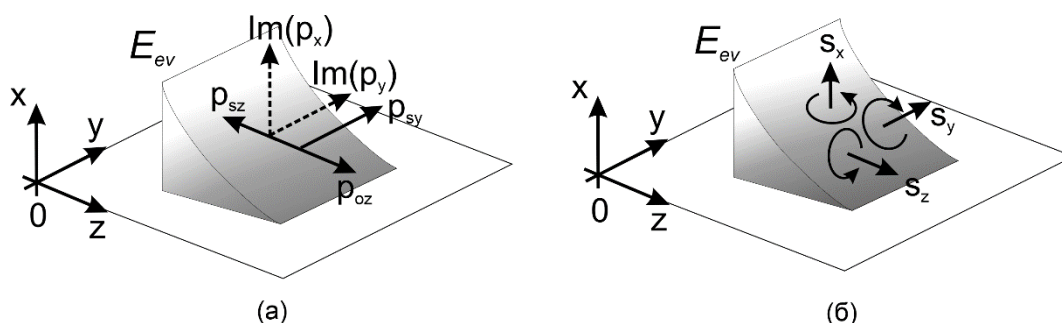


Рис. 3. Компоненти оптичного імпульсу (а) та спіну (б) еванесцентної хвилі [9]:  $p_{oz}$  — поздовжня компонента орбітального імпульсу;  $p_{sz}$ ,  $p_{sy}$  — поздовжня та поперечна компоненти спінового імпульсу;  $\text{Im}(p_x)$ ,  $\text{Im}(p_y)$  — вертикальна та поперечна компоненти уявного імпульсу;  $s_x$ ,  $s_y$ ,  $s_z$  — вертикальна, поперечна та поздовжня компоненти спіну відповідно;  $E_{ev}$  — амплітуда електричного поля еванесцентної хвилі.

### ДІЯ ОПТИЧНИХ СИЛ ТА ОБЕРТАЛЬНИХ МОМЕНТІВ НА ОБ'ЄКТИ В ЕВАНЕСЦЕНТНОМУ ПОЛІ

Для створення теоретичних моделей розрахунку оптичних сил, що діють на частинки в еванесцентному полі [40–46], дослідження яких починається з 1995 року, обирали діелектричні сфери [23, 24], частинки Мі [25], магнітно-діелектричні частинки [26]. Для металічних частинок теоретичний аналіз наводиться в [27–29]; також існує певний набір робіт, де наводяться результати досліджень впливу оптичних сил на металічні частинки в плазмонних оптичних пінцетах та маніпуляторах [30–33].

Для опису взаємодії поля з частинками з можливістю розрахунку оптичних сил використовуються різні підходи: електромагнітний підхід [4, 23, 25, 28, 47], дипольне наближення [9, 42], наближення Мі [9, 25, 42], геометро-оптичне наближення [4, 58], метод імпульсів [9, 10, 12, 16, 46]. Поділ оптичного імпульсу та кутового моменту еванесцентного поля на набір поляризаційно-залежних та поляризаційно-незалежних спінових та орбітальних компонент, дозволяє виділити дію компонент оптичної сили та оберտального моменту в залежності від природи останніх [9, 10, 12]. Найбільш повний аналіз та класифікацію оптичних сил та обертальних моментів, що діють на частинки в еванесцентному полі, та їх зв'язок з відповідними компонентами оптичного імпульсу та спіну наводиться в [9]. Вплив тої чи іншої компоненти оптичної сили та обертального моменту задається не тільки поляризацією падаючого пучка, але й значною мірою залежить від типу частинок та відповідного наближення для опису взаємодії поля з частинкою [9].

Орбітальний імпульс еванесцентного поля є причиною виникнення поздовжньої сили тиску випромінювання, що діє в  $z$ -напрямку. Орбітальний імпульс еванесцентного поля виникає незалежно від поляризації падаючого випромінювання. Однак, напруженість еванесцентного поля для  $p$ -поляризації падаючої хвилі є більшою ніж для  $s$ -поляризації [19]. Тому, значення оптичної сили, пов'язаної з передачею орбітального імпульсу, при  $p$ -поляризації падаючої хвилі буде більшим [22]. Передача орбітального імпульсу еванесцентного поля при взаємодії з частинками є досить добре вивченою та з успішністю використовується в прикладних цілях, починаючи ще з 1992 р. [9].

Перше експериментальне дослідження механічного впливу з боку еванесцентного поля на частинки демонструє робота [22] 1992 р. Тут досліджується рух сферичних мікрочастинок в еванесцентному полі, при ПВВ на поверхні призми, під дією сили тиску випромінювання в поздовжньому напрямку. Поздовжній рух частинок також спостерігається в еванесцентному полі хвилеводів [34, 35]. Крім цього, у даному



випадку виникають також градієнтні оптичні сили в поперечному та вертикальному напрямках.

Градієнтна оптична сила у вертикальному напрямку  $x$ , що виникає внаслідок просторової неоднорідності інтенсивності еванесцентного поля, пов'язана з уявною компонентою орбітального імпульсу [9]. Градієнтні оптичні сили з успіхом використовуються для оптичного захоплення та маніпулювання частинками у ближньому полі [4, 28, 29].

Наявність еліптичної поляризації еванесцентної хвилі, що виникає в площині падіння, та просторової неоднорідності еванесцентного поля у вертикальному напрямку  $x$  створюють умови для формування поляризаційно-незалежного поперечного спінового кутового моменту (поперечного спіну), що виникає навіть у випадку лінійної поляризованої падаючої хвилі [9]. Дана компонента спіну є «незвичайною», оскільки її напрямок дії є ортогональним до напрямку хвильового вектора, на відміну від традиційного спіну, властивого циркулярно поляризованій хвилі, напрямок дії якого є поздовжнім [12]. Як зазначено в [9, 12], вперше виникнення такого поперечного спіну було описано для поверхневих плазмонів-поляритонів [8] в 2012 р. При взаємодії еванесцентної хвилі з частинками, наявність поперечного спіну буде зумовлювати виникнення відповідного обертового моменту в площині  $xOz$  (Рис. 3) [9, 10]. Експериментальне підтвердження цього твердження наводиться в роботі [39], де демонструється обертання частинок Мі в еванесцентному полі, збудженому лінійно поляризованим падаючим пучком, в площині, що збігається з площиною падіння [9]. Виникнення обертового моменту в даному випадку пояснюється дією поздовжньої сили тиску випромінювання та вертикальної градієнтної сили, однак як зазначається в [9], даний обертовий момент породжується поперечним спіновим кутовим моментом еванесцентного поля.

Еванесцентна хвиля, що збуджується циркулярно чи еліптично поляризованою падаючою хвилею, характеризується наявністю поперечної компоненти густини спінового імпульсу [9, 11]. В [9] зазначено, що дана «незвичайна» поперечна компонента оптичного імпульсу, напрямлена ортогонально до напрямку хвильового вектора ( $z$ -напрямок), визначається ступенем циркулярної поляризації падаючої хвилі, та отожднюється з фундаментальним спіновим імпульсом, введеним в теорію поля Белінфанте [36]. Для неструктурованих оптичних полів, наявність поперечного спінового імпульсу не спостерігається та носить «віртуальний» характер, а напрям переносу енергії (вектор Умова-Пойнтінга), який асоціюється з напрямком хвильового вектора, буде визначатись дією канонічного (орбітального) імпульсу [9]. У випадку, зокрема, еванесцентного поля, вектор Умова-Пойнтінга визначатиметься сумарною дією спінового та орбітального імпульсу, та не співпадатиме з напрямком хвильового вектора [11]. Вперше наявність поперечної компоненти оптичного імпульсу було помічено Федоровим у 1955 р. [37], як поляризаційно-залежну поперечну компоненту вектора Умова-Пойнтінга в еванесцентному полі, що збуджувалось циркулярно поляризованою падаючою хвилею [9]. Експериментальне підтвердження наявності поперечного спінового імпульсу у еванесцентному полі було здійснено у 2015 році через дослідження дії поперечної поляризаційно-залежної сили на анізотропний нанооб'єкт, розміщений у еванесцентному полі, у випадку циркулярної поляризації падаючої хвилі [11]. При цьому, як зазначається в [11], сила, пов'язана зі спіновим імпульсом, не є за природою силою тиску випромінювання, а виникає через дифракцію на краях об'єкта, що підтверджує «віртуальний» характер поперечного спінового імпульсу [11].

В [46] наводиться теоретичний аналіз дії такої поперечної компоненти оптичної сили, пов'язаної зі спіновим імпульсом, на хіральні частинки в залежності від розміру та форми останніх. Поперечні оптичні сили, що діють на металічні частинки, які локалізовані на поверхнях, досліджуються також в [43, 47, 48].

Для еванесцентної хвилі, що збуджується циркулярно поляризованою падаючою хвилею, характерним є присутність спінового кутового моменту, що діє в поздовжньому напрямку, як і для випадку класичного спіну циркулярно поляризованого пучка [9, 12]. Наявність спінового кутового моменту супроводжуватиметься виникненням обертального моменту частинки в площині, поперечній до напрямку поширення хвилі ( $xOy$ ) [9]. В роботі [38] 1998-го року наводиться теоретичний аналіз компонент обертального моменту, що діють на сферичну частинку, в еванесцентному полі, збудженому циркулярно поляризованим гаусівським пучком. Показано, що в даному випадку існують дві компоненти обертального моменту, що визначаються кутовим моментом падаючого пучка (класичним спіном), а наявність третьої компоненти обертального моменту не залежить від циркулярної поляризації останнього, що може бути пояснено в рамках вищезазначеної концепції поперечного поляризаційно-незалежного спіну [9].

У випадку збудження еванесцентної хвилі лінійно поляризованою падаючою хвилею з азимутом  $\pm 45^\circ$ , як вже було вище зазначено, виникає поперечна компонента оптичного імпульсу, пов'язана з уявною частиною вектора Умова-Пойнтінга [9, 10, 12]. Дія такої складової не спостерігається для звичайних, неструктурованих оптичних полів, а в електродинаміці відображає потік «накопиченої» енергії [9, 13]. Для еванесцентного поля, наявність поперечної компоненти оптичного імпульсу, пов'язаного з уявною частиною вектора Умова-Пойнтінга, теоретично передбачено в [9, 12]. Результати теоретичного аналізу впливу на частинки поперечної поляризаційно-залежної оптичної сили, пов'язаної з поперечною уявною компонентою оптичного моменту наводяться в [9]. Експериментальні моделі по дослідженню впливу такої поперечної складової оптичної сили в еванесцентному полі розглянуті в [49–52, 56, 57]. Так, в [49] теоретично визначено умови співрозмірності оптичних сил та продемонстровано переміщення плоскопаралельної мікропластинки поліетилентерефталату в напрямку, відмінному від поздовжнього, за умови ПВВ на зовнішній поверхні поділу, що пояснюється взаємодією еванесцентної хвилі з частинками золота, нанесеним на поверхню пластинки. В [52] розглядається модель керування напрямком руху частинок золота над поверхнею біологічного зрізу, з урахуванням дії поперечної компоненти оптичної сили, шляхом зміни параметрів зондуючого пучка. В [56] представлено схему маніпулювання рухом еритроцитів в плазмі крові в поперечному напрямку, що досягається використанням двох падаючих пучків з протилежними азимутами поляризації  $+45^\circ$  та  $-45^\circ$  та кутами падіння. Слід зазначити, що останні роботи демонструють результати, які можуть бути використані для розв'язання прикладних задач біомедицини.

Як було вище зазначено, еванесцентна хвиля, що виникає у випадку лінійно поляризованої падаючої хвилі з азимутом  $\pm 45^\circ$ , характеризується також наявністю спінового кутового моменту, що діє у вертикальному  $x$ -напрямку (вертикального спіну) [9]. Вертикальний спін спричиняє дію на частинки обертального моменту в горизонтальній площині ( $yOz$ ) [9]. Результати теоретичного дослідження компоненти обертального моменту, спричиненого вертикальним спіном еванесцентного поля, на нано- та мікрооб'єкти, наводяться в [9, 56]. Зокрема, в [9] аналізується величина такого обертального моменту на частинки золота, в залежності від розміру останніх, та порівнюється з величиною обертального моменту, спричиненого іншими

компонентами спінового кутового моменту еванесцентної хвилі. В [56] проаналізовано величину обертального моменту в горизонтальній площині, що діє на еритроцит в еванесцентному полі, в залежності від зміни кута падіння пучка, та визначено умову, коли вплив такого обертального моменту буде максимальним. Однак, очевидної експериментальної демонстрації обертання частинок в горизонтальній площині, що пояснювалось би дією вертикального спіну еванесцентної хвилі, не спостерігається в наведених роботах, лише зазначається, що вертикальний спін може бути причиною обертання мікропластинок в комплексній дії разом із обертальним моментом внаслідок двопронезаломлення [49].

В [9] також аналізується вплив розміру частинок на значення оптичних сил та обертальних моментів, пов'язаних з характеристиками поля. Зазначається, що компоненти обертальних моментів, пов'язані із компонентами спіну, як і сила тиску, спричинена орбітальним імпульсом поля, виникають незалежно від типу частинок. В той час, поперечні оптичні сили, пов'язані з поперечним спіновим імпульсом та поперечною уявною компонентою оптичного імпульсу, не виникають у випадку Релеївських частинок, взаємодія з полем яких описується дипольним наближенням, але стають значними у випадку частинок більшого розміру (диполь-дипольна взаємодія, частинки  $Mi$ ) [9].

Існує також ряд робіт [40–42, 44, 45], що розглядає поведінку частинок в стоячих еванесцентних хвилях, що утворюються двома протилежно напрямленими падаючими пучками. Зокрема, в [40] порівнюється характер руху в часі релеївських частинок та частинок що описуються теорією Лоренца-Мі, в таких структурах. Досліджується формування двомірних оптичних пасток стоячими еванесцентними хвилями [42]. В таких двомірних структурах досліджується виникнення еліптичного обертання частинок [44]. Розглядається також двонапрявлене сортування частинок золота протилежно напрямленими еванесцентними хвилями [45].

Слід зазначити, що деякі роботи присвячені оптичному захопленню [28–30, 33] та маніпулюванню частинками еванесцентними хвилями [31, 43], інші розглядають безпосередній рух частинок в еванесцентному полі [22, 32, 34, 35, 41].

### **ВПЛИВ ПОПЕРЕЧНИХ КОМПОНЕНТ ОПТИЧНОГО ІМПУЛЬСУ ТА СПІНУ ЕВАНЕСЦЕНТНИХ ХВИЛЬ В БІОМЕДИЧНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ**

Застосування оптичних пінцетів в біомедичних дослідженнях набуло широкого поширення [4]. Однак, на відміну від добре вивченого впливу поздовжньої компоненти оптичної сили [4, 59], результати, які демонструють механічний вплив поперечних компонент оптичного імпульсу та спіну еванесцентних хвиль в задачах біомедицини, наведені в [52, 56, 57]. Тут розглянуті моделі маніпулювання нано- та мікрооб'єктами в біологічному середовищі, під дією, зокрема, поперечної компоненти оптичної сили, що виникає у випадку збудження еванесцентного поля лінійно поляризованою падаючою хвилею з азимутом  $\pm 45^\circ$ . Так, в [52] розглядається можливість керованого переміщення наночастинок золота (діаметром 50 нм) в приповерхневому шарі тканинної рідини над поверхнею двопронезаломлюючого зрізу біотканини (дерма), що може бути застосовано з терапевтичною метою в задачах наномедицини [53]. Схема експериментальної реалізації такого підходу наведена на Рис. 4 (а). В даному випадку еванесцентна хвиля збуджується над поверхнею дерми в середовищі тканинної рідини. Умови формування поперечної компоненти оптичного імпульсу еванесцентної хвилі задаються параметрами зондуємого пучка (азимутом поляризації  $\varphi$  та кутом падіння  $\psi$ ) на першій поверхні зрізу. Результуючий напрямок переміщення частинок золота  $\vec{k}$  над поверхнею зрізу задається кутом  $\alpha$  до поздовжнього напрямку  $z$  в площині  $yOz$ , що

визначається дією поздовжньої та поперечної компоненти оптичної сили. При цьому, результати розрахунків показують, що актуалізація дії поперечної компоненти оптичної сили ( $\alpha \approx 10^\circ - 12^\circ$ ) досягається в досить широкому інтервалі кутів падіння зондуєчого пучка ( $\psi \approx 60^\circ - 80^\circ$ ) при відповідних значеннях азимута поляризації  $\varphi$  та товщини зрізу  $d$  [52]. Таким чином, зміна параметрів зондуєчого пучка, таких, як кут падіння, та азимут поляризації, дозволяє керувати напрямком переміщення наночастинок в приповерхневому шарі біологічного об'єкту, що дозволяє розширити можливості транспортування дозованих порцій ліків з метою обробки патологічних біоструктур [52]. Підходи поляризаційної оптики також з успішністю використовуються для діагностики патологій біотканин [54].

Однак, реалізація ПВВ на поверхні дерми є складною практичною задачею через неоднорідний рельєф зрізу тканини [55]. Реалізація вищезазначеного підходу передбачає використання додаткової оптичної пастки для утримання наночастинок над поверхнею зрізу, в межах області дії еванесцентного поля [44]. Експериментальне рішення такої задачі дозволило би розширити можливості неінвазивного методу керування мікродозами речовин [53].

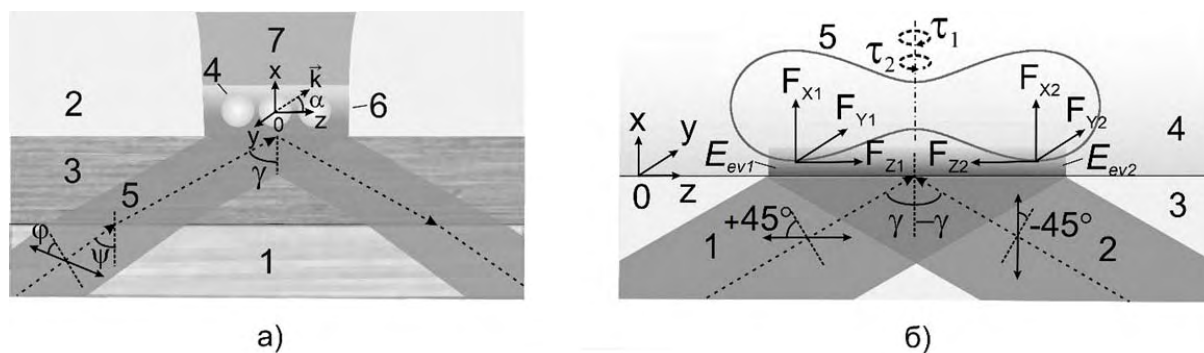


Рис. 4. Моделі застосування механічного впливу еванесцентних хвиль для задач біомедицини: а) Схема керування рухом частинок золота над поверхнею біологічного зрізу [52]: 1 — призма; 2 — тканинна рідина; 3 — біологічний зріз (дерма); 4 — частинки золота; 5 — падаючий пучок під кутом  $\gamma$ , що формує еванесцентну хвилю 6; 7 — додаткова оптична пастка для утримання частинок над поверхнею зрізу;  $\varphi$ ,  $\psi$  — азимут поляризації та кут падіння зондуєчого пучка;  $\vec{k}$  — результуючий напрямок переміщення частинок золота над поверхнею зрізу, що задається кутом  $\alpha$  до поздовжнього напрямку  $z$ ; б) Схема керування рухом еритроцитів у плазмі крові в поперечному напрямку [56, 57]: 1, 2 — падаючі пучки під кутами  $\gamma$ ,  $-\gamma$ , з азимутами поляризації  $+45^\circ$  та  $-45^\circ$ , що формують еванесцентні хвилі  $E_{ev1}$  та  $E_{ev2}$ ; 3 — призма, 4 — плазма крові, 5 — еритроцит;  $F_{x1}$ ,  $F_{y1}$ ,  $F_{z1}$ ,  $\tau_1$ ,  $F_{x2}$ ,  $F_{y2}$ ,  $F_{z2}$ ,  $\tau_2$  — компоненти оптичних сил та обертальні моменти для кожної з еванесцентних хвиль відповідно.

З метою пошуку експериментальних підходів формування еванесцентних полів для біомедичних застосувань було запропоновано також дослідити вплив еванесцентної хвилі на еритроцити в плазмі крові [56, 57]. В даному випадку мова йде про інвазивні впливи через практично однакові значення показників заломлення стінок кровоносних судин та плазми [55] і формування ПВВ на межі поділу «дерма-кровоносна судина». Теоретичні та експериментальні підходи оптичного маніпулювання еритроцитами вже розглядалися для заломлених пучків [58], в еванесцентному полі хвилеводів [59], в ближньому полі при використанні двох еванесцентних хвиль [62]. Зокрема, наводяться результати як поступального та обертального руху [58–62], так і деформації еритроцитів [62] під дією оптичного випромінювання. Однак, на відміну від попередніх досліджень, в [56, 57] розглядається модель керування рухом еритроцитів в поперечному напрямку, під дією поперечної компоненти оптичної сили. Для опису взаємодії еванесцентного поля з еритроцитом, вільно плаваючим в плазмі крові, форма

поверхні еритроцита моделюється у вигляді двоввігнутого дискоїда [63] та може бути представлена набором площадок трикутної форми [58]. Результати розрахунків показують, що величина поздовжньої компоненти оптичної сили, що діє на еритроцит, є на порядок більшою, ніж поперечної [56, 57]. Тому для демонстрації переміщення еритроцита в поперечному напрямку пропонується використання двох лінійно поляризованих падаючих пучків з азимутами поляризації  $+45^\circ$  та  $-45^\circ$  відповідно. В даному випадку, еванесцентні хвилі поширюються в протилежних напрямках, тому поздовжні компоненти оптичних сил, що діють на еритроцит, та обертальні моменти, спричинені вертикальним спіном, є взаємно скомпенсованими, а поперечні компоненти взаємно підсилюються [56, 57]. Врахування в'язкості середовища дозволяє оцінити швидкість руху еритроцитів в плазмі крові в поперечному напрямку, в залежності від умов опромінення. Зокрема, при куті падіння пучків  $\gamma = 62^\circ$  швидкість досягає значення близько 9 мкм/с [56]. Наводиться також модель експериментального дослідження такого руху еритроцитів в плазмі крові. Запропонований метод маніпулювання рухом еритроцитів в плазмі крові може бути використаний з метою розширення підходів контролю кровоносної системи [61], наприклад, для відновлення прохідності судин та кровопостачання тканин.

### ВИСНОВКИ

Еванесцентні хвилі володіють складною структурою розподілу поляризаційно-залежних та поляризаційно-незалежних компонент оптичного імпульсу та спіну, що визначають дію на мікро- та нанооб'єкти відповідних компонент оптичної сили та обертального моменту. В загальному випадку, в еванесцентному полі можуть виникати три компоненти оптичної сили та обертального моменту, що робить їх застосування більш привабливим для оптичного захоплення та маніпулювання об'єктами в порівнянні з класичними оптичними пінцетами. Нещодавно досліджені поперечні компоненти оптичного імпульсу та спіну створюють «незвичайний» механічний вплив на частинки, дія якого може бути ортогональною до дії світлового тиску, чи задавати обертання в різних площинах на відміну від поперечної. Практичні реалізації запропонованих методів можуть бути використані для розв'язання прикладних задач, зокрема, в біомедицині: з метою транспортування терапевтичних агентів в патологічно уражені ділянки чи для відновлення прохідності судин та кровопостачання тканин.

### ПОДЯКА

Робота підтримувалась державним фондом в рамках держбюджетної теми кафедри кореляційної оптики Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича: «Застосування оптичних потоків енергії для розв'язання задач мікро- та нанооптики», №0119U100714 (2019–2021 рр.).


### КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ

Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

### Authors' ORCID ID

O.V. Angelsky  <https://orcid.org/0000-0002-5463-8961>

C.Yu. Zenkova  <https://orcid.org/0000-0002-9108-8591>

D.I. Ivanskyi  <https://orcid.org/0000-0001-9588-5603>

### REFERENCES

1. Poynting JH. The momentum of a beam of light. *Atti del IV Congresso Internazionale dei Matematici*. 1909;3:169–74.

2. Poynting JH. The wave-motion of a revolving shaft, and a suggestion as to the angular momentum in a beam of circularly polarised light. *Proc R Soc Lond A*. 1909;82:560–7. <http://doi.org/10.1098/rspa.1909.0060>
3. Ashkin A. Acceleration and trapping of particles by radiation pressure. *Phys Rev Lett*. 1970;24:156–9. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.24.156>
4. Padgett MJ, Molloy J, McGloin D. *Optical Tweezers: Methods and Applications*. CRC Press; 2010. 508 p.
5. Zenkova CYu, Gorsky MP, Ryabyj PA. Phase retrieval of speckle fields based on 2D Hilbert transform. *Optical Memory and Neural Networks*. 2015 Oct;24(4):303–8. <https://doi.org/10.3103/S1060992X15040074>
6. Angelsky OV, Zenkova CYu, Gorsky MP, Ryabiy PA. Search for methods of restoring spatial phase distribution of complex optical fields. *The Open Optics Journal*. 2014;8(1):3–13. <http://doi.org/10.2174/1874328501408010003>
7. Zenkova CYu, Gorsky MP, Ryabiy PA, Angelskaya AO. Additional approaches to solving the phase problem in optics. *Appl Opt*. 2016;55(12):B78–B84. <https://doi.org/10.1364/ao.55.000b78>
8. Bliokh KY, Nori F. Transverse spin of a surface polariton. *Phys Rev A*. 2012 Jul;85(6):061801. <https://doi.org/10.1103/PhysRevA.85.061801>
9. Bliokh KY, Bekshaev AY, Nori F. Extraordinary momentum and spin in evanescent waves. *Nat Commun*. 2014;5:3300. <https://doi.org/10.1038/ncomms4300>
10. Bliokh KY, Nori F. Transverse and longitudinal angular momenta of light. *Phys Rep*. 2015;592:1–38. <https://doi.org/10.1016/j.physrep.2015.06.003>
11. Antognozzi M, Bermingham C, Harniman R, Simpson S, Senior J, Hayward R, et al. Direct measurements of the extraordinary optical momentum and transverse spin-dependent force using a nano-cantilever. *Nat Phys*. 2016;12:731–5. <https://doi.org/10.1038/nphys3732>
12. Bekshaev AY. Dynamical characteristics of an electromagnetic field under conditions of total reflection. *J Opt*. 2018;20(4):045604. <https://doi.org/10.1088/2040-8986/aab035>
13. Jackson JD. *Classical electrodynamics*. New York: John Wiley & Sons; 1998. 832 p. ISBN: 978-0-471-30932-1
14. Andrews DL. *Structured light and its applications: An introduction to phase-structured beams and nanoscale optical forces*. Amsterdam: Elsevier; 2008. 400 p. ISBN: 9780123740274
15. Angelsky OV, Polyanskii PV, Mokhun II, Zenkova CYu, Bogatyryova HV, Felde CV, et al. Optical measurements: polarization and coherence of light fields. *Modern Metrology Concerns*, Dr. Luigi Cocco (Ed.). INTECH Open Access Publisher; 2012. pp. 263–316. <https://doi.org/10.5772/36553>
16. Bekshaev AY, Angelsky OV, Sviridova SV, Zenkova CYu. Mechanical action of inhomogeneously polarized optical fields and detection of the internal energy flows. *Advances in Optical Technologies*. 2011;723901. <https://doi.org/10.1155/2011/723901>
17. Keigo I, editor. *Boundaries, near-field optics and near-field imaging*. In: *Elements of photonics*. Vol. I: In Free space and special media. New York: John Wiley & Sons; 2002. p. 110–65. ISBN: 0-471-83938-8
18. de Fornel F. *Evanescence waves: From newtonian optics to atomic optics*. Berlin: Springer; 2001. 270 p. ISBN: 978-3-540-65845-0
19. Axelrod D. Chapter 1 – Evanescent excitation and emission. In: Anda Cornea, P. Michael Conn, editors. *Fluorescence microscopy: Super-resolution and other novel techniques*. 1st ed. Waltham: Elsevier; 2014. p. 1–14. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409513-7.00001-4> ISBN: 978-0-12-409513-7
20. Jozefowski L, Fiutowski J, Kawalec T, Rubahn H-G. Direct measurement of the evanescent-wave polarization state. *J Opt Soc Am B*. 2007;24:624–8. <https://doi.org/10.1364/JOSAB.24.000624>
21. Kawalec T, Józefowski L, Fiutowski J, Kasprzewicz MJ, Dohnalik T. Spectroscopic measurements of the evanescent wave polarization state. *Opt Commun*. 2007;274(2):341–6. <https://doi.org/10.1016/j.optcom.2007.02.042>
22. Kawata S, Sugiura T. Movement of micrometer-sized particles in the evanescent field of a laser beam. *Opt Lett*. 1992;17(11):772–4. <https://doi.org/10.1364/OL.17.000772>
23. Almaas E, Brevik I. Radiation forces on a micrometer-sized sphere in an evanescent field. *Opt Soc Am B*. 1995;12:2429–38. <https://doi.org/10.1364/JOSAB.12.002429>
24. Chang S, Kim J, Jo J, Lee S. Optical force on a sphere caused by the evanescent field of a Gaussian beam; effects of multiple scattering. *Opt Commun*. 1997;139(4–6):252–61. [https://doi.org/10.1016/S0030-4018\(97\)00144-2](https://doi.org/10.1016/S0030-4018(97)00144-2)
25. Bekshaev A, Bliokh K, Nori F. Mie scattering and optical forces from evanescent fields: A complex-angle approach. *Opt Express*. 2013;21(6):7082–95. <https://doi.org/10.1364/OE.21.007082>
26. Nieto-Vesperinas M, Saenz J. Optical forces from an evanescent wave on a magnetodielectric small particle. *Opt Lett*. 2010;35(23):4078–80. <https://doi.org/10.1364/OL.35.004078>
27. Sasaki K, Hotta J, Wada K, Masuhara H. Analysis of radiation pressure exerted on a metallic particle within an evanescent field. *Opt Lett*. 2000;25(18):1385–7. <https://doi.org/10.1364/OL.25.001385>



28. Gaugiran S, Gétin S, Fedeli J, Derouard J. Polarization and particle size dependence of radiative forces on small metallic particles in evanescent optical fields. Evidences for either repulsive or attractive gradient forces. *Opt Express*. 2007;15(13):8146–56. <https://doi.org/10.1364/OE.15.008146>
29. Ganic D, Gan X, Gu M. Trapping force and optical lifting under focused evanescent wave illumination. *Opt Express*. 2004;12(22):5533–8. <https://doi.org/10.1364/OPEX.12.005533>
30. Volpe G, Quidant R, Badenes G, Petrov D. Surface plasmon radiation forces. *Phys Rev Lett*. 2006;96:238101. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.96.238101>
31. Righini M, Volpe G, Girard C, Petrov D, Quidant R. Surface plasmon optical tweezers: tunable optical manipulation in the femtonewton range. *Phys Rev Lett*. 2008 May 6;100(18):186804 <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.100.186804>
32. Wang K, Schonbrun E, Crozier K. Propulsion of gold nanoparticles with surface plasmon polaritons: evidence of enhanced optical force from near-field coupling between gold particle and gold film. *Nano Lett*. 2009;9(7):2623–9. <https://doi.org/10.1021/nl900944y>
33. Min C, Shen Z, Shen J, Zhang Y, Fang H, Yuan G., et al. Focused plasmonic trapping of metallic particles. *Nature Commun*. 2013;4(1):2891. <https://doi.org/10.1038/ncomms3891>
34. Kawata S, Tani T. Optically driven Mie particles in an evanescent field along a channeled waveguide. *Opt Lett*. 1996;21(21):1768–70. <https://doi.org/10.1364/OL.21.001768>
35. Yang A, Lerdsuchatawanich T, Erickson D. Forces and transport velocities for a particle in a slot waveguide. *Nano Lett*. 2009;9(3):1182–8. <https://doi.org/10.1021/nl803832q>
36. Belinfante F. On the current and the density of the electric charge, the energy, the linear momentum and the angular momentum of arbitrary fields. *Physica*. 1940;7(5):449–74. [https://doi.org/10.1016/S0031-8914\(40\)90091-X](https://doi.org/10.1016/S0031-8914(40)90091-X)
37. Fedorov F. To the theory of total reflection. *J Opt*. 2013;15(1):014002. <https://doi.org/10.1088/2040-8978/15/1/014002>
38. Chang S, Lee SS. Optical torque exerted on a sphere in the evanescent field of a circularly-polarized Gaussian laser beam. *Optics Commun*. 1998;151(4–6):286–96. [https://doi.org/10.1016/S0030-4018\(98\)00067-4](https://doi.org/10.1016/S0030-4018(98)00067-4)
39. Song YG, Chang S, Jo JH. Optically induced rotation of combined Mie particles within an evanescent field of a Gaussian beam. *Jpn J Appl Phys*. 1999;38(Part 2, No. 4A):L380–3. <https://doi.org/10.1143/JJAP.38.L380>
40. Šiler M, Čizmár T, Šerý M, Zemánek P. Optical forces generated by evanescent standing waves and their usage for sub-micron particle delivery. *Appl Phys B*. 2006;84(1–2):157–65. <https://doi.org/10.1007/s00340-006-2235-9>
41. Šiler M, Čizmár T, Jonáš A, Zemánek P. Surface delivery of a single nanoparticle under moving evanescent standing-wave illumination. *New J Phys*. 2008;10(11):113010. <https://doi.org/10.1088/1367-2630/10/11/113010>
42. Šiler M, Zemánek P. Parametric study of optical forces acting upon nanoparticles in a single, or a standing, evanescent wave. *J Opt*. 2011;13(4):044016. <https://doi.org/10.1088/2040-8978/13/4/044016>
43. Paul N, Kemp B. Optical manipulation of small particles on the surface of a material. *J Opt*. 2016;18(8):085402. <https://doi.org/10.1088/2040-8978/18/8/085402>
44. Liu L, Kheifets S, Ginis V, Di Donato A, Capasso F. Elliptical orbits of microspheres in an evanescent field. *PNAS*. 2017;114(42):11087–91. <https://doi.org/10.1073/pnas.1714953114>
45. Ploschner M, Čizmár T, Mazilu M, Di Falco A, Dholakia K. Bidirectional optical sorting of gold nanoparticles. *Nano Lett*. 2012;12(4):1923–7. <https://doi.org/10.1021/nl204378r>
46. Hayat A, Mueller JPB, Capasso F. Lateral chirality-sorting optical forces. *PNAS*. 2015;112(43):13190–4. <https://doi.org/10.1073/pnas.1516704112>
47. Wang SB, Chan CT. Lateral optical force on chiral particles near a surface. *Nat Commun*. 2014;5(1):3307. <https://doi.org/10.1038/ncomms4307>
48. Rodríguez-Fortuño F, Engheta N, Martínez A, Zayats A. Lateral forces on circularly polarizable particles near a surface. *Nat Commun*. 2015;6(1):8799. <https://doi.org/10.1038/ncomms9799>
49. Angelsky OV, Hanson SG, Maksimyak PP, Maksimyak AP, Zenkova CYu, Polyanskii PV, et al. Influence of evanescent wave on birefringent microplates. *Opt Express*. 2017;25(3):2299–311. <https://doi.org/10.1364/OE.25.002299>
50. Zenkova CYu, Ivanskyi DI, Kiyashchuk TV. Optical torques and forces in birefringent microplate. *Opt Appl*. 2017;47(3):483–492. <https://doi.org/10.5277/oa170313>
51. Maksimyak PP, Maksimyak AP, Ivanskyi DI, Kiyashchuk TV. Extraordinary spin momenta in birefringent structures. *Opt Mem Neural Network*. 2017;26(2):157–64. <https://doi.org/10.3103/S1060992X17020059>
52. Angelsky OV, Zenkova CYu, Ivanskyi DI. Mechanical action of the transverse spin momentum of an evanescent wave on gold nanoparticles in biological objects media. *J Optoelectron Adv M*. 2018;20(5–



- 6):217–23. Available from: <https://joam.inoe.ro/articles/mechanical-action-of-the-transverse-spin-momentum-of-an-evanescent-wave-on-gold-nanoparticles-in-biological-objects-media/fulltext>
53. Sabatini DM, editor. *Leading Edge Nanotechnology. Research. Developments.* New York: Nova Science Publishers; 2007. 304 p. ISBN: 9781600219009
54. Angelsky OV, Ushenko YA, Dubolazov AV, Telenha OY. The interconnection between the coordinate distribution of Mueller-matrixes images characteristic values of biological liquid crystals net and the pathological changes of human tissues. *Adv Opt Technol.* 2010;130659. <http://doi.org/10.1155/2010/130659>
55. Tuchin VV, editor. *Handbook of optical biomedical diagnostics, Volume 1: Light-Tissue Interaction.* 2nd ed. New York: SPIE; 2016. 864 p. ISBN: 9781628419092. <https://doi.org/10.1117/3.2219603>
56. Angelsky O, Maksymyak P, Zenkova C, Maksymyak A, Hanson S, Ivanskyi D. Peculiarities of control of erythrocytes moving in an evanescent field. *J Biomed Opt.* 2019;24(05):055002. <https://doi.org/10.1117/1.jbo.24.5.055002>
57. Angelsky OV, Zenkova CYu, Maksymyak PP, Ivanskyi DI, Tkachuk VM. Peculiarities of energy circulation in evanescent field. Application for red blood cells. *Opt Mem Neural Network (Information Optics).* 2019;28(1):11–20. <https://doi.org/10.3103/S1060992X19010028>
58. Grover SC, Gauthier RC, Skirtach AG. Analysis of the behavior of erythrocytes in an optical trapping system. *Opt Express.* 2000;7(13):533–9. <https://doi.org/10.1364/OE.7.000533>
59. Ahluwalia BS, Mc Court P, Huser T, Hellesø OG. Optical trapping and propulsion of red blood cells on waveguide surfaces. *Opt Express.* 2010;18(20):21053–61. <https://doi.org/10.1364/OE.18.021053>
60. Yoon Y-Z, Cicuta P. Optical trapping of colloidal particles and cells by focused evanescent fields using conical lenses. *Opt. Express.* 2010;18(7):7076–84. <https://doi.org/10.1364/OE.18.007076>
61. Zhong M, Wei X, Zhou J, Wang Z, Li Y. Trapping red blood cells in living animals using optical tweezers. *Nat Commun.* 2013;4:1768. <https://doi.org/10.1038/ncomms2786>
62. Gu M, Kuriakose S, Gan X. A single beam near-field laser trap for optical stretching, folding and rotation of erythrocytes. *Opt. Express.* 2007;15(3):1369–75. <https://doi.org/10.1364/OE.15.001369>
63. Kugeiko MM, Smuney DA. Estimation of the microphysical parameters for native red blood cells based on the measured optical properties of scattered radiation. *Vestnik BGU. Serija 1, Fizika. Matematika. Informatika [Vestnik of Belarusian State University. Ser. 1, Physics. Mathematics. Informatics].* 2016;1(2):73–8. Available from: <http://elib.bsu.by/handle/123456789/171864> (in Russian)

Обзор

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-15>

УДК 577.3

## ВОДОРОДНАЯ СВЯЗЬ И ДНК: 66-ЛЕТНЯЯ РЕТРОСПЕКТИВА (в кратком изложении)

**Е.С. Крячко***Институт теоретической физики им. Н.Н. Боголюбова НАН Украины,  
ул. Метрологическая, 14-б, Киев, 03143, Украина**e-mail: [e.kryachko@yahoo.com](mailto:e.kryachko@yahoo.com)*

Поступила в редакцию 14 мая 2019 г.

Принята 18 июня 2019 г.

**Актуальность.** Как однажды сказал Ю.П. Благой, памяти которого посвящается настоящая работа: «Молекулярная структура ДНК — знаменитая двойная спираль — стабилизируется молекулами воды и ионами металлов». Центральным, ключевым взаимодействием, определяющим как двухспиральное строение ДНК, так и ее функционирование (генетический код, репликация, мутагенез), есть водородно-связанное взаимодействие.

**Цель работы.** Демонстрация многообразных проявлений водородной связи в структуре и функционировании ДНК.

**Материалы и методы.** В работе было использовано компьютерное моделирование, основанное на методе функционала плотности.

**Результаты.** В работе представлен широкий спектр водородно-связанных взаимодействий, определяющих ключевые стороны как структуры ДНК, так и функциональные особенности, относящиеся к наследственности (репликация, мутагенез).

**Выводы.** С одной стороны, в приоткрытых парах со встроенной молекулой воды на внешней водородной связи создаются более благоприятные условия для переходов протонов между основаниями по центральной водородной связи. В этом случае водородные связи оснований в меньшей степени препятствуют переходу протона из-за меньшего электростатического отталкивания (большого расстояния) между ними. Поэтому приоткрытые пары с большей вероятностью могут быть источником образования таутомерных форм нуклеиновых оснований и обуславливать вероятный механизм образования точечных мутаций в ДНК. При этом центральные водородные связи с участием иминогрупп оснований в парах остаются неповрежденными.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** Ю.П. Благой; ДНК; водородная связь; гидратация; мутация; перенос протона; приоткрывание двойной спирали ДНК.

## HYDROGEN BONDING AND DNA: 66-YEAR RETROSPECTIVE (in brief)

**E.S. Kryachko***Bogolyubov Institute for Theoretical Physics, 14-b Metrolohichna Str., Kyiv, 03143, Ukraine*

**Background:** As Yu.P. Blagoi, the memory of who is dedicated to this work, once said: "The molecular structure of DNA — the famous double helix — is stabilized by water molecules and metal ions". The central, key interaction that determines both the double-helix structure of DNA and its functioning (the genetic code, replication, mutagenesis) is hydrogen-bonded interaction.

**Objectives:** Demonstration of the diverse manifestations of the hydrogen bond in the structure and functioning of DNA.

**Materials and Methods:** A computer simulation based on the density functional method was used.

**Results:** This paper identifies a wide range of hydrogen-bonded interactions that determine key aspects of both DNA structures and functional features related to heredity (replication, mutagenesis).

**Conclusions:** The preopenness of DNA base pairs with an embedded water molecule on the exterior hydrogen bond create more favorable conditions for proton transitions between bases along the central hydrogen bond. In this case, the hydrogen bonds of the bases to a lesser extent hinder the transition of the proton due to the smaller electrostatic repulsion (due to a larger distance) between them. Therefore, the preopened pairs are likely to form tautomeric forms of nucleic acid bases and to originate a probable mechanism for the formation of point mutations in DNA. At the same time, the central hydrogen bonds with the imino groups of bases in pairs remain intact.

**KEY WORDS:** Yu.P. Blagoi; DNA; hydrogen bond; hydration; mutation; proton transition; preopenness of DNA duplex.

### ВОДНЕВИЙ ЗВ'ЯЗОК І ДНК: 66-РІЧНА РЕТРОСПЕКТИВА (в короткому викладі)

Є.С. Крячко

*Інститут теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова НАН України,  
вул. Метрологічна, 14-б, Київ, 03143 Україна*

**Актуальність.** Як одного разу сказав Ю.П. Благой, пам'яті якого присвячується ця робота: «Молекулярна структура ДНК — знаменита подвійна спіраль — стабілізується молекулами води та іонами металів». Центральною, ключовою взаємодією, визначальною як для двухспіральної будови ДНК, так і її функціонування (генетичний код, реплікація, мутагенез), є воднево-зв'язана взаємодія.

**Мета роботи.** Демонстрація різноманітних проявів водневого зв'язку в структурі та функціонуванні ДНК.

**Матеріали та методи.** В роботі використане комп'ютерне моделювання, засноване на методі функціонала густини.

**Результати.** У роботі наведено широкий спектр воднево-зв'язаних взаємодій, що визначають ключові сторони як структури ДНК, так і її функціональні особливості, які стосуються спадковості (реплікація, мутагенез).

**Висновки.** З одного боку, в напіввідкритих парах з вбудованою молекулою води на зовнішньому водневому зв'язку створюються більш сприятливі умови для переходів протонів по центральному водневому зв'язку між парами. В цьому випадку водневі зв'язки в меншій мірі перешкоджають переходу протона через менше електростатичне відштовхування (через більшу відстань) між ними. Тому напіввідкриті пари з більшою ймовірністю можуть служити джерелом утворення таутомерних форм нуклеїнових основ і обумовлювати ймовірний механізм утворення точкових мутацій в ДНК. При цьому, центральні водневі зв'язки за участю іміногрупи основ в парах залишаються неушкодженими.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** Ю.П. Благой; ДНК; водневий зв'язок; гідратація; мутація; перехід протона; напіввідкриття подвійної спіралі ДНК.

*«Учитывая важнейшую роль водородной связи в формировании структуры биологических молекул, можно сделать заключение, что если бы не было этого вида взаимодействия, то не существовала бы жизнь на Земле в том виде, в котором она реализуется».*

Ю. П. Благой [1]

### ПОСВЯЩЕНИЕ

Памяти Юрия Павловича Благого (29.07.1929–24.04.2018) [2] посвящается: год спустя.

Ю.П. Благой закончил Харьковский государственный университет, физфак, в 1952 г., и, следовательно, 66 лет (что также фигурирует в названии настоящей статьи) своей жизни он отдал науке, в частности молекулярной биофизике. В этом есть что-то знаковое, мне думается.

Настоящая работа представляет собой эссе, а отнюдь не всеобъемлющий обзор, как ожидается, если судить по поводу и теме. Тем не менее, в каком-то смысле, это обзор нескольких взаимосвязанных мыслей, идей и тем, навеянных как дискуссиями лично с Ю.П. Благим, так и его работами, и изложенных в некотором «полифоническом» формате, который был мною выбран по одной причине — наиболее последовательно рассказать о водородных связях в ДНК и их роли в механизме образования точечных мутаций в аденин-тиминовой паре ДНК, «приоткрываемой» молекулой воды.

Работа Дж. Уотсона и Ф. Крика [3] по расшифровке структуры двойной спирали ДНК (дезоксирибонуклеиновой кислоты) вышла в журнале Nature 25 апреля 1953 г. За

открытие структуры молекулы ДНК они совместно с Морисом Х.Ф. Уилкинсом были удостоены Нобелевской премии по физиологии и медицине в 1962 г. 40-летию открытия ДНК был посвящен выпуск *Анналов Нью-Йоркской Академии наук* [4]. 50-летний юбилей расшифровки структуры ДНК был отмечен в *Nature* статьями [5] и [6] и коллекцией статей "The double helix — 50 years" [6–24] (включая оригинальные [8, 9]), вводная статья к которой под названием "The eternal molecule" («Вечная молекула») была написана редакторами журнала [7] и начинается словами: «Немногие молекулы так пленяют, как ДНК. Она увлекает ученых, вдохновляет художников и бросает вызов обществу. Во всех смыслах это современная икона. Определяющим моментом для исследования ДНК стало открытие ее структуры полвека назад. 25 апреля 1953 года в статье в *Nature* Джеймс Уотсон и Фрэнсис Крик описали переплетенные объятия двух нитей дезоксирибонуклеиновой кислоты. При этом они предоставили основу для понимания молекулярного повреждения и восстановления, репликации и наследования генетического материала, разнообразия и эволюции видов».

Отмечу также, что Маклин Маккарти, автор работы [11], — единственный доживший до 50-летия открытия ДНК соавтор Освальда Эвери и Колина Маклауда, которые вместе в 1944 г. «сделали замечательное открытие, что ДНК является материалом наследственности» (*Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. J. Expt. Medicine. 1944; 79(2):137–158; Reproduced in Molecular Medicine. 1995; 1(4): 344–365*). Это опередило на десятилетие открытие структуры самой ДНК. В [11] он делится своими личными взглядами на те времена и на то, как открытие двойной спирали изменило всю логику биологии.

В одной из своих книг [25] Дж. Уотсон в авторском предисловии описал, как планировалось отметить 50-летие открытия ДНК (см. также [26]). 60-летию же открытия была посвящена статья «Двойная спираль ДНК: открытие, приведшее к 60 годам биологической революции» в газете "The Guardian" от 25 апреля 2013 г. Наконец, ежегодно 25 апреля в разных странах мира отмечается Международный День ДНК (DNA Day), в знак признания важности генетики и научных достижений в этой области.

## ПРЕДИСЛОВИЕ

*«Ничего не останавливается и ничего не начинается. Просто так льется жизнь».*

Валентин Ткач «Так говорил вуйко Дезьо»

Повод появления настоящей работы — без сомнения, грустный и печальный. В чем тогда состоит смысл жизни, ежели бытует такая традиция вспоминать о человеке после его кончины? Ответ на этот вопрос был дан еще Николаем Бердяевым: «Смысл жизни в творчестве». И действительно, нетленным, по крайней мере, в пределах жизни его последователей, остается творчество Юрия Павловича Благого. В частности, его книга [27] «Металлокомплексы нуклеиновых кислот в растворах», написанная совместно с В.Л. Галкиным, Г.О. Гладченко, С.В. Корниловой, В.А. Сорокиным и А.Г. Шкорбатовым, изданная «Науковой думкой» в 1991 г., и им же сердечно подаренная «... на добрую память...» (Sic!) автору настоящей работы, тема которой навеяна всем творчеством Юрия Павловича — достаточно взглянуть на первый вышеприведенный эпиграф и сравнить его с названием данной работы. Я вспоминаю те многочисленные случаи, когда имел удовольствие обсуждать с Юрием Павловичем и его сотрудниками бесконечные проблемы структуры ДНК. Размышления и спорные вопросы, которые были результатом этих обсуждений, частично легли в основу данной

работы, которую я изложил в несколько замкнутом и логически последовательном формате.

Опять вспоминаю — ведь это эссе воспоминаний, не правда ли? — слова Ю.П. Благого: «Молекулярная структура ДНК — знаменитая двойная спираль — стабилизируется молекулами воды и ионами металлов...». В самом деле, тема настоящей работы, безусловно, важна — не зря же Г.А. Джеффри (G.A. Jeffrey) и В. Зенгер (W. Saenger) ([28], с. 3) отметили, что «Открытие водородной связи помогло бы кому-то выиграть Нобелевскую премию, но этого не произошло» ("The discovery of the Hydrogen Bond could have won someone the Nobel Prize, but it didn't."). В большей степени, очевидно, это было бы благодаря структуре ДНК.

Я же в настоящей работе остановлюсь на некоторых штрихах темы структуры ДНК, подсказанных самим Юрием Павловичем (см. в [1]): «В образовании биологически активной структуры нуклеиновых кислот (НК), так же как и в работе ферментов, существенное участие принимают низкомолекулярные вещества — ионы металлов, химические соединения различной природы, которые принято относить к биологически активным веществам (БАВ). Некоторые из этих веществ, находясь в микроколичествах в клетке и изменяя структуру НК, нарушают процессы передачи генетической информации (репликацию, транскрипцию и трансляцию), вызывают одно- и двунитевые разрывы в ДНК, блокируют синтез белка и приводят к генетическим аномалиям...», которые я дополню другим его высказыванием ([27], с. 3): «Механизм биологического действия ионов определяется возникновением мутаций типа транзиций и трансверсий при связывании ионов этих металлов с ДНК».

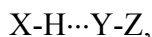
### ВОДОРОДНАЯ СВЯЗЬ: ПАРА КРУПНЫХ МАЗКОВ

Исследование водородной связи как типа меж-, так и внутримолекулярного взаимодействия, было начато в работах Т.С. Мура и Т.Ф. Уинмилла (т.н. "weak union", 1912 г.) [29], М.Л. Хаггинса (который, по-видимому, первым предложил термин «водородная связь» или, по-немецки, "Wasserstoffbrücke" для объяснения таутомерии эфиров ацетоуксусной кислоты; 1919 г.) [30], В.М. Латимера и В.Х. Родебуша ("hydrogen nucleus held between 2 octets constitutes a weak 'bond'; 1920 г.) [31], Л. Полинга [32] и др. Хотя, в действительности, идея слабого специфического взаимодействия, непосредственно обусловленного атомом водорода, была впервые сформулирована В. Нернстом [33] в 1891 г., А. Вернером ("Nebervalenz"; [34]), Г. Оддо и Е. Пукседду [35], а также П. Пфайффером [36]. Г.В. Юхневич [37] считает, что идея водородной связи как частного случая гипервалентной связи была впервые предложена М.А. Ильинским в 1888 г. на заседании Русского физико-химического общества в его докладе о своей теории атомности (валентности). Краткое сообщение о теории Ильинского было опубликовано в 1897 г. в «Журнале Русского физико-химического общества. Часть химическая», Т. 29, вып. 5, под заглавием «Некоторые обобщения теории атомности».

По-видимому, первая ссылка на водородную связь была дана Г.Н. Льюисом [38] в 1923 году ("it seems to me that the most important addition to my theory of valence lies in the suggestion of what has become known as the hydrogen bond.").

С тех пор было дано множество более-менее точных определений водородной связи [39], каждое из которых имеет как свои преимущества, так и недостатки. Наиболее современное определение, данное в «Золотой Книге» IUPAC [40–42] (оригинальный текст следующий: "The hydrogen bond is an attractive interaction between a hydrogen atom from a molecule or a molecular fragment X–H in which X is more

*electronegative than H, and an atom or a group of atoms in the same or a different molecule, in which there is evidence of bond formation. A typical hydrogen bond may be depicted as X–H ··· Y–Z, where the three dots denote the bond. X–H represents the hydrogen bond donor. The acceptor may be an atom or an anion Y, or a fragment or a molecule Y–Z, where Y is bonded to Z.*)», гласит, что водородная связь — это «притягивающее взаимодействие между атомом водорода молекулы или молекулярного фрагмента X–H, в котором X является более электроотрицательным, чем H, и атомом или группой атомов в той же или другой молекуле, у которого существуют признаки образования связи. Типичная водородная (или H-) связь может быть изображена как



где троеточие обозначает водородную связь. X–H представляет собой ее донор. Акцептором может быть атом или анион Y, или фрагмент, или молекула Y–Z, где Y связан с Z». Как тип взаимодействия, водородную связь можно количественно описать, введя понятие силы водородной связи. Последнюю обычно выражают в терминах сродства к протону PA(Y–Z) (по этому поводу см. [43]).

По-видимому, вышеприведенное определение неприемлемо или неудобно в компьютерных расчетах, которые можно, в некотором смысле, рассматривать как компьютерный эксперимент, поскольку фраза «у которого существуют признаки образования связи» относится к эксперименту, в основном спектроскопическому (см., например, [39, 44, 45]). По этой причине обычно используется такое определение водородной связи (см., например, [46] и приведенные там ссылки) — существует явное доказательство того, что образованная связь X–H···Y включает атом водорода H, связанный с Y приблизительно вдоль направления X–H, и выполняются следующие критерии:

1. По отношению к мономеру, мода  $\nu(X-H)$  валентных колебаний подвергается сдвигу

$$\Delta\nu(X-H) \equiv \nu_{X-H \cdots Y}(X-H) - \nu_{X-H}(X-H)$$

либо в сторону низкочастотных колебаний (т. н. красный сдвиг:  $\Delta\nu(X-H) < 0$ ; каноническая водородная связь), либо высокочастотных (синий сдвиг:  $\Delta\nu(X-H) > 0$ ). В некотором смысле, водородную связь с красным сдвигом и водородную связь с синим сдвигом можно идентифицировать с символами *инь* и *янь* из китайской философии (Рис. 1);



Рис. 1. Водородные связи с красным и синим сдвигами как китайские символы «инь» и «янь» (правильные цвета рисунка представлены в электронной версии статьи).

2. Соответственно, связь X–H либо удлиняется, т.е.

$$\Delta R(X-H) \equiv R_{X-H \cdots Y}(X-H) - R_{X-H}(X-H) > 0,$$

либо укорачивается, т. е.

$$\Delta R(X-H) \equiv R_{X-H...Y(X-H)} - R_{X-H}(X-H) < 0,$$

по отношению к связи в мономере, что свидетельствует об ослаблении ковалентной связи.

## СТРУКТУРА ДНК

ДНК — это икона, главная молекула [17, 47, 48] (Рис. 2) жизни вообще, и, без сомнения, жизни и творчества Юрия Павловича Благого, в частности.

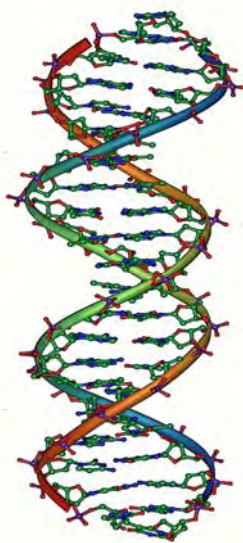


Рис. 2. Модель вторичной структуры «двойной спирали» ДНК Уотсона-Крика, В-форма ([https://commons.wikimedia.org/wiki/File:DNA\\_Overview.png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:DNA_Overview.png), автор Michael Strock (mstroeck) [CC BY-SA 3.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/>)]). Она состоит из двух полинуклеотидных нитей (тяжей), закрученных вправо с образованием двойной спирали диаметром до 2 нм («правосторонность» означает, что тяжи вращаются по часовой стрелке при их взаимном отдалении, если смотреть снизу, во всю длину двойной спирали. Два боковых тяжа образуют остов двойной спирали. Они образованы пентозо-фосфатными группами, заряжены отрицательно за счет углеводных остатков и фосфатных групп. Между ними, стопками, расположены пары оснований А·Т и G·C в виде двух комплементарных цепей, закрученных в двойную спираль. Спаривание оснований охватывает миллионы звеньев. Фактически, ДНК не является структурно и монотонно однородной спиралью. В силу этого цепи ДНК на протяжении всего тяжа образуют два желоба (или бороздки), «малый» и «большой».

ДНК существует в нескольких полиморфных формах: А, С, D, и Z [49]. Самая известная из них и преобладающая в клетке — это т. н. В-форма. Структура В-формы в виде двойной спирали ДНК была расшифрована более 65 лет назад [3, 50] (по данным журнала Nature последняя статья цитировалась 5599 раз. В самом деле, идея спиральности макромолекул буквально витала в воздухе в те годы. Так, в 1952 году В. Кочран, Ф. Крик и В. Ванд [51] предложили описание спиральных макромолекул; вскоре, Р. Франклин и Р. Гослинг [9] опубликовали высококачественные рентгенограммы В-ДНК тимуса телят и предложили их классическую интерпретацию, основываясь на следующем предположении: «...Поэтому представляется разумным предположить, что в структуре В структурные единицы (ДНК) относительно свободны от влияния соседних молекул, причем каждая единица защищена оболочкой из воды» (в оригинале: "It therefore seems reasonable to suppose that in structure B the structural units (DNA) are relatively free from the influence of neighboring molecules, each unit being shielded by a sheath of water"). Рентгенография определенно показала, что ДНК *in vivo* является двойной спиралью [8, 52], хотя выдвигались и четырехтяжевые модели [53]. Точнее говоря, «двойная спираль» ДНК представляет собой т.н. двойной винт или геликоид, в котором винтовая линия может быть правой (А- и В-формы ДНК) или левой (Z-форма) [18].

В работе [8] Дж. Уотсон и Ф. Крик писали ([8], стр. 125): «Мы предложили структуру, в которой две цепи закручены вокруг общей оси и соединены между собой водородными связями между нуклеотидными основаниями. ...Обе цепи следуют по правосторонним спиральям, но последовательности атомов в фосфатно-сахарных цепях проходят в противоположные направления и связаны диадой, перпендикулярной оси спирали.



Фосфаты и сахарные группы находятся снаружи спирали, в то время как основания находятся внутри. Расстояние атома фосфора от оси волокна составляет  $10 \text{ \AA}$ ...».

Вообще говоря, интересную историю вокруг открытия ДНК, помимо известных из книги «Двойная спираль» Дж. Уотсона [54] (я бы также порекомендовал книгу А. Азимова [55]), недавно поведала ВВС. Это история о пабе, в котором Уотсон и Крик впервые анонсировали свое расшифрование структуры ДНК. Как пишут сами Дж. Уотсон и Ф. Крик [3], они «были стимулированы знанием общего характера неопубликованных экспериментальных результатов и идей Мориса Уилкинса, Розалинды Франклин (см., в частности, статьи [12, 56]) и их коллег в Королевском колледже в Лондоне» ("having been simulated by a knowledge of the general nature of the unpublished experimental results and ideas of Wilkins, Franklin and their coworkers at King's College, London"). Я бы здесь добавил работы Лайнуса Полинга, показавшего, что в длинных молекулах — каковыми являются, в частности, белки — могут образовываться связи, закручивающие молекулу в спираль. Некоторые моменты открытия Уотсона и Крика освещены в статье [57].

Л. Брэгг в предисловии к книге «Двойная спираль» [54] написал: «Открытие структуры ДНК со всеми его биологическими последствиями было одним из крупнейших научных событий нашего века». Г. Стент (Gunther Stent) в своей работе «Апериодический кристалл наследственности» ([4], стр. 25–31) отметил следующее: «На уроке истории в старших классах школы Гайд-парка, ...я узнал, что Ренессанс начался 29 мая 1453 года, в день, когда Константинополь был захвачен турками. В тот день, я думаю, все вдруг осознали, что Средневековье прошло и что пришло время заново открыть для себя искусство и науки классической античности. Так что меня всегда изумляло то сверхъестественное совпадение, что молекулярная биология началась ровно через пятьсот лет после наступления Ренессанса, с совпадением почти до дня, 25-го апреля 1953 года, дня, когда в Nature появилась статья двух молодых людей, Джеймса Уотсона... и Фрэнсиса Крика, сообщившая об открытии двойной спирали ДНК». Там же ([4], стр. 356–365) Д. Джексон (David Jackson) сравнивает открытие ДНК с т. н. «сдвигом в парадигме», который, согласно книге Т. Куна [58], вызывает научную революцию.

По Уотсону и Крику, ДНК — это огромная молекула в виде двойной спирали, две антипараллельные нити которой (цепочки или тяжи) образованы пентозо-фосфатными группами, состоящими из молекул сахара, кислорода и фосфора (Рис. 2). Каждая такая нить содержит наборы из четырех химических соединений, называемых азотистыми основаниями: А (аденин), Т (тимин), Г (Г, гуанин) и С (Ц, цитозин), т.н. «генетический алфавит». Эти две нити (или тяжи) ДНК соединяются друг с другом уотсон-криковскими (WC-) комплементарными парами,  $[A \cdot T]_{WC}$  и  $[G \cdot C]_{WC}$ .

Азотистые основания А и Г относятся к пуринам (purine, по лат. "purus" — чистый и -in(e) — суффикс, обозначающий «подобный»), Т и Ц — к пиримидинам (pyrimidine, по греч. "pyr" — огонь, франц. "imide" — измененный амид, и лат. -in(e) — «подобный»). Интересно, что в конце 40-х годов Эрвин Чаргафф (Erwin Chargaff) показал, что во всех ДНК содержится равное количество Т и А, и Г и Ц, а относительное содержание Т/А и Г/Ц специфично для каждого вида. Четыре основания ДНК — это алфавит, используемый нашими клетками: аденин спаривается с тиминном, цитозин с гуанином, образуя уникальную комбинацию из 3,2 миллиарда букв (каждая клетка нашего тела содержит полную копию 3,2 миллиарда пар оснований ДНК или букв, которые кодируют наш человеческий геном [59]). Поскольку некоторые генетические заболевания вызваны мутацией всего одной буквы, некоторые из

применений CRISPR (мощного инструмента генной инженерии — направленного редактирования геномов), имеют дело с исправлением этой однобуквенной разницы.

На Земле в генетическом материале некоторых вирусов есть пятое основание — урацил, отличающееся от Т отсутствием метильной группы в С5 в пиримидиновом кольце, которое обычно заменяет Т в РНК. В этой связи любопытны недавние работы в *Science* и *Nature* об удвоении генетического алфавита [60, 61]. Авторы [60] под руководством С. Бэннера (S. Benner) создали системы, подобные ДНК и РНК, из восьми нуклеотидных «букв» и назвали их хатимодзи-ДНК и -РНК (от японского 八 "hachi" — восемь и 文字 "moji" — буква). Журнал «Популярная Механика» (№ 4, 2019) назвал хатимодзи-ДНК «инопланетной». Такие синтетические ДНК созданы не впервые. Ранее, в 2015 г. С. Бэннер с сотр. синтезировали ДНК из шести-нуклеотидного алфавита [62]. Подобные работы по созданию искусственной жизни как часть «синтетической биологии» появились еще в 1980-х годах, когда была предложена концепция «ковалентной пары оснований» (см., например, [63] и приведенные там ссылки). Забегая вперед, скажу, что особенностью таких пар оснований является отсутствие мутаций, вызванных переносом атома водорода по уотсон-криковским водородным связям.

Как уже говорилось ранее, пунктирные линии в обозначении пар оснований ДНК обозначают водородно-связанное спаривание. Из Рис. 3 следует что, спаривание в  $[A \cdot T]_{WC}$  осуществляется такими водородными связями:  $N6-H6(A) \cdots O4(T)$ ,  $N3-N3(T) \cdots N1(A)$ , и  $C2-H2(A) \cdots O2(T)$ . Последняя, весьма слабая энергетически, водородная связь характеризуется синим сдвигом  $\Delta\nu(C2-H2(A)) = 6 \text{ cm}^{-1}$  ([46], LXIX, p. 313), тогда как первые две являются каноническими, с красным сдвигом.

Вообще говоря, роль Н-связей в ДНК многогранна. Обычно акцентируют внимание на двух из них [28, 64–67]. Одна определяет т. н. электронную комплементарность. Так, в G-C паре спаривание осуществляется тремя каноническими водородными связями. По этой причине экспериментальная энтальпия образования G-C пары в газовой фазе, равная  $-21,0 \text{ ккал} \cdot \text{моль}^{-1}$  [68], сильнее энтальпии образования A-T пары  $-13,0 \text{ ккал} \cdot \text{моль}^{-1}$  [67].

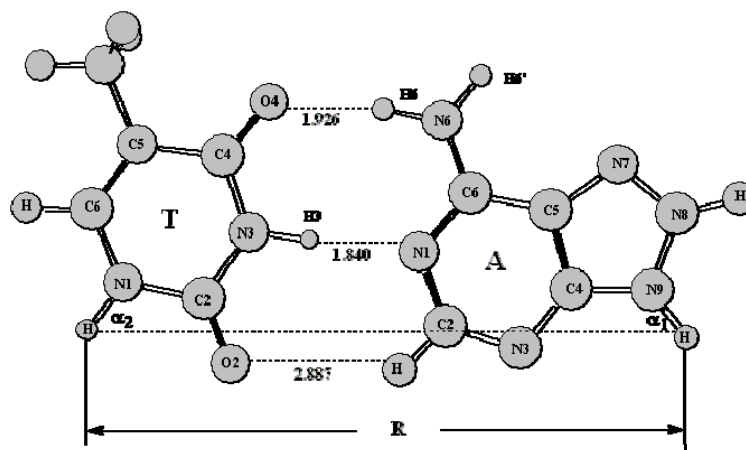


Рис. 3. Комплементарная пара  $[A \cdot T]_{WC}$  ДНК, рассчитанная в настоящей работе методом B3LYP/6-311++G(d,p).

Другая роль водородных связей — поддерживать т.н. комплементарную форму. Геометрически, последнее означает, что, во-первых, расстояние R (см. Рис. 3) находится в интервале  $10,6 - 10,8 \text{ \AA}$ , во-вторых, N-гликозидные углы связи  $\alpha_1 \equiv \angle N9N9(A)N1(T)$  и  $\alpha_2 \equiv \angle N1N1(T)N9(A)$  находятся в интервале  $[52^\circ, 70^\circ]$  [28, 65, 66]. В

настоящей работе  $R = 10,18 \text{ \AA}$ ,  $\alpha_1 = 54,0^\circ$ ,  $\alpha_2 = 54,6^\circ$ , которые хорошо согласуются с таковыми из работы [69] (см. также недавнюю работу [70]).

Ниже мы будем основываться на следующей вычислительной методологии: все расчеты по оптимизации геометрии, без всяких ограничений на возможную планарность, выполненные в данной работе, были проведены с использованием пакета программ GAUSSIAN [71] методом функционала плотности Ли-Янга-Парра (Lee-Yang-Parr), B3LYP, в базисе 6-311++G(d,p), который, как известно, является достаточно удовлетворительным для данной системы и обычно адекватно предсказывает как нейтральные, так протонированные структуры. Нами были рассчитаны энергии, термодинамические характеристики полученных структур и соответствующие, некалированные, энергии нулевых колебаний (ZPE) и (также некалированные) гармонические колебания.

### СТРУКТУРА ДНК И МУТАЦИИ

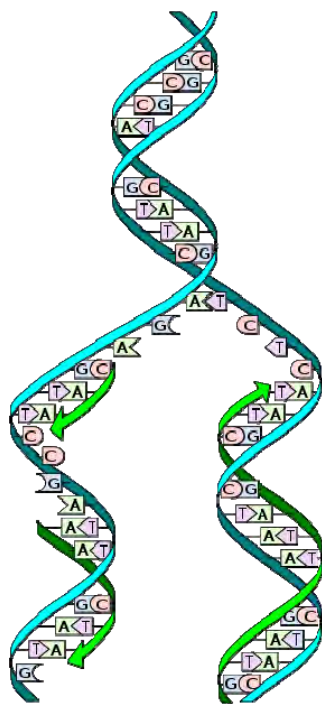


Рис. 4. Модель репликации ДНК ([https://ru.wikipedia.org/wiki/Репликация\\_ДНК#/media/Файл:DNA\\_replication\\_split.svg](https://ru.wikipedia.org/wiki/Репликация_ДНК#/media/Файл:DNA_replication_split.svg), автор Madprime [CC BY-SA 3.0, <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/>]):

Стадии репликации:

1. Расплетание (unwinding; или приоткрытие — pre-opening) двойной спирали ДНК;
2. Образование «репликационной вилки»;
3. Синтез комплементарных цепочек ДНК-полимеразой.

Нельзя сказать, что такая би-спиральная или, точнее, би-винтовая комплементарность, свойственная модели ДНК Уотсона и Крика, была канонической, или, другими словами, осталась единственной. Ровно десять лет спустя после их работы, Карст Хугстин [72] продемонстрировал кристаллическую структуру соединения, в котором А и Т формируют пары, геометрия которых существенно отличается от уотсон-криковской (см., например, рисунок 6.7 в книге Зенгера [65], рисунок 3 в [73] и рисунок 1 в работе М.Д. Франк-Каменецкого [74]). Водородные связи в неканонической хугстиновской  $[A \cdot T]_H$  паре такие:  $N6-H6(A) \cdots O4-C4(T)$  и  $N7(A) \cdots N3-N3(T)$ .

Стоит, наверное, сказать несколько слов о других формах ДНК. Напомним, что Z-ДНК была открыта в 1979 г. Позднее были открыты квадруплексы, соединения Холлидея, спаривание Хугстина и другие (см. базу данных <http://ndbserver.rutgers.edu>). На 2003-й год было известно более 600 дезоксирибонуклеотидов [75].

Неканонические спаривания, т. е. нарушения (или повреждения), имеют место и собственно в модели ДНК Уотсона-Крика. Это, в частности, т. н. несовершенства в

спаривании (*mis-pairing*) и несоответствия (*mismatch*), характеризующиеся как другими водородными связями, так и их числом по сравнению с присущими каноническим парам.

Вообще говоря, (см. например, работу [76] и приведенные там ссылки), в 1953 г. Уотсон и Крик предложили свою иконную структуру двойной спирали для ДНК, основываясь на весьма незначительном наборе экспериментальных данных. Несмотря на этот факт, их структура является наиболее известной для двойной спирали. Ее наиболее важные до сего времени черты — это специфическое спаривание пуриновых оснований с пиримидиновыми (Г с Ц и А с Т) посредством комплементарных водородных связей, что придает структуре возможность самовоспроизводства, «репликации», производя, таким образом, ДНК. Это делает ее переносчиком генетической информации [77], а не белки, как широко верилось в 50-е годы. Отметим, что уотсон-криковское спаривание соединяет основания в их наиболее вероятной таутомерной форме и, что представляется наиболее важным, подобные формы реализуются для всех четырех пар комбинаций, лежащих в основе организации двойной спирали.

Также отметим, что модель двуспиральной ДНК настолько проста, гениальна и даже изящна, что позволила Уотсону и Крику понять, как она описывает репликацию: итак, для того, чтобы скопировать молекулу ДНК, нужно разделить («приоткрыть») ее цепочки и достроить вдоль каждой новую — в результате получатся две идентичные молекулы. Простота процесса репликации в модели Уотсона-Крика также очевидна (Рис. 4, см. также [47]) и включает следующие стадии: синтез дочерней молекулы ДНК на матрице родительской ДНК; при делении материнской клетки дочерняя клетка получает по одной копии молекулы ДНК, которая идентична ДНК исходной материнской клетки, если нет мутаций (от латинского *mutatio* — изменение или, попросту, ошибка). Очевидно, что в процессе копирования огромного алфавита (кода) несложно ошибиться. Ясно, что ошибки постоянно возникают. Большая часть из них исправляется специальными системами клетки, но не все. В тексте возникают изменения — мутации — причина существования наследственных заболеваний и эволюции. И, как было недавно показано (см., например, [78, 79]), известный и характерный голубой цвет глаз собак породы сибирской хаски вызван генетическими мутациями.

Кстати, я, как, по-видимому, и сам Ю.П. Благой, смотрели фильм Андрея Тарковского «Сталкер», снятый по фантастической повести братьев Стругацких «Пикник на обочине» (1972), которую в те 70-е годы прочитали все или почти все ученые СССР. Помню, что в те годы в Харькове был — не совсем открытый — клуб любителей кино. Меня туда водил Юрий Я. Томчук, ученик Наума И. Ахиезера и доцент кафедры высшей математики ХИРЭ С.Д. Бермана. Там я впервые смотрел «Сталкер» и «Зеркало». В этой повести идет речь об удивительном открытии т. н. радианта Пильмана, за которое доктор Валентин Пильман был удостоен Нобелевской премии по физике за 19... год: вдоль проекции радианта Пильмана на поверхности Земли расположены шесть т. н. «Зон», в которых происходят странные явления, противоречащие законам физики. Зоны возникли на поверхности Земли после Посещения чужеродных сил.

В этих Зонах было обнаружено множество артефактов, представляющих собой, по гипотезе ученого Пильмана, космический мусор, оставленный инопланетянами. Некоторые из этих артефактов могут лечить болезни, другие — весьма опасны. Влияние Зоны выражается в форме генетических мутаций. Все население Зон было срочно эвакуировано, поскольку в них жить нельзя ни людям, ни животным — они

испытывают мутагенное воздействие Зоны: «подвергаются изменениям — как фенотипическим, так и генетическим». Те, кого не удалось вовремя эвакуировать, пострадали: либо ослепли, либо перенесли другие, неизвестные человечеству заболевания. По одной из легенд, в некоторой из областей Зоны живут люди, пережившие мутации — «они мутировали... приспособились к новым условиям». Эти мутации могут рассматриваться как новый шаг в эволюции.

Наследственные свойства биологических систем определяются непосредственно сохранностью и точностью передачи генетической информации, согласно центральной догме биологии [80], от молекул ДНК к молекулам РНК, и далее к белкам. Изменения в биологических макромолекулах, охватывающие протяженные участки ДНК или РНК, могут привести к значительным изменениям в белках. Первые называются мутациями [80]. Это такое изменение генотипа, которое происходит под влиянием внутренней или внешней среды и которое может быть унаследовано при репликации, т.е. потомками данной клетки. Мутации обычно делят на две категории [81]: точечные мутации и крупные перестройки. Процесс возникновения мутаций называется мутагенезом, этот термин был предложен С. Коржинским в 1899 г. [82] и Х. де Фризом в 1903 г. [83] (см. также [84–86]).

Существует несколько моделей мутагенеза [87]: полимеразная, таутомерная, ультрафиолетовая, и др. Среди мутаций различают спонтанные и индуцированные. Первые возникают самопроизвольно, без внешнего воздействия, в нормальных для организма условиях окружающей среды, и происходят, в отличие от вторых, с очень малой вероятностью и не являются регулярными. Вторые возникают в результате процессов, происходящих в живой клетке, таких как репликация ДНК [88], нарушения репарации ДНК [89], транскрипции [90] и генетической рекомбинации [91].

Большой интерес вызывают точечные изменения в генетическом аппарате клетки, которые обычно связаны с ошибками на уровне отдельных нуклеиновых оснований — изменение (либо замена формы) основания в комплементарной паре. Это так называемые точечные мутации. Такие повреждения могут иметь систематический характер и быть причиной появления ряда хронических заболеваний. Как отмечено в [87] (стр. 6), известны два механизма спонтанных мутаций — таутомерный и ионизационный. Первый механизм связан с существованием таутомерных форм, в которые переходит молекулярный носитель информации посредством квантовых скачков. Это предположение впервые было высказано М. Дельбрюком, Н.В. Тимофеевым-Ресовским [92] и Э. Шредингером [93].

Хотелось бы в этом месте сделать маленькую паузу и вспомнить первую главу «От новой физики к новой биологии» книги М.Д. Франк-Каменецкого [47], повествующей о Максе Дельбрюке (1906-1981). В дополнение к написанному там ([47], стр. 6) стоит отметить следующее (см. также [94]): «будучи молодым, Макс Дельбрюк искал себе поле деятельности. Его выбор астрономии оказался неудачным, поскольку захватывающей наукой, разрабатываемой в середине 1920-х годов, была квантовая механика. Весной 1925 года 23-летний В. Гейзенберг задумал совершенно новый способ описания атомов и их частиц. В следующем году Э. Шредингер последовал их примеру со своей версией новой физики, названной волновой механикой. В начале 1926 года Гейзенберг приехал в Берлин, чтобы провести семинар, на котором присутствовал М. Дельбрюк. Хотя Макс не понимал ни слова из этого семинара, он понял, собрав замечания Альберта Эйнштейна, который сидел в первом ряду, что он стал свидетелем очень важного шага научного развития. Поэтому Макс перевел свой круг интересов на изучение новой квантовой теории. Он поступил в Геттинген в качестве аспиранта Макса Борна, в конце концов защитив «довольно скучную» (по его

словам) докторскую диссертацию «Тезисы о молекуле лития». Работая над этим, он начал задумываться об актуальности нового революционного понимания природы материи и света. В то время, благодаря стипендии Фонда Рокфеллера, Макс проводил некоторые постдокторские исследования в институте Бора в Копенгагене. На самом деле он не был счастлив быть физиком, поскольку дни великих открытий, казалось, закончились в 1928 году, когда Полу Дираку удалось объединить квантовую механику и теорию относительности. Конечно, нужно было проработать много деталей, но Макс не переключился со звезды на квант, чтобы сделать это. Он искал область, которая нуждалась в новых идеях, и он увидел свой шанс, когда посетил лекцию Бора 1932 года под названием «Свет и жизнь» [95]». В этой лекции Дельбрюка захватила идея комплементарности концепций волны и частицы: «В физике очевидно, что даже в самом простом случае, таком как электрон, бегущий вокруг протона, можно заниматься классической физикой до самого последнего дня и никогда не вытащить из него атом водорода. Чтобы достичь этого, нужно использовать дополнительный подход. Если взглянуть даже на самый простой вид клетки, известно, что она состоит из обычных элементов органической химии и, в этом случае, подчиняется законам физики. Можно проанализировать любое количество соединений, содержащихся в ней, но никогда не получишь из них живую бактерию, если не представишь совершенно новые и взаимодополняющие точки зрения» [96]. Идея взаимодополняемости была описана в таких деталях, потому что она важна для мышления М. Дельбрюка: «В течение многих лет она была единственной мотивацией для моей работы», как писал Дельбрюк в 1962 году, когда пригласил Бора прочесть еще одну лекцию о свете и жизни 30 лет спустя [97]».

Так вот, Э. Шредингер писал ([93], стр. 40): «Отбор не дает результаты, потому что малые, непрерывные различия не наследуются. Они, очевидно, не обусловлены строением наследственного вещества, они случайны. Но около 40 лет назад голландец де Фриз открыл, что в потомстве даже совершенно чистосортных линий появляется очень небольшое число особей — скажем, два или три на десятки тысяч — с небольшими, но скачкообразными изменениями. Выражение *скачкообразные* означает в этом случае не то, что изменения очень значительны, а только факт прерывности, так как между неизменными особями и немногими измененными нет промежуточных форм. Де Фриз назвал это *мутацией*. Здесь существенна именно прерывность. Физику она напоминает квантовую теорию — там тоже не наблюдается промежуточных ступеней между двумя соседними энергетическими уровнями атома. Физик был бы склонен мутационную теорию де Фриза фигурально назвать *квантовой теорией биологии* (курсив — авт.). Позже мы увидим, что это значительно больше, чем фигуральное выражение. Своим происхождением мутации действительно обязаны “квантовым скачкам” в генной молекуле» (см. также [44], стр. 9; отметим, что квантовые скачки — тема весьма деликатная в квантовой механике).

Заметим также, что Шредингер в своей книге [93] на стр. 49 ссылается на статью [92]: «В действительности при расчете мы следуем М. Дельбрюку (совместная работа его с Н.В. Тимофеевым-Ресовским и К.Г. Циммером)... Простейшее истолкование этого результата сводится к тому, что имеется достаточная вероятность возникновения данной мутации, если ионизация (или возбуждение) происходит не далее, чем на расстоянии около 10 атомов от определенного места в хромосоме...». Д. Гранин в романе «Зубр» о Тимофееве-Ресовском также вспоминает эту работу (стр. 81): «Позже, однако, на эту статью сослался Шредингер в своей нашумевшей книге «Что такое жизнь с точки зрения физики», и тогда открытие Зубра стало сенсацией».



Согласно таутомерной гипотезе Уотсона и Крика [50] (см. также [3, 98, 99]; среди недавних работ в этой области отметим работы ([100] и приведенные там ссылки)), которая звучит следующим образом ([50], стр. 130): «В нашей схеме дублирования специфичность репликации достигается посредством специфического спаривания между пуриновым и пиримидиновым основаниями; аденин с тимином и гуанин с одним из цитозинов. Эта специфичность проистекает из нашего предположения, что каждое из оснований обладает одной таутомерной формой, которая намного более устойчива, чем любая из других возможностей. Однако тот факт, что соединение является таутомерным, означает, что атомы водорода могут иногда менять свое местоположение. Нам кажется правдоподобным, что спонтанная мутация, которая, как мы подразумевали ранее, является изменением в последовательности оснований, происходит из-за того, что основание встречается очень редко в одной из менее вероятных таутомерных форм, в момент, когда комплементарная цепь формируется», точечные мутации могут возникать в результате таутомерных превращений (сдвигов) в основаниях комплементарных, т. н. уотсон-криковских, пар: аденин(А)-тимин(Т), гуанин(Г)-цитозин(С), связанных между собой двумя или тремя водородными связями, соответственно (см. Рис. 5 на примере А-Т пары).

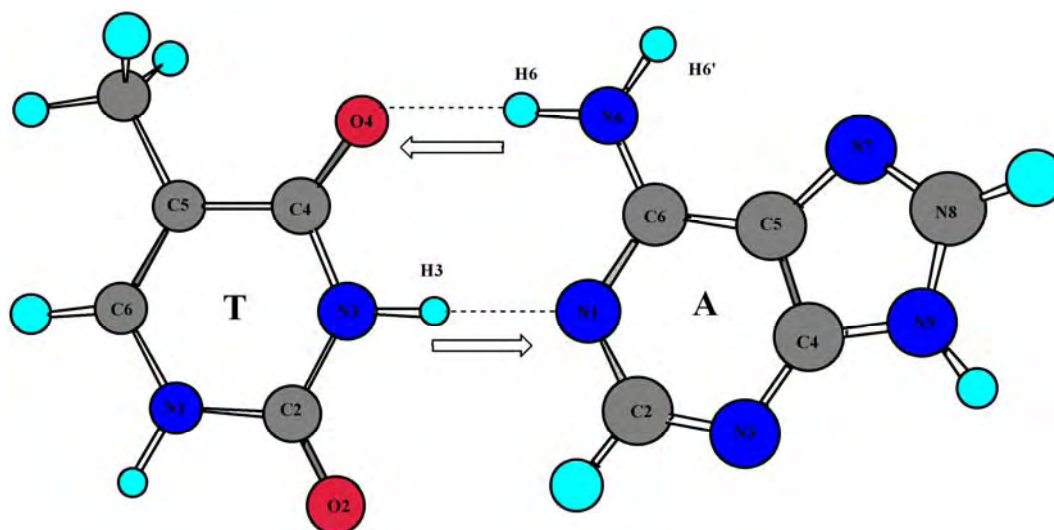


Рис. 5. Комплементарная пара  $[A \cdot T]_{WC}$  ДНК. Стрелки обозначают переходы протонов по водородным связям. Различают два одинарных протонных переноса, см. формулы (2): 1.  $N3-H3(T) \cdots N1(A) \Rightarrow N3(T) \cdots H3(T) \cdots N1(A)$ ; 2.  $N6-H6(A) \cdots O4(T) \Rightarrow N6(A) \cdots H6(A) \cdots O4(T)$ . Их суммарный перенос определяет двухпротонный перенос,  $[A \cdot T]_{WC} \Leftrightarrow A^* \cdot T^*$ , лежащий в основе туннельного механизма Лёвдина.

Каждое из оснований ДНК [101] обладает своей основной, равновесной таутомерной формой (как на Рис. 3): например, А — амино ( $-N6(A)H_2$ ), Т — кето ( $=O4(T)$ ), характеризуемой определенными положениями атомов водорода. Для каждого основания, кроме того, существуют неравновесные, минорные таутомерные формы, возникающие в результате скачков протона между различными положениями, возможными у основания [102–104]: для А — это имино- ( $-N6(A)H-$ ),  $A^*$ , для Т — энольная ( $=O4(T)H$ ), форма,  $T^*$  (более подробно см. [65] и [87]).

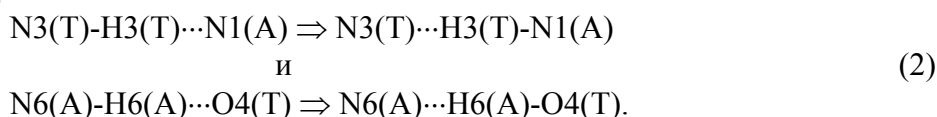
Существует три сценария таутомерной модели Уотсона-Крика, по которым в паре  $[A \cdot T]_{WC}$  в двойной спирали ДНК происходят точечные мутации



Они таковы: (i) путем переходов протонов по водородным связям; (ii) за счет изменения места связывания протонов в основаниях пары; (iii) за счет образования



внутри- и внемолекулярных водородно-связанных мостиков, по которым протон(ы) может перемещаться от основной таутомерной формы к минорной. Такие мостики могут образовываться благодаря воде [105, 106]. Тем не менее, строго говоря, (1) не является таутомерным переходом ни в собственно А, ни в собственно Т, поскольку, по определению, Т\* образуется вследствие перехода протона (атома водорода) НЗ(Т) от NЗ(Т) к О4(Т), а А\* вследствие перехода Н6(А) от N6(А) к N1(А). (1), по сути, есть суммарный переход



Строго говоря, его стоит отнести к парной таутомеризации.

К первым относится т. н. механизм туннельного двухпротонного переноса (ДПП), предложенный П.-О. Лёвдиным [107, 108]. Лёвдин ([107], стр. 726) отмечает, что такой механизм находится в полном соответствии с идеями, выраженными Дельбрюком и обсуждаемыми Шредингером в его вышеупомянутой книге. Несмотря на огромный научный и практический интерес к этим исследованиям (см., например, [69]), механизм возникновения точечных мутаций до настоящего времени не изучен в достаточной мере. Это обусловлено сложностью макромолекулярных комплексов, в которых происходит передача информации, и трудностями прямого наблюдения образования неправильных форм нуклеиновых оснований *in vivo*.

Есть несколько моментов при сравнении одно- и двухпротонного переноса протона в уотсон-криковских парах, которые хотелось бы обсудить. Поскольку в паре [А·Т]<sub>WC</sub> есть только две классические водородные связи, то в ней возможен единственный двухпротонный перенос, который описан в формуле (2) и который сохраняет общую нейтральность пары.

Отнюдь несправедливым здесь является вопрос об устойчивости таутомерной пары А\*·Т\* (см., например, [109]). Известно (см. [69]), что таутомерная пара А\*·Т\* лежит только на 0,22 ккал·моль<sup>-1</sup> ниже упомянутого выше барьера, тем самым ставя под вопрос существование по крайней мере одного связанного состояния в данной яме, которое определяет стабильность А\*·Т\*, если исходить из постулата Лёвдина [110, 111, 43] о молекуле, гласящего, что: «Система электронов и атомных ядер образует молекулу, если кулоновский гамильтониан Н, из которого выделено движение центра масс, имеет дискретное значение энергии основного состояния» (приведем оригинальное определение: "A system of electrons and atomic nuclei is said to form a molecule if the Coulombic Hamiltonian Н — with the centre of mass motion removed — has a discrete ground state energy E<sub>0</sub>"). Или из определения молекулы, данного в IUPAC Gold Book [112]: «Молекула — это электрически нейтральное образование, состоящее из более чем одного атома (n > 1). Строго говоря, молекула, в которой n > 1, должна отвечать такой яме на поверхности потенциальной энергии, которая достаточно глубокая, чтобы содержать по крайней мере одно колебательное состояние».

Ход рассуждений авторов работы [69] был следующий: 0,22 ккал·моль<sup>-1</sup> примерно равно 77 см<sup>-1</sup>. Как известно (см., например, [39]), низколежащие колебательные моды Н-связи А-Н...В, в частности, т. н. моды растяжения σ (или трансляции) и деформации γ, лежат в области ω ≥ 100 см<sup>-1</sup>, так что в интервал 0–77 см<sup>-1</sup> может поместиться, в гармоническом приближении, только основное состояние с энергией (1/2)ω, если ω ≤ 154 см<sup>-1</sup>. В этом контексте, пара А\*·Т\* существует и стабильна. Отметим, что рассчитанная в работе [113] методом MP2/6-311++G(d,p), глубина потенциальной ямы с парой А\*·Т\* составляет 49 см<sup>-1</sup> (см. Табл. 1 в [113]), что неслабо коррелирует с данными [69]. Тем не менее, в работе [69] на Рис. 4 показано, что локальный минимум,

отвечающий таутомерной паре, отсутствует на поверхности свободной энергии Гиббса (с учетом вклада нулевых колебаний в энтропию). Вообще, стоит отметить некоторую противоречивость в выводах ряда работ по глубине ямы с таутомерной парой оснований. Прежде всего, вопрос о глубине этой ямы почему-то был сведен к тому, каков на самом деле механизм перехода  $[A-T]_{WC} \Rightarrow A^*-T^*$ , туннельный, как предполагал Лёвдин, или классический, надбарьерный. Так, Годбир с соавторами [114] считает, что в ряде работ [69, 113] утверждалось, что туннельный механизм либо невозможен, либо маловероятен в силу статистической незначительности (В оригинале: "Some have claimed that tunnelling in DNA... is either not possible or so unlikely as to be statistically negligible"). Очевидно, такое утверждение несостоятельно, поскольку в первой и во второй цитируемых работах [69] существование пары  $A^*-T^*$  вообще отрицается, что подразумевает отсутствие конечного состояния при туннелировании.

Таким образом, указанная высота барьера свидетельствует о метастабильности пары  $A^*-T^*$  и, следовательно, о противоречивости концепции ДПП для объяснения вышеуказанной таутомерной мутации. В противном случае, метастабильность будет дополнительным фактором, определяющим частоту данной мутации. Авторы работы ([115], стр. 1460) считают, что «Это, однако, не опровергает возможную применимость гипотезы мутаций Лёвдина в случае пары оснований гуанин-цитозин, где ранее рассчитывалась меньшая разница в энергии обычных и редких таутомеров (по сравнению с  $A\cdot T$  парой) и вклад релаксации геометрии еще предстоит определить. В этом месте следует отметить, что предложение Лёвдина не основано на чистых энергетических соображениях. Оно также предполагает, что после двойного переноса протонов и открытия двухцепочечной ДНК, основания остаются не-водородно-связанными до образования комплекса с другим основанием. Это предположение не вполне реалистично из-за наличия молекул воды, способных образовывать водородно-связанные комплексы с редкими таутомерами в матрице и способствующих обратному таутомерному переходу к каноническим формам оснований» (в оригинале: "This however does not disprove a possible applicability of the Lowdin mutation hypothesis in the case of the guanine-cytosine base pair, where a smaller difference in the energy of ordinary and rare tautomers (as compared with the  $AT$  pair) was previously calculated and the contribution of geometry relaxation still remains to be determined. It should be noted at this place that the proposition of Löwdin is not based on pure energetic grounds. It also assumes that after double proton transfer and the opening of the double stranded DNA, the bases remain non-hydrogen bonded until complex formation with another base. This assumption is not completely realistic because of the presence of water molecules, which are capable of forming hydrogen-bonded complexes with the rare tautomers in the template and which can possible promote the reverse tautomeric transition toward canonical forms of the bases").

Суммируя вышесказанное, мы наблюдаем некоторую дискриминацию между уотсон-криковскими парами по отношению к образованию точечных мутаций по ДПП-механизму Лёвдина. Ежели в паре  $[G-C]_{WC}$  возможно такое образование точечной мутации, то в другой паре  $[A\cdot T]_{WC}$  это невозможно в виду неустойчивости таутомерной пары  $A^*\cdot T^*$ . С одной стороны, очевидно, это противоречит разумному смыслу и известным экспериментам. С другой, упрощает таутомерную картину возникновения точечных мутаций.

Однако, не все так просто. Данный вопрос имеет несколько пластов. Первый: «Прежде всего, сам по себе туннельный переход протона в ДНК еще не приводит к мутации: для появления последней необходим хотя бы один акт репликации. Однако такой акт обязательно включает расхождение спиралей, после чего основания оказываются окруженными молекулами воды. Так как время установления равновесия

в растворе значительно меньше времени осаждения нуклеотида на матрице, то еще задолго до завершения цикла репликации установится равновесная для данного раствора концентрация ионизированных и редких таутомерных форм оснований ДНК. Для последующей судьбы этих форм безразлично, с помощью какого механизма они образовались: путем туннельного перехода или просто отщеплением (присоединением) протона в растворе. В результате, если не предполагать, что механизм Лёвдина почему-либо нарушает больцмановское распределение, оказывается, что по своим проявлениям в спонтанном мутагенезе он не может быть отличен от классического механизма мутаций, обусловленного таутомеризацией или ионизацией оснований. Положение существенно изменяется, если считать, что конфигурация тяжёлой ДНК во время репликации не позволяет внедряться между ними воде», — так считают В.И. Данилов и Г.Ф. Квенцель ([87], с. 28; здесь авторы [87] ссылаются на работы [116, 117] и на аналогичное замечание, высказанное Л.А. Блюменфельдом в 1965 г.). Второй: при внимательном взгляде вывод о невозможности образования таутомерной точечной мутации в  $[A\cdot T]_{WC}$  был сделан при условии, что последняя пара изолирована и находится в газовой фазе.

Чтобы разобраться в данной ситуации, нам придется рассмотреть ее послойно и вспомнить слова Ю.П. Благоева из предисловия: «Молекулярная структура ДНК... стабилизируется молекулами воды и ионами металлов...». Эти две точки зрения получают продолжение в следующем разделе.

### ДНК И ВОДА: ГИДРАТАЦИЯ, ПРИОТКРЫТИЕ ПАРЫ

*«Структура (ДНК — авт.) открытая, содержание воды в ней довольно высокое. При более низком содержании воды можно ожидать, что основания наклонятся, чтобы конструкция стала более компактной».*

Уотсон и Крик ([3], стр. 737);

оригинальный текст следующий:

*"The structure is an open one, and its water content is rather high. At lower water contents we would expect the bases to tilt so that the structure could become more compact."*

*In vivo*, в макромолекуле ДНК происходит множество флуктуационных процессов на временах от пико- до миллисекунд и на расстояниях от долей до десяти ангстрем [118, 119]. В действительности, ДНК — это сложное молекулярное наноформирование, состоящее из водородно- и стэкинг-связанных пар оснований и образованное молекулами воды, объединяющимися в гидратные оболочки, и противоионами (см., например, [120–125] и приведенные там ссылки). В физиологическом солевом растворе (0,15 М раствор NaCl) это полиэлектролит, обычно отрицательно заряженный, в котором одна двухтяжевая молекула ДНК сильно отталкивает другую. Вообще говоря, в клетках и вирусах ДНК обычно находится в очень компактном состоянии [126].

Можно сказать, что вода является естественной средой «обитания» ДНК. От среды (растворителя) зависит, какую конформацию (В-ДНК, А-ДНК или Z-ДНК) будет принимать ДНК. Организация гидратированной среды ДНК выявила ключевую роль следующих взаимодействий: (i) планарные взаимодействия между основаниями, которые приводят к образованию водородно-связанных пар, имеющих в основном электростатическую природу; (ii) вертикальные взаимодействия, приводящие к формированию «стопочных» (стэкинг-связанных) структур, обусловленных ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями, в которых основной вклад дают лондоновские

дисперсионные взаимодействия (см., например, [22]) благодаря большой поляризуемости оснований; и *(iii)* взаимодействие между противоионами и молекулами воды как основными естественными компонентами среды, окружающей ДНК. Из многочисленных рентгеновских данных известно, что примерно два десятка (максимум 17) молекул воды необходимо для адекватного описания первой гидратной оболочки пары оснований [127–132].

Во многих работах исследовали *in silico* первую гидратную оболочку уотсон-криковских пар, в частности  $[A \cdot T]_{WC}$ , используя различные методы, от Монте-Карло и молекулярной динамики, до *ab initio* квантово-химических. Очевидно, молекула воды  $w = H_w - O_w - H_w'$  в первой гидратной оболочке  $[A \cdot T]_{WC}$  пары будет образовывать следующие водородные связи с O2(T), O4(T), C2(A)-H2, N6(A)-H'6: O2(T)···H<sub>w</sub>-O<sub>w</sub>-H<sub>w</sub>'; O<sub>w</sub>···H'6-N6-(A); O2(T)···H<sub>w</sub>-O<sub>w</sub>-H<sub>w</sub>'; C2(A)-H2···O<sub>w</sub>.; N9(A)-H9···O<sub>w</sub>.; N3(A)···H<sub>w</sub>-O<sub>w</sub>-H<sub>w</sub>'; и O4(T)···H<sub>w</sub>-O<sub>w</sub>-H<sub>w</sub>' (предпочтительные сайты гидратации можно увидеть на рисунке 5(a) работы [69]; в последней изображена  $[A \cdot T]_{WC}$  пара, гидратированная семью молекулами воды).

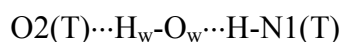
Дабы иметь некоторое представление об энергетике гидратации, рассчитанной методом перекрывающихся мультиполей, давайте взглянем на Табл. 1 [127].

Таблица 1 [127]. Схема моно-гидратации  $[A \cdot T]_{WC}$  пары молекулой воды  $H_w - O_w - H_w'$ . Сайт моногидратации обозначается соответствующей(ими) характеристической(ими) водородной(ыми) связью(ями)

Характеристическая водородная связь	Энергия гидратации, ккал·моль <sup>-1</sup> [127]
O2(T)···H <sub>w</sub> -O <sub>w</sub> -H <sub>w</sub> '	-10,76
O <sub>w</sub> ···H'6-N6-(A)	-10,13
O2(T)···H <sub>w</sub> -O <sub>w</sub> -H <sub>w</sub> ' C2(A)-H2···O <sub>w</sub> .	-9,50
N9(A)-H9···O <sub>w</sub> .	-8,91
N3(A)···H <sub>w</sub> -O <sub>w</sub> -H <sub>w</sub> '	-8,66
O4(T)···H <sub>w</sub> -O <sub>w</sub> -H <sub>w</sub> '	-6,59

Несмотря на простоту этого вычислительного подхода, можно ожидать относительную слабость гидратации на атоме O4(T) — энергия гидратации здесь составляет всего лишь  $-6,59$  ккал·моль<sup>-1</sup>. Структура такого комплекса, далее именуемая как  $[A-w-T]_o$ , рассчитанная в настоящей работе в рамках указанного выше компьютерного метода B3LYP/6-311++G(d,p), представлена на Рис. 6.

B3LYP/6-311++G(d,p)-энергия взаимодействия данного комплекса оказывается равной  $-4,0$  ккал·моль<sup>-1</sup>, что представляется более реалистичной оценкой. Отметим, что в работе [130], использующей вычислительный уровень RI-MP2/cc-pVDZ, было исследовано 337 структур на потенциальной энергетической поверхности (ПЭП) взаимодействия A·T пары с молекулой воды. Среди 20 наиболее устойчивых структур, отличающихся энергиями стабилизации менее чем на 3 ккал·моль<sup>-1</sup>, было найдено 12 планарных водородно-связанных и 5 стэкинг-структур  $[A \cdot T]_{WC}$  пары с молекулой воды. Глобальный минимум данной ПЭП занимает, согласно [130], структура с энергией взаимодействия, равной  $-7,06$  ккал·моль<sup>-1</sup>, которая отвечает комплексу HB8 (в обозначениях рисунка 2(a) работы [130])  $[A \cdot T]-H_w - O_w - H_w'$ , в котором молекула воды образует водородный мостик



и в котором [A·T] пара не является, к нашему удивлению, ни уотсон-криковской, ни хугстеновской, а образуется благодаря водородным связям O4(T)···H8(T)-N8(A) и N3(T)-H3(T)···N3(A).

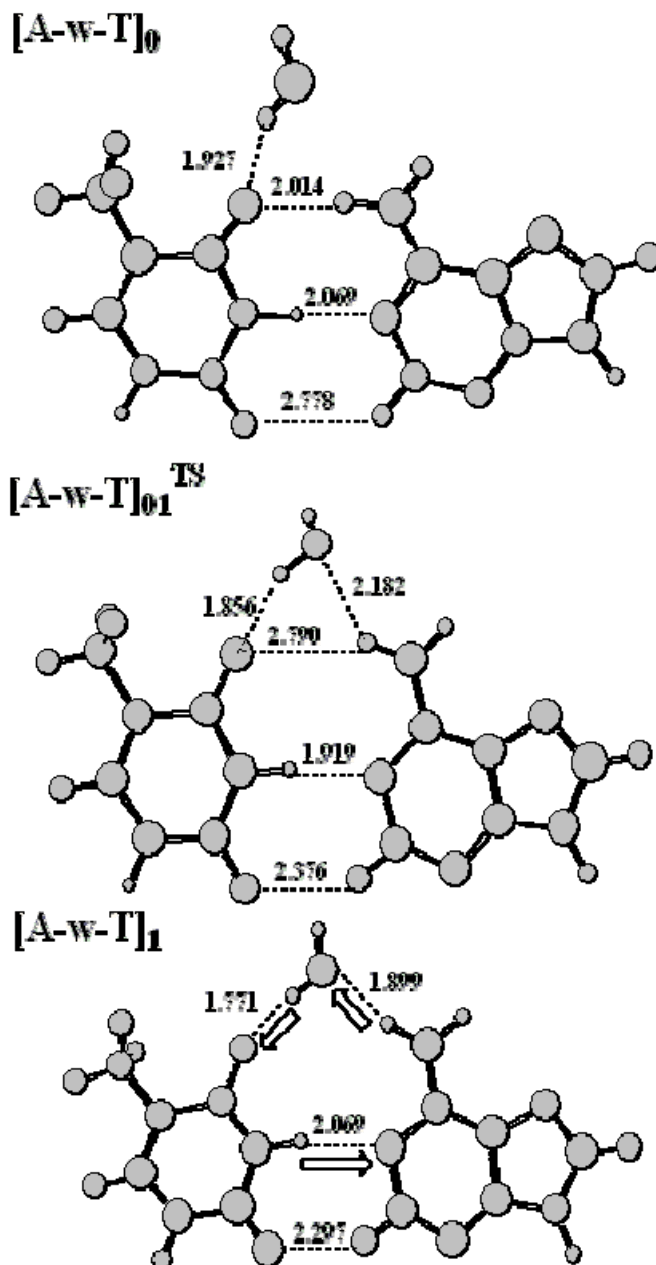


Рис. 6. Геометрии моно-гидратированных пар оснований, описывающих приоткрытие молекулой воды [A·T]<sub>wc</sub>. В последней паре стрелки указывают возможные пути переноса протона, о котором идет речь ниже.

Указанный выше комплекс [A-w-T]<sub>0</sub>, в некотором смысле, предваряет процесс, в котором молекула воды w внедряется во внутрь [A·T]<sub>wc</sub> пары со стороны большого желоба — в результате образуется структура [A-w-T]<sub>1</sub>, которая была найдена нами впервые в работах [133, 134]. Последняя также изображена на Рис. 6, где видна

некоторая «приоткрытость» (приоткрытие пары определяется разностью углов  $\Delta\alpha_3 = \alpha_3 - \alpha_3^{WC}$  и  $\Delta\alpha_4 = \alpha_4 - \alpha_4^{WC}$ , где  $\alpha_3$  и  $\alpha_4$  определены в Табл. 2) уотсон-криковской пары А·Т (точнее,  $[A\cdot T]_{WC}$ ), а именно ее внешней водородной связи со стороны большого желоба. Энергетические затраты на такое «приоткрытие» составляют примерно  $6,5 \text{ ккал}\cdot\text{моль}^{-1}$ . Такая приоткрытая пара  $[A-w-T]_0$  может встраиваться в двойную спираль ДНК без существенных нарушений её регулярности, что было подтверждено в работах по молекулярно-динамическому моделированию подвижности оснований в парах ДНК в водном растворе [135] и в кристаллографических исследованиях по открытой G-C паре [136]. Действительно, достаточно взглянуть на Рис. 7, иллюстрирующий переход от  $[A-w-T]_0$  к  $[A-w-T]_1$ , затраты на который составляют примерно  $0,9 \text{ ккал}\cdot\text{моль}^{-1}$ . Вообще говоря, известно, что гидратация ДНК может как стабилизировать обе пары, А·Т и G·С, так и дестабилизировать их, причем, либо только последнюю, либо обе. Обычно (см., например, [133, 134, 69] и приведенные там ссылки), компьютерные модели гидратации ДНК не нарушают целостности ее пар. В этом смысле, структура  $[A-w-T]_1$  определенно отличается от известных структур гидратирования пары  $[A\cdot T]_{WC}$ .

Таблица 2. Параметры оснований нуклеиновых кислот изучаемых структур А-Т пар оснований без и с молекулой воды, А-w-Т, рассчитанные методом B3LYP/6-31+G(d): R — расстояние между N9(A) и N1(T),  $\alpha_1 = \angle N9(A)N9N1(T)$ ,  $\alpha_2 = \angle N1(T)N1N9(A)$ . Остальные углы  $\alpha_3 = \angle N1(A)N3C4(T)$ ,  $\alpha_4 = \angle N3(T)N1C6(A)$ ,  $\alpha_5 = \angle C2C3(T)C6N3(A)$ , и  $\alpha_6 = \angle N1C4(A)N3C6(T)$  определяют, соответственно, приоткрывание, пропеллер (твист) и openings, propeller (twist), и изгиб, согласно определению, данному в [137].

Структура	R (Å)	$\alpha_1$ (°)	$\alpha_2$ (°)	$\alpha_3$ (°)	$\alpha_4$ (°)	$\alpha_5$ (°)	$\alpha_6$ (°)
$[A\cdot T]_{WC}$	10,184 10,10 <sup>1</sup>	54,0 54,5 <sup>1</sup>	54,6 55,5	116,1	123,6	0,0	0,77
$[A-w-T]_0$	9,510	65,3	67,7	125,2	139,7	26,4	178,67
$[A-w-T]_{01}^{TS}$	9,126	60,89	68,3	129,1	133,2	45,8	174,87
$[A-w-T]_1$	9,158 9,191 <sup>2</sup>	64,4 63,7 <sup>2</sup>	70,3 68,8 <sup>2</sup>	131,1 130,0 <sup>2</sup>	132,5 132,7 <sup>2</sup>	-32,6 -33,0 <sup>2</sup>	-179,13 179,85 <sup>2</sup>
$[A-w-T]_{12}^{TS}$	9,144	62,6	75,0	139,8	126,8	22,5	-175,49
$[A-w-T]_2$	9,326	63,7	78,1	144,2	123,6	-15,0	177,09

<sup>1</sup>Табл. 1 из работы [69]. <sup>2</sup> Настоящая работа: B3LYP/6-311++G(d,p).

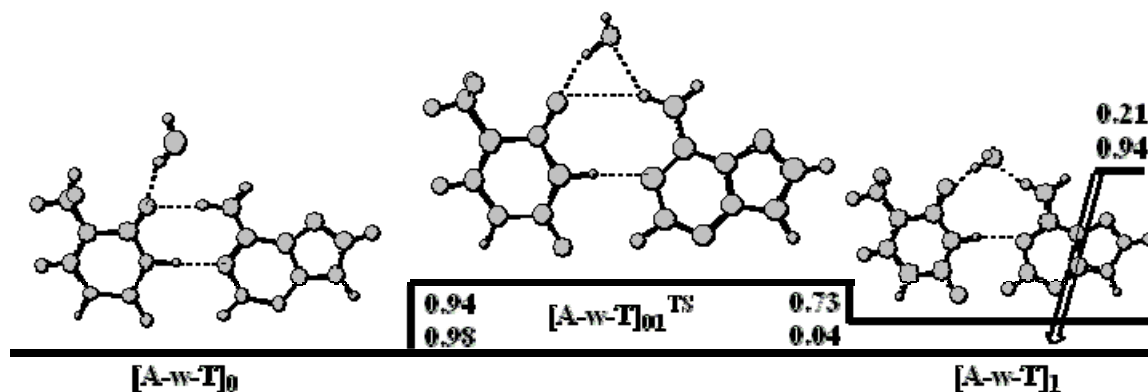


Рис. 7. Потенциальная поверхность приоткрывания водой комплементарной пары  $[A\cdot T]_{WC}$ . Геометрические характеристики указанных на рисунке пар оснований представлены на Рис. 6. Величина барьера определяется двумя цифрами (в  $\text{ккал}\cdot\text{моль}^{-1}$ ): верхняя — без учета нулевых колебаний, нижняя — с учетом. Переходное состояние характеризуется отрицательной частотой перехода  $\nu_{TS} = 46 \text{ i cm}^{-1}$ .

В нашей, совместно с С.Н. Волковым, работе [70] мы предлагаем компьютерную модель механизма образования таутомерных мутаций в паре А-Т со встроенной молекулой воды. Мы показываем, что этот механизм в корне отличается от механизма Лёвдина двойного переноса протона благодаря тому, что встроенная молекула воды разрушает симметрию водородных связей, существующую в уотсон-криковской паре. Но это уже совсем другая история.

Суммируя вышесказанное, важно отметить следующее: с одной стороны, в приоткрытых парах со встроенной молекулой воды на внешней водородной связи создаются более благоприятные условия для переходов протонов между основаниями по центральной водородной связи. В этом случае водородные связи оснований в меньшей степени препятствуют переходу протона из-за меньшего электростатического отталкивания (большого расстояния) между ними. Поэтому приоткрытые пары с большей вероятностью могут служить источником образования таутомерных форм нуклеиновых оснований и служить вероятным механизмом образования точечных мутаций в ДНК. При этом, центральные водородные связи с участием иминогрупп оснований в парах остаются неповрежденными.

## ПОСЛЕСЛОВИЕ

*"We used to think our fate was in our stars. Now we know, in large measures, our fate is in our genes."*

J.D. Watson, quoted in Time magazine, 20 March, 1989; [138]

*«... знать, для чего живешь, или же все пустяки, трын-трава».*

Маша (А.П. Чехов «Три сестры»)

Для меня, так, я думаю и уверен, и для Юрия Павловича, статья Уотсона и Крика об открытии структуры ДНК была откровением: для меня, естественно, позже — оно продолжается и поныне. Здесь же, в этой работе я попытался как-то обозначить вклад Юрия Павловича Благого в такой ретроспективе истории открытия ДНК и роли водородных связей в ее двуспиральной структуре, ее функционировании — посредством мутаций — в эволюции, и на фоне вкладов других ученых в таком срезе. И посему решил закончить эту работу любимой чеховской фразой — «Знать, для чего живешь». Убежден, Ю.П. Благой знал, для чего и ради чего жил.

Наконец, подведем итоги. Зная, благодаря Уотсону и Крику, структуру ДНК, мы предсказали ее некоторые свойства — в основном, ее мутагенные свойства. Вообще говоря, предсказание функциональных свойств по структуре — это такая же старая цель, как молекулярная биология, да и сама биология: очевидно, первый взгляд на анатомию животного, как и первый взгляд на белок или ДНК, должен был родить вопрос «Как это работает?». В этом — убежден — и была цель жизни Юрия Павловича Благого!

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор не имеет никаких конфликтов интересов.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Настоящая работа выполнена в рамках темы «Конформационная механика биологических макромолекул» лаборатории биофизики макромолекул Института теоретической физики им. Н.Н. Боголюбова НАН Украины. Я хотел бы выразить



благодарность Юрию П. Благому, Сергею Н. Волкову, Леониду Г. Горбу, Виктору И. Данилову, Галине И. Довбешко, Илье Г. Каплану, Энрико Клементи, Джине Коронджу, Светлане В. Корниловой, Яношу Ладику, Пер-Олов Лёвдину, Ежи Лещинскому, Владимиру Я. Малееву, Альберте и Бернарду Пульманам, Джеку Сабину, Леониду Ф. Суходубу, Максиму Д. Франк-Каменецкому, Фрэнку Харрису, Вольфраму Зенгеру и Георгию В. Юхневичу за те минуты и часы многократных обсуждений многогранных проблем ДНК и водородной связи в течение многих последних лет, которые, несомненно, помогли мне сформулировать круг задач, составляющих данную работу и выполнить ее так, чтобы не было стыдно посвятить ее памяти Юрия Павловича Благого. В заключение, я также хотел бы поблагодарить художницу Алёну Сергей за неожиданно-чудесную *инь-янь* композицию на Рис. 1, объединяющую красно- и синесдвинутые водородные связи.

#### Author's ORCID ID

E. S. Kryachko  <https://orcid.org/0000-0002-8179-1849>

#### REFERENCES

1. Blagoi YP. DNA interaction with biologically active substances (metal ions, dyes, drugs). *Soros Educational Journal*. 1998;10:18–24. Available from: [https://web.archive.org/web/20061209031559/http://journal.issep.rssi.ru/articles/pdf/9810\\_018.pdf](https://web.archive.org/web/20061209031559/http://journal.issep.rssi.ru/articles/pdf/9810_018.pdf) (in Russian)
2. Karachevtsev VO, Kosevich MV, Zhigalova NM. In memory of Professor Yuri P. Blagoi. *Biophysical bulletin*. 2018;39(1):81–2. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2018-39-07> (in Ukrainian)
3. Watson JD, Crick FHC. Molecular structure of nucleic acids: A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*. 1953;171:737–8. <https://doi.org/10.1038/171737a0>
4. Chambers DA, editor. DNA: The Double Helix. Perspective and Prospective at 40 Years. *Ann N Y Acad Sci*. 1995;758:1–441. Available from: <https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/toc/17496632/1995/758/1>
5. Pearson H. Beyond the double helix. *Nature*. 2003;421:310–2. <https://doi.org/10.1038/421310a>
6. Gilbert W. Life after the helix. *Nature*. 2003;421:315–6. <https://doi.org/10.1038/421315a>
7. Dennis C, Campbell P. The eternal molecule. *Nature*. 2003;421:396. <https://doi.org/10.1038/nature01396>
8. Wilkins MHF, Stokes AR, Wilson HR. Molecular structure of nucleic acids: Molecular structure of deoxyribose nucleic acids. *Nature*. 1953;171:738–40. <https://doi.org/10.1038/171738a0>
9. Franklin RE, Gosling RG. Molecular configuration in sodium thymonucleate. *Nature*. 1953;171:740–41. <https://doi.org/10.1038/171740a0>
10. Olby R. Quiet debut for the double helix. *Nature*. 2003;421:402–5. <https://doi.org/10.1038/nature01397>
11. McCarty M. Discovering genes are made of DNA. *Nature*. 2003;421:406. <https://doi.org/10.1038/nature01398>
12. Maddox B. The double helix and the 'wronged heroine'. *Nature*. 2003;421:407–8. <https://doi.org/10.1038/nature01399>
13. Pääbo S. The mosaic that is our genome. *Nature*. 2003;421:409–12. <https://doi.org/10.1038/nature01400>
14. Chakravarti A., Little A. Nature, nurture and human disease. *Nature*. 2003;421:412–4. <https://doi.org/10.1038/nature01401>
15. Bell JI. The double helix in clinical practice. *Nature*. 2003;421:414–6. <https://doi.org/10.1038/nature01402>
16. Kemp M. The *Mona Lisa* of modern science. *Nature*. 2003;421:416–20. <https://doi.org/10.1038/nature01403>
17. Ball P. Portrait of a molecule. *Nature*. 2003;421(6921):421–2. <https://doi.org/10.1038/nature01404>
18. Bustamante C, Bryant Z, Smith SB. Ten years of tension: single-molecule DNA mechanics. *Nature*. 2003;421:423–7. <https://doi.org/10.1038/nature01405>
19. Seeman NC. DNA in a material world. *Nature*. 2003;421:427–31. <https://doi.org/10.1038/nature01406>
20. Alberts B. DNA replication and recombination. *Nature*. 2003;421:431–5. <https://doi.org/10.1038/nature01407>
21. Friedberg EC. DNA damage and repair. *Nature*. 2003;421:436–40. <https://doi.org/10.1038/nature01408>
22. Nossal GJV. The double helix and immunology. *Nature*. 2003;421:440–4. <https://doi.org/10.1038/nature01409>
23. Hood L, Galas D. The digital code of DNA. *Nature*. 2003;421:444–8. <https://doi.org/10.1038/nature01410>
24. Felsenfeld G, Groudine M. Controlling the double helix. *Nature*. 2003;421:448–53. <https://doi.org/10.1038/nature01411>

25. Watson JD, Berry A. DNA: the Secret of Life. New York: Alfred A. Knopf; 2003. 446 p. ISBN: 0-375-41546-7.
26. Hovorun D. Gold anniversary of DNA double helix discovery. *Biopolym Cell*. 2003;19(3):209–10. <https://doi.org/10.7124/bc.19.3> (in Ukrainian)
27. Blagoi YP, Galkin VL, Gladchenko GO, et al. Metallokompleksy nukleinykh kislot v rastvorakh [Metal-containing complexes of nucleic acids in solutions]. Maleev V.Ya, editor. Kyiv: Naukova dumka; 1991. 270 p. ISBN 5-12-002499-0 (In Russian).
28. Jeffrey GA, Saenger W. Hydrogen Bonding in Biological Structures. Berlin: Springer-Verlag; 1991. 569 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-85135-3>
29. Moore TS, Winmill TF, CLXXVII. — The state of amines in aqueous solution. *J Chem Soc, Trans*. 1912;101:1635–76. <https://doi.org/10.1039/CT9120101635>
30. Huggins ML. 50 Years of Hydrogen Bond Theory. *Angew Chem Int Ed*. 1971;10:141–52. <https://doi.org/10.1002/anie.197101471>
31. Latimer WM, Rodebush WH. Polarity and ionization from the standpoint of the Lewis theory of valence. *J Am Chem Soc*. 1920;42(7):1419–33. <https://doi.org/10.1021/ja01452a015>
32. Pauling L. The shared-electron chemical bond. *PNAS*. 1928;14(4):359–62. <https://doi.org/10.1073/pnas.14.4.359>
33. Nernst W. Verteilung eines Stoffes zwischen zwei Lösungsmitteln und zwischen Lösungsmittel und Dampfraum. *Z Phys Chem*. 1891;8(1):110–39. <https://doi.org/10.1515/zpch-1891-0806> (in German)
34. Werner A. Über Haupt- und Nebenvalenzen und die Constitution der Ammoniumverbindungen. *Justus Liebigs Annal Chem*. 1902;322:261–97. <https://doi.org/10.1002/jlac.19023220302> (in German)
35. Oddo G, Puxeddu E. Sui 5-azoeugenoli e la costituzione dei cosidetti o-ossiazocomposti. *Gazz Chim Ital*. 1906;36(II):1–48.
36. Pfeiffer P, Fischer Ph, Kuntner J, Monti P, Pros Z. Zur theorie der Farblacke, II. *Justus Liebigs Annal Chem*. 1913;398:137–96. <https://doi.org/10.1002/jlac.19133980203>
37. Yuhnevich G.V. Vodorodnaja svjaz' – chastnyj sluchaj gipervalentnoj svjazi M.A. Il'inskogo [Hydrogen bond is a particular case of hypervalent bond by M.A. Illinski]. Idlis GM, editor. *Issledovaniya po istorii fiziki i mehaniki [Studies in the history of physics and mechanics]*. Moscow: Nauka; 2003. p. 220–36. ISBN: 5-02-002834-7 (in Russian).
38. Lewis GN. Valence and Structure of Atoms and Molecules. New York: The Chemical Catalog Company, Inc.: 1923. 172 p.
39. Pimentel GC, McClellan AL. The Hydrogen Bond. Moscow: Mir; 1964. 462 p. (in Russian).
40. International Union of Pure and Applied Chemistry. Compendium of Chemical Terminology, Gold Book, Version 2.3.3, 2014-02-24. Available from: <http://goldbook.iupac.org/files/pdf/goldbook.pdf>
41. Arunan E, Desiraju GR, Klein RA, Sadlej J, Scheiner S, Alkorta I, et al. Definition of the hydrogen bond (IUPAC Recommendations 2011). *Pure Appl Chem*. 2011;83(8):1637–41. <https://doi.org/10.1351/PAC-REC-10-01-02>
42. Arunan E, Desiraju GR, Klein RA, Sadlej J, Scheiner S, Alkorta I, et al. Defining the hydrogen bond: An account (IUPAC Technical Report). *Pure Appl Chem*. 2011;83:1619–36. <https://doi.org/10.1351/PAC-REP-10-01-01>
43. Kryachko ES. The concept of protonation in examples: From atoms and molecules to Watson-Crick base pairs of DNA. In: Germogen A, editor. *Protonation: properties, applications and effects*. New York: Nova Science Publishers; 2019. p. 143–236. ISBN: 978-1-53614-886-2
44. Pauling L. The nature of the chemical bond and the structure of molecules and crystals: An introduction to modern structural chemistry. 3rd ed. New York: Cornell University Press; 1960. 644 p. ISBN-13: 978-0801403330
45. Kaplan I.G. Vvedenie v teoriyu mezhmolekuliarnykh vzaimodeystvii. [Introduction to the theory of intermolecular interactions]. Moscow: Nauka; 1982. 312 p. (in Russian)
46. Kryachko ES. Neutral blue-shifting and blue-shifted hydrogen bonds. In: Grabowski S, editor. *Hydrogen Bonding — New Insights*. Dordrecht: Springer; 2006. p. 293–336. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4853-1\\_8](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4853-1_8)
47. Frank-Kamenetskii MD. Samaia glavnaia molekula [The most important molecule]. Moscow: Nauka; 1983. 160 p. (in Russian).
48. Sinden RR. DNA twists and flips. *Nature*. 2005;437:1097–8. <https://doi.org/10.1038/4371097a>
49. Volkov SN. The conformational dependence of low-frequency vibrations of DNA macromolecule. *Biopolym Cell*. 1991;7(1):40–9. <https://doi.org/10.7124/bc.0002B0> (in Russian)
50. Watson JD, Crick FHC. The structure of DNA. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 1953;18:123–31. <https://doi.org/10.1101/SQB.1953.018.01.020>
51. Cochran W, Crick FHC, Vand V. The structure of synthetic polypeptides. I. The transform of atoms on a helix. *Acta Cryst*. 1952;5:581–6. <https://doi.org/10.1107/S0365110X52001635>

52. Wilkins MHF, Wilson HR, Hamilton LD. Secondary structure of DNA. PNAS. 1970;65(3):761–2. <https://doi.org/10.1073/pnas.65.3.761>
53. Wu TT. Secondary structures of DNA. PNAS. 1969;63(2):400–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.63.2.400>
54. Watson JD. The Double Helix. A Personal Account of the Discovery of the Structure of DNA. New York: Atheneum; 1968. 226 p.
55. Asimov A. Geneticheskii kod [The Genetic Code]. Moscow: Tcentropoligraf; 2006. 202 p. (in Russian). ISBN: 5-9524-2230-6
56. Elkin LO. Rosalind Franklin and the Double Helix. Physics Today. 2003;56(3):42–8. <https://doi.org/10.1063/1.1570771>
57. Manchester KL. Did a tragic accident delay the discovery of the double helical structure of DNA? Trends Biochem Sci. 1995;20(3):126–8. [https://doi.org/10.1016/s0968-0004\(00\)88981-1](https://doi.org/10.1016/s0968-0004(00)88981-1)
58. Kuhn TS. Struktura nauchnykh revoliutcii [The structure of scientific revolutions]. Moscow: Progress; 1977. 300 p. (in Russian).
59. Dufour F. The Realities of 'Reality' — Part II: Making Sense of Why Modern Science Advances (Volume 1). 2018. Chapter XI: The Molecular Biology Revolution; p. 204–18. Available from: <https://ssrn.com/abstract=3251682>
60. Hoshika S, Leal NA, Kim M-J, Kim M-S, Karalkar NB, Kim H-J, et al. Hachimoji DNA and RNA: A genetic system with eight building blocks. Science. 2019;363:884–7. <https://doi.org/10.1126/science.aat0971>
61. Warren M. Four new DNA letters double life's alphabet. Nature. 2019;566:436. <https://doi.org/10.1038/d41586-019-00650-8>
62. Georgiadis MM, Singh I, Kellett WF, Hoshika S, Benner SA, Richards NGJ. Structural basis for a six nucleotide genetic alphabet. J Am Chem Soc. 2015;137(21):6947–55. <https://doi.org/10.1021/jacs.5b03482>
63. Kryachko ES. The origin of spontaneous point mutations in DNA via Löwdin mechanism of proton tunneling in DNA base pairs: Cure with covalent base pairing. Int J Quantum Chem. 2002;90(2):910–23. <https://doi.org/10.1002/qua.975>
64. Jeffrey GA. An Introduction to Hydrogen Bonding. New York: Oxford University Press; 1997. 320 p. ISBN 0-19-509549-9
65. Saenger W. The Principles of Nucleic Acid Structure. Moscow: Mir; 1987. 584 p. (in Russian).
66. Sinden RR. DNA Structure and Function. Academic Press: San Diego; 1994. 398 p. ISBN: 9780126457506
67. Bulavin LA, Hovorun DM, Nikolaienko TYu. Structure of the monomers of DNA. Kyiv: Naukova Dumka; 2014. 205 p. <https://doi.org/10.13140/2.1.2257.1208> (in Russian)
68. Sukhodub LF. Interactions and hydration of nucleic acid bases in a vacuum. Experimental study. Chem Rev. 1987;87(3):589–606. <https://doi.org/10.1021/cr00079a006>
69. Gorb L, Podolyan Y, Dziekonski P, Sokalski WA, Leszczynski J. Double-proton transfer in adenine-thymine and guanine-cytosine base pairs. A post-Hartree-Fock ab initio study. J Am Chem Soc. 2004;126(32):10119–29. <https://doi.org/10.1021/ja049155n>
70. Kryachko ES, Volkov SN. To the understanding of the mechanism of formation of point mutations in DNA. Dopov Nac acad nauk Ukr. 2018;7:103–12. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2018.07.103> (in Ukrainian).
71. Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, et al. *Gaussian 09*, Revision C.01; Gaussian, Inc.: Wallingford CT, 2010. Available from: <https://gaussian.com/>
72. Hoogsteen K. The crystal and molecular structure of a hydrogen-bonded complex between 1-methylthymine and 9-methyladenine. Acta Cryst. 1963;16:907–16. <https://doi.org/10.1107/S0365110X63002437>
73. Nikolova EN, Kim E, Wise AA, O'Brien PJ, Andricioaei I, Al-Hashimi HM. Transient Hoogsteen base pairs in canonical duplex DNA. Nature. 2011;470:498–502. <https://doi.org/10.1038/nature09775>
74. Frank-Kamenetskii MD. DNA breathes Hoogsteen. Artificial DNA: PNA & XNA. 2011;2(1):1–3. <https://doi.org/10.4161/adna.2.1.15509>
75. Subirana JA. DNA discoveries through crystallography. Nature. 2003;423(6941):683. <https://doi.org/10.1038/423683b>
76. Nikolova EN, Zhou H, Gottardo FL, Alvey HS, Kimsey IJ, Al-Hashimi HM. A historical account of Hoogsteen base-pairs in duplex DNA. Biopolymers. 2013;99:955–68. <https://doi.org/10.1002/bip.22334>
77. Ichas M. Biologicheskii kod [Biological code]. Moscow: Mir. 1971. 352 p. (in Russian)
78. Six thousand pet dogs help find mutation for one breed's striking blue eyes. Nature. 2018;562:310. <https://doi.org/10.1038/d41586-018-06987-w>
79. Deane-Coe PE, Chu ET, Slavney A, Boyko AR, Sams AJ. Direct-to-consumer DNA testing of 6,000 dogs reveals 98.6-kb duplication associated with blue eyes and heterochromia in Siberian Huskies, PLoS Genet. 2018;14(10), e1007648. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007648>
80. Lehninger AL. Biochemistry: The Molecular Basis of Cells Structure and Function. Moscow: Mir; 1976. 960 p. (in Russian).

81. Stent GS, Kjelindar R. Molekuliarnaia genetika [Molecular genetics]. Moscow: Mir; 1974. 614 p. (in Russian).
82. Korzhinskii S. Geterogenesis i evolyutsiya. K teorii proishozhdeniya vidov [Heterogenesis and evolution. On theory of the origin of species]. Mémoires de l'Académie Impériale des Sciences de St. Pétersbourg. Série VIII. 1899;9(2):1–94. Available from: <http://libarch.nmu.org.ua/bitstream/handle/GenofondUA/7317/4150d1dd5615e1288e0666d6427c6a47.djvu?sequence=1&isAllowed=y> (in Russian).
83. Friz E. Molekuliarnyi mekhanizm mutatsii [Molecular mechanism of mutations] In: Belozerskii AN, editor. Molekuliarnaia genetika [Molecular genetics]. Part I. Moscow: Mir; 1964. p. 226–91. (in Russian)
84. De Friz G. Izbrannye proizvedeniia [Selected works]. Moscow: Gosudarstvennoe medicinskoe izdatel'stvo; 1932. 148 p. (in Russian). ISBN: 978-5-4458-1972-1
85. Chetverikov SS. O nekotorykh momentakh evoliutsionnogo protsessa s tochki zreniia sovremennoi genetiki [On some moments of evolutionary process from the viewpoint of the modern genetics]. Biull. Moskovskogo obshchestva ispytatelei prirody. Otdel biologicheskii [Bull. Moscow Society of nature investigators. Biology department]. 1965;70(4). (in Russian)
86. Soifer V. Ochen lichnaia kniga. Vospominaniia o velikikh rossiiskikh uchenykh Sergee Chetverikove i Nikolae Timofeeve-Resovskom [A very private book. Memoirs on the great Russian scientists S. Chetverikov and Nikolai Timofeev-Resovski.]. Novyi Mir. 2009;3. (in Russian). Available from: [https://magazines.gorky.media/novyi\\_mi/2009/3/ochen-lichnaya-kniga.html](https://magazines.gorky.media/novyi_mi/2009/3/ochen-lichnaya-kniga.html)
87. Danilov VI, Kventcel GF. Elektronnye predstavleniia v teorii tochechnykh mutatsii [Electronic representations in point mutation theory]. Kyiv: Naukova dumka; 1971. 84 p. (in Russian)
88. Meselson M, Stahl FW. The replication of DNA in Escherichia coli. PNAS. 1958;44(7):671–82. <https://doi.org/10.1073/pnas.44.7.671>
89. Friedberg EC, Walker GC, Siede W, Wood RD, Schultz RA, Ellenberger T. DNA repair and mutagenesis. 2nd ed. Washington: ASM Press; 2006. Part 3, DNA damage tolerance and mutagenesis. p. 461-750. <https://doi.org/10.1128/9781555816704>
90. Jonczyk P, Fijalkowska I, Ciesla Z. Overproduction of the subunit of DNA polymerase III counteracts the SOS mutagenic response of Escherichia coli. PNAS. 1988;85(23):9124–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.23.9124>
91. Nee S. Deleterious mutation and genetic recombination. Nature. 1988;331:308. <https://doi.org/10.1038/331308a0>
92. Timoféeff-Ressovsky NW, Zimmer KG, Delbrück M. Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur. Nachrichten der Gesellschaft der Wissenschaften zu Göttingen (VI). 1935;1:189–245. Available from: <https://www.ini.uzh.ch/~tobi/fun/max/timofeeffZimmerDelbruck1935.pdf>
93. Schrödinger E. What is life? The Physical Aspect of the Living Cell. Cambridge University Press; 1944. 194 p.
94. Fischer EP. Max Delbrück. Genetics. 2007;177(2):673–6. Available from: <https://www.genetics.org/content/177/2/673.article-info>
95. Bohr N. Light and Life. Nature. 1933;131:421–3. <https://doi.org/10.1038/131421a0>
96. Fischer EP, Lipson CP. Thinking About Science: Max Delbrück and the Origin of Molecular Biology. New York: W.W. Norton & Co Inc. 1988. 334 p. ISBN: 978-0393025088
97. Bohr N. Licht und Leben-noch einmal. Naturwissenschaften. 1963;50:725–7. <https://doi.org/10.1007/BF00627713> (in German)
98. Topal MD, Fresco JR. Complementary base pairing and the origin of substitution mutations. Nature. 1976;263:285–9. <https://doi.org/10.1038/263285a0>
99. Goodman MF. Mutations caught in the act. Nature. 1995;378:237–8. <https://doi.org/10.1038/378237a0>
100. Brovarets' OO, Hovorun DM. Tautomeric transition between wobble A·C DNA base mispair and Watson-Crick-like A·C\* mismatch: microstructural mechanism and biological significance. Phys Chem Chem Phys. 2015;17:15103–10. <https://doi.org/10.1039/c5cp01568e>
101. Freese EB. On the molecular explanation of spontaneous and induced mutations. Brookhaven Symp Biol. 1959;12:63–75.
102. Pullman B, Pullman A. Electronic aspects of purine tautomerism. Adv Heterocycl Chem. 1971;13:77–159. [https://doi.org/10.1016/S0065-2725\(08\)60349-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2725(08)60349-9)
103. Kwiatkowski JS, Pullman B. Tautomerism and electronic structure of biological pyrimidines. Adv Heterocycl Chem. 1975;18:199–335. [https://doi.org/10.1016/S0065-2725\(08\)60131-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2725(08)60131-2)
104. Colominas C, Luque FJ, Orozco M. Tautomerism and protonation of guanine and cytosine. Implications in the formation of hydrogen-bonded complexes. J Am Chem Soc. 1996;118(29):6811–21. <https://doi.org/10.1021/ja954293l>
105. Clementi E. Structure of water and counter ions for nucleic acids in solution. In: Clementi E, Sarma RH, editors. Structure and Dynamics: Nucleic Acids and Proteins. N.Y.: Academic Press; 1983. p. 321–64.



106. Masoodi HR, Bagheri S, Abareghi M. The effects of tautomerization and protonation on the adenine–cytosine mismatches: a density functional theory study. *J Biomol Struct Dyn*. 2016;34(6):1143–55. <https://doi.org/10.1080/07391102.2015.1072734>
107. Löwdin P-O. Proton tunneling in DNA and its biological implications. *Rev Mod Phys*. 1963;35:724. <https://doi.org/10.1103/RevModPhys.35.724>
108. Löwdin P-O. Effect of Proton Tunnelling in DNA on Genetic Information and Problems of Mutations, Aging, and Tumors. *Biopolymers Symp*. 1964;1:161–81.
109. Brovarets' OO, Hovorun DN. How stable are the mutagenic tautomers of DNA bases? *Biopolym Cell*. 2010;26(1):72–6. <https://doi.org/10.7124/bc.000147> (in Ukrainian).
110. Löwdin P-O. The mathematical definition of a molecule and molecular structure. In: Maruani J, editor. *Molecules in physics, chemistry, and biology. Physical aspects of molecular systems. Volume 2*. Dordrecht: Springer; 1988. p. 3–60. <https://doi.org/10.1007/978-94-009-2851-0>
111. Löwdin P-O. On nuclear motion and the definition of molecular structure. *J Mol Struct: THEOCHEM*. 1991;230:13–5. [https://doi.org/10.1016/0166-1280\(91\)85169-8](https://doi.org/10.1016/0166-1280(91)85169-8)
112. McNaught AD, Wilkinson A. *IUPAC Compendium of Chemical Terminology (the "Gold Book")*. 2nd ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1997. Available from: <http://goldbook.iupac.org>
113. Brovarets' OO, Hovorun DM. Proton tunnelling in the A·T Watson-Crick DNA base pair: myth or reality? *J Biomol Struct Dyn*. 2015;33:2716–20. <https://doi.org/10.1080/07391102.2015.1092886>
114. Godbeer AD, Al-Khalili JS, Stevenson PD. Modelling proton tunnelling in the adenine-thymine base pair. *Phys Chem Chem Phys*. 2015;17:13034–44. <https://doi.org/10.1039/C5CP00472A>
115. Florián J, Hroudá V, Hobza V. Proton transfer in the adenine-thymine base pair. *J Am Chem Soc*. 1994;116(4):1457–60. <https://doi.org/10.1021/ja00083a034>
116. Platt JR. Chemical aspects of genetics. *Annu Rev Phys Chem*. 1965;16:503–24. <https://doi.org/10.1146/annurev.pc.16.100165.002443>
117. Löwdin P-O. Some Properties of the Hydrogen Bonds in Biochemistry with Particular Reference to the Stability of the Genetic Code. *Pontificiae Academiae Scientiarum. Scripta Varia. Semaine d'Etude sur les Forces Moléculaires*, 18-23 avril 1966. 1967 ;31:637–708.
118. Frank-Kamenetskii MD. Fluktuatsionnaia podvizhnost DNK [Fluctuation mobility of DNA]. *Mol Biol. (Moscow)*. 1983;17:639–52. (in Russian)
119. Frank-Kamenetskii MD, Prakash S. Fluctuations in the DNA double helix: A critical review. *Phys Life Rev*. 2014;11(2):153–70. <https://doi.org/10.1016/j.plrev.2014.01.005>
120. Jacobson B. Hydration structure of deoxyribonucleic acid and its physico-chemical properties. *Nature*. 1953;172:666–7. <https://doi.org/10.1038/172666a0>
121. Semenov MA, Maleev VYa. Energetika gidratatsii DNK [Energetics of DNA hydration]. *Biophysics (Russian)*. 1986; 31(5):764–71. (in Russian)
122. Maleev VYa, Semenov MA, Gasan AI. Energeticheskie aspekty gidratatsii DNK [Energetic aspects of the hydration of DNA]. In: *Ravnovesnaia dinamika struktury biopolimerov [Equilibrium dynamics of biopolymers' structure]*. Pushhino; 1990. (in Russian)
123. Yanson IK, Teplitsky AB, Sukhodub LF. Experimental studies of molecular interactions between nitrogen bases of nucleic acids. *Biopolymers*. 1979;18(5):1149–70. <https://doi.org/10.1002/bip.1979.360180510>
124. Verkin BI, Yanson IK, Sukhodub LF. *Vzaimodeistviia biomolekul: Novye eksperimentalnye podkhody i metody [The interactions of biomolecules: New experimental approaches and methods]*. Kyiv: Naukova Dumka; 1985. 164 p. (in Russian)
125. Perepelytsya SM. Dynamical ordering of metal ions around DNA double helix. *Visn Nac Akad Nauk Ukr*. 2014;1:89–95. (In Ukrainian). <https://doi.org/10.15407/visn2014.01.089>
126. Eisenberg B. Computing the field in proteins and channels. *J Membrane Biol*. 1996;150:1–25. <https://doi.org/10.1007/s002329900026>
127. Goldblum A, Perahia D, Pullman A. Hydration scheme of the complementary base-pairs of DNA, *FEBS Lett*. 1978;91(2):213–5. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(78\)81175-2](https://doi.org/10.1016/0014-5793(78)81175-2)
128. Clementi E, Corongiu G. A theoretical study of the water structure for nucleic acids bases and base pairs in solution at T=300K. *J Chem Phys*. 1980;72(7):3979–92. <https://doi.org/10.1063/1.439676>
129. Clementi E. Structure of water and counterions for nucleic acids in solution. In: Clementi E, Sarma RH, editors. *Structure and Dynamics: Nucleic Acids and Proteins*. New York: Adenine Press; 1983. p. 321–64.
130. Kabeláč M, Zendlova L, Řeha D, Hobza P. Potential energy surfaces of an adenine-thymine base pair and its methylated analogue in the presence of one and two water molecules: Molecular mechanics and correlated ab initio study. *J Phys Chem B*. 2005;109(24):12206–13. <https://doi.org/10.1021/jp045970d>
131. Poltev VI, Gonzalez EH, Teplukhin AV. Possible role of rare tautomers of DNA bases in mutagenesis: Evaluation of hydration effect on tautomeric equilibrium by Monte Carlo simulation. *Mol Biol. (Moscow)*. 1995;29(2): 213–9.

132. Danilov VI, Dailidonis VV, Mourik T, Fruchtl HA. A study of nucleic acid base-stacking by the Monte Carlo method: Extended cluster approach. *Cent Eur J Chem.* 2011;9(4):720–7. <https://doi.org/10.2478/s11532-011-0056-0>
133. Kryachko ES, Volkov SN. Preopened states of DNA base pair. *Physics of the Alive.* 2000;7(2):118–24.
134. Kryachko ES, Volkov SN. Preopening of the DNA base pairs. *Int J Quantum Chem.* 2001;82:193–204. <https://doi.org/10.1002/qua.1040>
135. Giudice E, Várnai P, Lavery R. Base pair opening within B-DNA: free energy pathways for GC and AT pairs from umbrella sampling simulations. *Nucl Acids Res.* 2003;31(5):1434–43. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg239>
136. van Aalten DMF, Erlanson DA, Verdine GL, Joshua-Tor L. A structural snapshot of base-pair opening in DNA. *PNAS.* 1999;96(21):11809–14. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.21.11809>
137. Diekmann S. Definitions and nomenclature of nucleic acid structure parameters. *J Mol Biol.* 1989;205(4):787–91. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(89\)90324-0](https://doi.org/10.1016/0022-2836(89)90324-0)
138. Jaroff I. The gene hunt. *Time.* 1989;133(12):62–7.

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-16>

## ВОСЬМИЙ З'ЇЗД УКРАЇНСЬКОГО БІОФІЗИЧНОГО ТОВАРИСТВА

Черговий VIII З'їзд Українського біофізичного товариства (УБФТ) було проведено упродовж 12–15 листопада 2019 року: 12–13 листопада у місті Києві у Київському національному університеті імені Тараса Шевченка (КНУ) та 14–15 листопада у місті Луцьку у Східноєвропейському національному університеті імені Лесі Українки (СНУ). Серед головних його організаторів були колективи кафедри біофізики та медичної інформатики ННЦ «Інститут біології та медицини» КНУ та кафедри фізіології людини і тварин СНУ.

Представники наукової спільноти з України та світу зібралися, щоб обговорити результати та перспективи актуальних досліджень у таких царинах, як теоретична біофізика, біофізика складних систем, біофізика клітин, молекулярна біофізика, вплив фізичних та хімічних факторів на живі системи, прикладна біофізика, медична та екологічна біофізика, медична та біологічна інформатика, методика викладання біофізики.

Із вітальним словом від імені адміністрації КНУ та Президії Українського біофізичного товариства до учасників конференції звернулися Перший віце-президент УБФТ, доктор біологічних наук, професор кафедри біофізики та медичної інформатики, проректор з наукової роботи КНУ імені Тараса Шевченка **Мартинюк Віктор Семенович** та заступник директора з наукової роботи та завідувач відділу біохімії м'язів Інституту біохімії імені О.В. Палладіна НАН України, академік НАН України, доктор біологічних наук, професор **Костернін Сергій Олексійович**, які побажали науковцям невтомно працювати за для розвитку вітчизняної науки, ділитися з колегами досягненнями та успіхами, але й дослухатися до конструктивної критики чи зауважень експертів.

Програма з'їзду була насиченою і включала 4 наукові сесії, під час яких було заслухано 20 пленарних та усних доповідей, та окрему наукову сесію, на якій були представлені доповіді студентів, аспірантів і молодих вчених, а також стендові доповіді учасників з'їзду; було проведено конкурс робіт молодих вчених. До роботи з'їзду приєдналися колеги з Великої Британії, Польщі та Угорщини. В СНУ імені Лесі Українки відбувся круглий стіл за участі членів Президії УБФТ та публічні лекції, з якими виступили чл.-кор. НАН України **Шуба Я.М.**, професор **Макарчук М.Ю.**, професор **Жолос О.В.**, Др. **О.В. Кораш**.

Відповідно до статуту УБФТ під час роботи з'їзду було розглянуто організаційні питання, зокрема заслухано звіт Президента УБФТ, на той час ректора СНУ, доктора біологічних наук, професора **Коцана Ігоря Ярославовича** про результати діяльності Товариства за попередній 4-річний термін. Під час загальної дискусії було обговорено стан та перспективи розвитку біофізики в Україні, визначено першочергові завдання УБФТ, серед яких активізація роботи осередків УБФТ, більш активна участь у роботі Асоціації Європейських Біофізичних Товариств (EBSA) та створення нового веб-порталу Товариства.

Відбулося обрання нових керівних органів УБФТ на наступний чотирьохрічний термін. Президентом УБФТ на наступну каденцію було обрано завідувача кафедри біофізики та медичної інформатики КНУ імені Тараса Шевченка, професора **Жолоса Олександра Вікторовича**, Першим віце-президентом — професора **Мартинюка В.С.**, віце-президентами — професорів **Шубу Я.М.**, **Говоруна Д.М.**, **Поручинського А.І.**,



вченим секретарем — *Цимбалюк О.В.*, скарбником — *Артеменка О.Ю.*; затверджено склад членів Президії та Ради УБФТ — керівних органів УБФТ у періоди між його з'їздами. Члени Президії та Ради УБФТ є представниками широкої «географії» біофізики в Україні, від Львова та Ужгорода до Харкова та Дніпра. Зокрема на пропозицію к.ф.-м.н. Береста В.П. до складу Ради УБФТ було обрано представників харківських наукових установ, у яких працюють відділи біофізики — професорів *Карачевцева В.О., Косевич М.В., Шестопалову Г.В.* (за згодою). Він також розповів про видатних вчених-біофізиків харків'ян *Юрія Павловича Благого* та *Володимира Яковича Малєєва*, які нещодавно відійшли у вічність. З'їзд вшанував покійних колег хвилиною мовчання.

Званням Почесного Президента УБФТ разом з *Мірошниченком М.С.* на цей раз було відзначено *Коцана І.Я.* за значний внесок у розвиток Товариства. Академік Костерін С.О. подякував Коцану І.Я. за працю впродовж двох каденцій на посаді Президента УБФТ. Член-кор. Шуба Я.М. запропонував залучати на з'їзди Товариства науковців, що займаються квантовою біофізикою, надавши їм окрему наукову сесію. Проф. Жолос О.В. подякував делегатам з'їзду за довіру, а проф. Коцану І.Я. за те, що саме в час його керівництва УБФТ вийшло на якісно новий рівень, зокрема Товариство було нарешті формалізовано в органах державної влади, відкрито рахунок Товариства, затверджено Статут, Товариство стало членом EBISA, відбувались виїзні засідання.

Окрім того, роботою З'їзду передбачалося декілька демонстрацій у лабораторіях ННЦ «Інститут біології та медицини» КНУ. Зокрема, 13 листопада 2019 року всі охочі мали нагоду ознайомитися з роботою навчального та дослідницького обладнання й програмного забезпечення для навчання студентів біомедичних спеціальностей, призначеного для реєстрації фізіологічних даних у лабораторіях та у польових умовах; презентацію проводив *Slav Dimov* — представник компанії BIOPAC (США), одного зі світових лідерів-виробників такої продукції.

За матеріалами VIII З'їзду УБФТ було видано збірку тез [1], яка включала звіти регіональних відділень УБФТ. Подальшу інформацію стосовно З'їзду, зокрема фотозвіт щодо основних його подій, можна знайти у Інтернет-ресурсах [2, 3].

Делегати з'їзду одноголосно вирішили провести наступний черговий IX З'їзд УБФТ у 2023 р. в Харкові на базі Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, у 2020 р. провести виїзне стратегічне засідання Президії та Ради товариства за участю керівників відділень в Ужгороді, а у 2021 році провести виїзне засідання УБФТ у Харкові.

Член-кор. Шуба Я.М. запропонував внести доповнення до Стратегії Товариства: залучати інвестиції, спонсорів та підтримав пропозицію к.ф.-м.н. Береста В.П. розвивати вже існуючий науковий журнал — «Біофізичний Вісник», що видається у Харкові, який в перспективі може стати офіційним виданням УБФТ. На з'їзді була створена робоча група з питань організації профільного журналу УБФТ, до складу якої ввійшли Шуба Я.М., Жолос О.В., Мартинюк В.С., Берест В.П., Цимбалюк О.В.

Делегати з'їзду також ухвалили провести дві міжнародні конференції за наступні 4 роки, продовжити практику проведення молодіжних міжнародних шкіл, у 2020 році провести робочу нараду по інтеграції у європейське професійне співтовариство, куди запросити президентів біофізичних товариств країн Європи та обговорити участь у проектах Horizon 2020 та транс'європейської школи «Фізика живого».

**Довідка:** Українське біофізичне товариство — добровільна й самоврядна наукова громадська організація викладачів, науковців, аспірантів і студентів, зайнятих у галузі біофізики або ж суміжних із нею галузях. Свою діяльність Товариство здійснює на всій

території України згідно з Конституцією України, чинним законодавством та Статутом Товариства. Метою Товариства є захист інтересів своїх членів в органах державної влади та управління, сприяння реалізації їх законних прав, об'єднання зусиль вчених біофізиків для сприяння вирішенню фундаментальних і прикладних наукових проблем біофізики.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Матеріали чергового VIII з'їзду Українського біофізичного товариства. Київ; 2019. 65 с. Доступно на: <https://drive.google.com/file/d/1qskIQVILIZUMggYOUT8yHRXAH9oaXGbn/view>
2. У КНУ відбувся Восьмий з'їзд Українського біофізичного товариства. [Інтернет]. [Цитовано 2020 Трав 15]. Доступно на: <https://univ.kiev.ua/news/10729>
3. VIII з'їзд Українського біофізичного товариства. [Інтернет]. [Цитовано 2020 Трав 15]. Доступно на: <https://biology.univ.kiev.ua/news/announcements-of-events/172-all-news/latest-news-new/1996-viii-z-jizd-ukrajinskogo-biofizichnogo-tovaristva.html>

#### REFERENCES

1. Materialy cherhovocho VIII z'izdu Ukrainskoho biofizychnoho tovarystva. Kyiv; 2019. 65 s. Dostupno za adresoju [Proceedings of the regular VIII Congress of Ukrainian Biophysical Society]. Kyiv; 2019. 65 p. Available from: <https://drive.google.com/file/d/1qskIQVILIZUMggYOUT8yHRXAH9oaXGbn/view>
2. U KNU vidbuvsia Vosmyi z'izd Ukrainskoho biofizychnoho tovarystva [Eighth Congress of Ukrainian Biophysical Society has been held in Kiev State University] [Internet]. [Cited 2020 May 15]. Available from: <https://univ.kiev.ua/news/10729>
3. VIII z'izd Ukrainskoho biofizychnoho tovarystva [VIII Congress of Ukrainian Biophysical Society] [Internet]. [Cited 2020 May 15]. Available from: <https://biology.univ.kiev.ua/news/announcements-of-events/172-all-news/latest-news-new/1996-viii-z-jizd-ukrajinskogo-biofizichnogo-tovaristva.html>

*О.В. Жолос<sup>1</sup>, О.Ф. Мороз<sup>1</sup>, В.П. Берест<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, Київ-601, 01601, Україна

<sup>2</sup>Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, 4, майдан Свободи, 61022, Харків, Україна  
e-mail: [a.zholos@univ.net.ua](mailto:a.zholos@univ.net.ua)  
e-mail: [berest@karazin.ua](mailto:berest@karazin.ua)

Alexander Zholos  <https://orcid.org/0000-0002-4320-149X>

Olesia Moroz  <https://orcid.org/0000-0002-3134-1647>

Volodymyr Berest  <https://orcid.org/0000-0001-7779-154X>

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-17>

## ПРЕМІЯ ВІД ФОНДУ L'ORÉAL-UNESCO «ДЛЯ ЖІНОК В НАУЦІ — 2019»

2019 року однією з трьох лауреаток української премії від L'Oréal-UNESCO «Для жінок в науці — 2019» стала членкиня редакційної колегії журналу «Біофізичний вісник», професорка **Трусова Валерія Михайлівна** [1].



Фото 1. Церемонія вручення премії від L'Oréal-UNESCO «Для жінок в науці — 2019» професорці Трусовій Валерії Михайлівні 12 грудня 2019 року.

**Історична довідка.** Французька компанія **L'Oréal** [2], заснована у 1909 році, є одним зі світових лідерів у царині парфумерії та косметики. Поряд з суто комерційною діяльністю компанія приділяє велику увагу науковим дослідженням і соціальним проектам, одним з яких є підтримка жінок, що займаються наукою. Так, разом з UNESCO компанія L'Oréal у рамках програми «L'Oréal-UNESCO For Women in Science Programme» [3] у 1998 році започаткувала щорічні премії для жінок-науковців з п'яти регіонів світу (Africa and the Arab States, Asia-Pacific, Europe, Latin America and North America) [4] за визначні наукові досягнення. Два роки тому українське відділення компанії «L'OREAL Україна» (ТОВ «ЛОРЕАЛЬ УКРАЇНА») [5] оголосило заснування Української Премії «Для жінок у науці» [6] як частини глобальної програми L'ORÉAL-ЮНЕСКО. Конкурс проводиться під патронатом Національної комісії України у справах ЮНЕСКО; партнери — Національна академія наук України [7], Центр «Розвиток корпоративної соціальної відповідальності». Мета Премії визначається як підтримка та відзнака талановитих жінок-науковиць, заохочення молодих жінок обирати наукові професії й допомога їм у їхній кар'єрі [6]. За умовами конкурсу Журі Премії визначає ТОП-10 фіналісток, з числа яких далі обирається троє переможниць [6, 8]. У 2019 році на конкурс було подано понад 200 заявок з наукових та освітніх закладів з 32 міст України [1, 8]. Переможницями другого сезону Української Премії L'Oréal-ЮНЕСКО «Для жінок у науці», поряд з **Валерією Трусовою**, стали: **Оксана Крупка**, кандидат хімічних наук, Київський національний університет імені Тараса

Шевченка, та *Катерина Терлецька*, докторка фізико-математичних наук, Інститут проблем математичних машин і систем НАН України.



Фото 2. Валерія Трусова на церемонії вручення премії від L'Oréal-UNESCO «Для жінок в науці — 2019».

**Трусова Валерія Михайлівна**, докторка фізико-математичних наук, доцентка, наразі займає посаду завідувачки кафедри медичної фізики та біомедичних нанотехнологій фізико-технічного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Уся її наукова кар'єра пов'язана з університетом: з 2001 по 2006 рік – навчання на радіофізичному факультеті, який закінчила з відзнакою; з 2006 по 2008 — аспірантка кафедри біологічної і медичної фізики. У 2008 році захистила кандидатську дисертацію за темою «Взаємодія лізоциму з модельними ліпідними мембранами», а у 2016 році докторську — «Білок-ліпідні взаємодії як модулятор агрегаційної поведінки білків» (за спеціальністю «біофізика» у спеціалізованій вченій раді Д 64.051.13).

Освітньо-педагогічна діяльність Трусової В.М. включає викладання курсів «Біологічна та медична фізика», «Фізика біомембран», «Біонанотехнології», «Комп'ютерне моделювання в біології та медицині» на фізико-технічному факультеті Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, керівництво аспірантами, бакалаврськими та магістерськими дипломними роботами студентів, науковими роботами учнів-членів Малої академії наук.

Загальна кількість публікацій Трусової В.М. становить понад 130 робіт у провідних фахових виданнях України та світу, з них — 58 статей у провідних міжнародних виданнях. Вона має 2 патенти України та є співавтором 4 навчальних посібників для здобувачів вищої освіти в області медичної та біологічної фізики [9–12] та монографії [13]. Сумарний імпаکت-фактор статей складає 84,55, h-індекс дорівнює 14, загальна кількість цитувань — 581.

Основні напрямки наукової діяльності Трусової В.М. — біофізика мембран: білок-

ліпідні взаємодії, агрегаційна поведінка білків у мембранному оточенні, створення ліпосомальних форм біологічно-активних препаратів, флуоресцентна спектроскопія, мікроскопія та молекулярно-динамічне моделювання.

Серед найвагоміших наукових досягнень Трусової В.М. слід зазначити розробку нових підходів до структурного аналізу амілоїдних фібрил, визначення ступеня олігомеризації білків на мембранній матриці, з'ясування закономірностей впливу префібрилярних та фібрилярних агрегатів білків на структурно-динамічний стан та фізико-хімічні властивості модельних ліпідних мембран різного складу, отримання доказів структурної трансформації амілоїдних фібрил у мембранному оточенні, встановлення ролі ліпідів в утворенні агрегаційно-компетентної конформації лізоциму, цитохрому С та N-термінального фрагменту аполіпопротеїну А-I.

Отримані експериментальні та теоретичні результати важливі для поглиблення уявлень щодо молекулярних механізмів амілоїдних патологій, розробки біосенсорних систем для їх ранньої діагностики, пошуку ефективних лікарських препаратів та розробки нових анти-амілоїдних стратегій.

В цілому, вагомість наукових здобутків Трусової В.М. є переконливим свідченням високого рівня біофізичної школи, яка була започаткована та розвивається у Харкові.

Активна життєва позиція, цілеспрямованість та працелюбність Валерії Михайлівни стали запорукою виборювання нею низки престижних грантів для молодих вчених для проведення наукових досліджень та міжнародного наукового співробітництва, зокрема гранту Президента України для молодих вчених (2019, 2009), стипендії Кабінету Міністрів України для молодих вчених (2018, 2010), гранту від Ettore Majorana Foundation and Centre for Scientific Culture для проходження стажування в Італії (2018), гранту від Human Frontier Science Foundation для проведення досліджень у США (2009), стипендії «Надія Харкова» ім. Б.І. Веркіна в області біофізики (2008), грант від European Biophysical Societies' Association для відвідування European Biophysical Congress (2007).

Творчі досягнення Трусової В.М. у 2016 році відзначені Державною премією Президента України для молодих вчених.

Колективи кафедри медичної фізики та біомедичних нанотехнологій Навчально-наукового інституту «Фізико-технічний факультет», кафедри молекулярної і медичної біофізики факультету радіофізики, біомедичної електроніки та комп'ютерних систем Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна та редакція журналу «Біофізичний вісник» вітають Валерію Михайлівну з досягненням, бажають їй подальшої творчої наснаги та нових звершень!

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- 12 грудня 2019 року L'ORÉAL УКРАЇНА провела церемонію нагородження переможниць 2 сезону Української Премії L'ORÉAL-ЮНЕСКО «Для жінок у науці» [Інтернет]. [Цитовано 2020 Трав 15]. Доступно на: <https://www.loreal.ua/media/novyny/12-grudnya-2019-roku-loreal-ukrayina-provela-ceremoniyu-nagorodzhennya-peremozhnyts-2-sezonu-ukrayinskoyi-premiyi-loreal-yunesko-dlya-zhinok-u-nauci-6560.htm>
- L'Oreal [Інтернет]. [Цитовано 2020 Трав 15]. Доступно на: <https://www.loreal.com/>
- L'Oréal Foundation. For Women in Science [Інтернет]. France: L'Oréal Foundation. [Цитовано 2020 Трав 15] Доступно на: <https://www.forwomeninscience.com/en/home>
- The L'Oréal-UNESCO For Women in Science International Awards [Інтернет]. [Цитовано 2020 Трав 15]. Доступно на: <https://en.unesco.org/science-sustainable-future/women-in-science/laureates>
- L'Oreal Україна [Інтернет]. [Цитовано 2020 Трав 15]. Available from: <https://www.loreal.ua>
- Українська Премія «Для жінок в науці — 2020» [Інтернет]. [Цитовано 2020 Трав 15]. Доступно на: <https://forwomeninscience.in.ua/>
- The press service of the NAS of Ukraine. Міжнародна премія L'OREAL-UNESCO 2020 для жінок-науковців [Інтернет]. [Цитовано 2020 Трав 15]. Доступно на: <http://www.nas.gov.ua/UA/Messages/Pages/View.aspx?MessageID=5042>



8. Премія L'OREAL UNESCO «Для жінок у науці» [Інтернет]. [Цитовано 2020 Трав 15]. Доступно на: <https://eventukraine.com/success/premiya-l-oreal-unesco-dlya-zhinok-u-nauci/>
9. Trusova VM, Ryzhova OA, Vus KO, Tarabara UK. Medical and biological physics. Practicum for students studying the subject in English. Kharkiv: V.N. Karazin Kharkiv National University; 2018. 123 p. ISBN 978-966-285-522-7
10. Трусова ВМ, Горбенко ГП, Гірич МС. Основи молекулярно-динамічного моделювання біополімерів. Харків: ХНУ ім. В. Н. Каразіна; 2016. 211 с. [Інтернет]. [Цитовано 2020 Трав 15]. Доступно на: <https://www.univer.kharkov.ua/images/redactor/news/2016-07-22/Trusova.pdf>
11. Трусова ВМ, Горбенко ГП, Евстигнеев МП. Физические основы биосенсорика: Учеб. пособие. М.: Вузовский учебник; 2015. 140 с. ISBN 978-5-9558-0415-6
12. Горбенко ГП, Іоффе ВМ. Біосенсорика: Навч.-метод. посіб. Х.: ХНУ імені В.Н. Каразіна; 2006. 74 с.
13. Trusova VM, Gorbenko GP. Protein aggregation and amyloid formation: membrane-related aspects. Kharkiv: V.N. Karazin Kharkiv National University; 2018. 151 p. ISBN 978-966-285-490-9

#### REFERENCES

1. 12 hrudnia 2019 roku L'ORÉAL UKRAINE provela tseremoniiu nahorodzhennia peremozhnyts 2 sezonu Ukrainskoi Premii LORÉAL-IuNESKO "Dlia zhinok u nautsi" [On December 12, 2019, L'ORÉAL UKRAINE held an award ceremony for the winners of the 2nd season of the L'ORÉAL-UNESCO Ukrainian Award "For Women in Science"] [Internet]. [Cited 2020 May 15]. Available from: <https://www.loreal.ua/media/novyny/12-grudnya-2019-roku-loreal-ukrayina-provela-ceremoniyu-nahorodzhennya-peremozhnyts-2-sezonu-ukrayinskoyi-premiyi-loreal-yunesko-dlya-zhinok-u-nauci-6560.htm> (in Ukrainian)
2. L'Oreal [Internet]. [Cited 2020 May 15]. Available from: <https://www.loreal.com/>
3. L'Oréal Foundation. For Women in Science [Internet]. France: L'Oréal Foundation. [Cited 2020 May 15] Available from: <https://www.forwomeninscience.com/en/home>
4. The L'Oréal-UNESCO For Women in Science International Awards [Internet]. [Cited 2020 May 15]. Available from: <https://en.unesco.org/science-sustainable-future/women-in-science/laureates>
5. L'Oreal.Ukraine. [Internet]. [Cited 2020 May 15]. Available from: <https://www.loreal.ua> (in Ukrainian)
6. Ukrainka Premiia "Dlia zhinok v nautsi – 2020" [Ukrainian prize For Women in Science] [Internet]. [Cited 2020 May 15]. Available from: <https://forwomeninscience.in.ua/> (in Ukrainian)
7. Mizhnarodna premiia LOREAL-UNESCO 2020 dlia zhinok-naukovtsiv [International prize LOREAL-UNESCO 2020 For Women in Science] [Internet]. [Cited 2020 May 15]. Available from: <http://www.nas.gov.ua/UA/Messages/Pages/View.aspx?MessageID=5042> (in Ukrainian)
8. Premiia L'OREAL UNESCO «Dlia zhinok u nautsi» [L'Oréal-UNESCO prize "For Women in Science"] [Internet]. [Cited 2020 May 15]. Available from: <https://eventukraine.com/success/premiya-l-oreal-unesco-dlya-zhinok-u-nauci/> (in Ukrainian)
9. Trusova VM, Ryzhova OA, Vus KO, Tarabara UK. Medical and biological physics. Practicum for students studying the subject in English. Kharkiv: V.N. Karazin Kharkiv National University; 2018. 123 p. ISBN 978-966-285-522-7
10. Trusova VM, Gorbenko GP, Girich MS. Fundamentals of the molecular-dynamics modeling of biopolymers. Kharkiv: V.N. Karazin Kharkiv National University; 2016. 211 p. [Internet]. [Cited 2020 May 15]. Available from: <https://www.univer.kharkov.ua/images/redactor/news/2016-07-22/Trusova.pdf> (in Ukrainian)
11. Trusova VM, Gorbenko GP, Evstigneev MP. Physical bases of a biosensorika. Moscow: Vuzovskii uchebnyk; 2015. 140 p. ISBN 978-5-9558-0415-6 (in Russian)
12. Gorbenko GP, Ioffe VM. Biosensorika. Kharkiv: V.N. Karazin Kharkiv National University; 2006. 74 p. (in Ukrainian)
13. Trusova VM, Gorbenko GP. Protein aggregation and amyloid formation: membrane-related aspects. Kharkiv: V.N. Karazin Kharkiv National University; 2018. 151 p. ISBN 978-966-285-490-9

**Г.П. Горбенко<sup>1</sup>, К.О. Вус<sup>1</sup>, О.А. Житняківська<sup>1</sup>, М.В. Косевич<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, 61022, Україна

<sup>2</sup>Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б.І. Веркіна Національної академії наук України, 47, пр. Науки, Харків, 61103, Україна

Galyna Gorbenko  <https://orcid.org/0000-0002-0954-5053>

Kateryna Vus  <https://orcid.org/0000-0003-4738-4016>

Olga Zhytniakivska  <https://orcid.org/0000-0002-2068-5823>

Marina Kosevich  <https://orcid.org/0000-0003-0257-4588>

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-18>

### ПАМ'ЯТІ ПРОФЕСОРА ОЛЕКСАНДРА МИКОЛАЙОВИЧА ОГУРЦОВА



Огурцов М.О.  
(06.02.1960-26.12.2019)

*Дало две доли providenie  
На выбор мудрости людской;  
Или надежду и волненье  
Иль безнадежность и покой.*

Е. Баратынский, 1823

Кінець грудня у кожного з нас асоціюється з святами та радістю, але для кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії 26 грудня 2019 року буде завжди пов'язане з тугою та скорботою. Саме цього передсвяткового дня несподівано та передчасно пішов із життя видатний науковець, талановитий педагог, чудовий керівник та дуже чуйна, чесна, порядна людина — завідувач кафедри, професор, доктор фіз.-мат. наук. Олександр Миколайович Огурцов.

Олександр Миколайович завжди мріяв стати фізиком-дослідником, тому після закінчення школи з золотою медаллю вступив до Харківського державного університету ім. О.М. Горького на фізичний факультет, який закінчив у 1982 році, отримавши диплом з відзнакою.

Огурцов Олександр Миколайович 24 роки наполегливо працював у Фізико-технічному інституті низьких температур ім. Б.І. Веркіна НАН України, подолавши усі щаблі наукового зростання від стажиста-дослідника до старшого наукового співробітника. За цей час він створив унікальну установку для дослідження криокристалів та в 1992 році захистив кандидатську дисертацію «Дефектообразование в криокристаллах ксенона и криптона, стимулированное автолокализацией экситонов в квазимолекулярные состояния», а в 2003 році — докторську дисертацію «Электронные возбуждения в криокристаллах: локализация и элементарные неупругие процессы»; тоді ж рішенням Вищої атестаційної комісії України йому присвоєно звання старшого наукового співробітника. Далі понад десять років Огурцов Олександр Миколайович працював на унікальній установці SUPERLUMI, що була змонтована на каналі I накопичувального кільця DORIS-III Гамбурзької синхротронної лабораторії HASYLAB Міжнародного синхротронного центра DESY у місті Гамбургу, на установках Інституту експериментальної фізики Університету Гамбургу, Інституту фізики твердого тіла та Інституту фізичної та теоретичної хімії Технічного університету Мюнхена. Фундаментальні наукові роботи Огурцова Олександра Миколайовича отримали міжнародне визнання, яке підтверджується наукометричним індексом Гірша  $h=18$  [1], — приклад довгого та плідного перебування Огурцова Олександра Миколайовича в науці.

Нову сторінку в житті Огурцова О.М. відкрила педагогічна діяльність, яку він почав, вирішивши передавати свої надбані широкі знання молодшим поколінням.



У 2001–2003 рр. він викладав загальну фізику в Українській державній академії залізничного транспорту, а в 2003 році за запрошенням професора Кошкіна В.М. перейшов на кафедру фізичної хімії в Національному технічному університеті «Харківський політехнічний інститут». За цей час Огурцов О.М. видає блискучі, бездоганні та лаконічні навчальні посібники «Лекції по фізиці», «Лекції по фізичній хімії» та «Лекції по біохімії» у форматі Інтернет-підручників [2], пристосовані для сучасних форм навчання через доступ з монітору, планшету або смартфона. Ці посібники надбали нечувану популярність серед студентів майже всіх країн СНД, електронні листи подяки («за учебники, о которых слагают былины»), надходили із України, Білорусі, Казахстану, Росії (в тому числі з Московського державного університету) тощо.

Професор Огурцов Олександр Миколайович був вельми різнобічною людиною, його інтереси поширювалися не лише у напрямі фізики та математики, він намагався «осягнути неосяжне». Володіючи великою ерудицією, він швидко та успішно освоїв нові для себе галузі науки — молекулярну біологію, молекулярну біофізику, хімічну біофізику. Широкий спектр його наукових інтересів включав молекулярні взаємодії, кооперативні процеси та фазові переходи в біополімерах, радіаційно-індуковані модифікації біологічних полімерів електронними збудженнями.

Надалі, з 2004 р., Огурцов О.М. продовжив педагогічну діяльність на кафедрі біотехнології та аналітичної хімії, яка згодом змінила назву на кафедру біотехнології, біофізики та аналітичної хімії. Рішенням Атестаційної колегії Міністерства освіти та науки України в 2006 році йому присвоєно вчене звання професора кафедри. Професор Огурцов О.М. читав численні курси: біоінформатика, біологічні мембрани, біонанотехнологія, біосинергетика, біофізика, біофізична та фізична хімія, біохімія, генна інженерія, молекулярна біологія, молекулярна біотехнологія, молекулярна біофізика, хімічна біонанофізика, наукові дослідження, ферментативний каталіз, фізика. В 2015 році професор, д.ф.-м.н. Огурцов Олександр Миколайович очолив кафедру біотехнології, біофізики та аналітичної хімії [3], (сайт кафедри [4]).

Під керівництвом професора Огурцова Олександра Миколайовича на кафедрі були започатковані дослідження механізмів переносу енергії у конденсованому середовищі до локальних центрів та утворення молекулярних та біомолекулярних нанокомплексів; визначення способів керування функціональними властивостями макромолекул та їх асоціатів за допомогою впливу на систему ковалентних та нековалентних внутрішньо- та міжмолекулярних взаємодій; розробка дистанційних неруйнівних методів аналізу стимульованої модифікації систем зв'язків у біополімерах та функціональних матеріалах; розробка теоретичних основ біотехнології та біоінженерії. Визначною особливістю робіт Огурцова Олександра Миколайовича є не тільки оригінальність теоретичних розробок, а також і велика практична направленість.

Професор Огурцов Олександр Миколайович був членом редакційної колегії міжнародного наукового журналу «Innovative Biosystems and Bioengineering» («Інноваційні біосистеми та біоінженерія»), членом редакційної колегії наукового журналу «Біофізичний вісник»; членом Ради з проблеми «Молекулярна біофізика» Фізико-технічного інституту низьких температур ім. Б.І. Веркіна НАН України; членом методичної та редакційно-видавничої ради НТУ «ХП».

Професор Огурцов Олександр Миколайович зробив вагомий внесок у розвиток вищої освіти та науки в Україні, його відзначала відповідальність за доручену справу, ініціативність та працьовитість. Він мав високий авторитет науковця і педагога серед науково-освітньої спільноти України.

Огурцов О.М. є автором 450 наукових та навчально-методичних праць, серед яких

2 монографії [5, 6], а також 56 навчальних посібників [2] з біотехнологій та біоінженерії (загалом більше шістнадцяти тисяч сторінок), зокрема [7-10], і більше 50 праць, що входять до міжнародної бази даних SCOPUS.

В біографії видатних представників науки важливі не тільки реальні досягнення, але і його особистість, риси його характеру, відношення до навколишнього життя. Професор Огурцов О.М. дуже любив і добре знав поезію, класичну музику, багато читав. Це був чудовий керівник, якого глибоко поважали та любили не тільки на кафедрі, а й всі співробітники Навчально-наукового інституту хімічних технологій та інженерії. Як видатний педагог він багато працював зі студентами, був керівником наукового гуртку, мав численні наукові публікації спільно зі студентами, які вважали його другим батьком. Тільки за той час, що Олександр Миколайович був завідувачем, кафедра біотехнології, біофізики та аналітичної хімії випустила понад 350 висококваліфікованих спеціалістів із біотехнологій та біоінженерії, які наразі працюють у 15 країнах світу.

Не полишає відчуття несправедливості, коли науковий шлях вченого раптово зупиняється у розквіті творчих сил, залишаючи так багато нереалізованих ідей, нездійснених відкриттів, недописаних книг. Ще 24-го грудня Олександр Миколайович відзначав вручення дипломів черговій групі магістрів — випускників його кафедри (див. фотографію) і розмірковував над наступними цікавими лекціями.



Урочисте вручення дипломів магістрам в Палаці студентів НТУ «ХПІ» 24 грудня 2019 року (випуск магістрів з біотехнологій та біоінженерії 2019 року).

Тому для розповідей його колег, учнів та друзів недоречно визначення «спогади» — вони саме розповідають про свої творчі стосунки та співпрацю, які ще мали тривати багато років.

*Розповідають **Безрукавий Дмитро**, студент 5 курсу (магістратура), староста групи, та **Дорохина Валентина**, студентка 5 курсу (магістратура) кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії НТУ «ХПІ»: «Олександр Миколайович Огурцов був видатним лектором, прекрасним завідувачем кафедри, прекрасною,*

мудрою та найінтелігентнішою людиною. Для багатьох випусків біотехнологів навчання на кафедрі біотехнології, біофізики та аналітичної хімії передусім асоціюється з блискучими лекціями та зустрічами з Олександром Миколайовичем. Він завжди був невтомним, відрізнявся колосальною працездатністю, безмірно любив свою роботу та завжди відносився до неї з великою відповідальністю, завжди сам встигав зробити все своєчасно та намагався навчити цьому нас, студентів. Олександр Миколайович був справжнім патріотом нашої кафедри. Завжди цікавився та приймав участь в усіх сферах життя кафедри: навчальна та наукова кафедральна література, навчальний процес, ремонт, виступи студентських колективів на урочистих святах — все його турбувало та цікавило. Він завжди піклувався про залучення найкращих абітурієнтів, сам готував стенди, презентації про нашу кафедру та спеціальність «Біотехнології та біоінженерія», ретельно готувався до Дня відкритих дверей.

Олександр Миколайович — видатний вчений з широким спектром наукових інтересів. Вже будучи доктором фізико-математичних наук за спеціальності фізика твердого тіла, він швидко опанував нові для себе галузі науки та написав величезну кількість підручників для студентів біотехнологів з дисциплін: молекулярна біофізика, біонанотехнологія, хімічна біонанофізика, основи наукових досліджень, біоінформатика, біосинергетика, хімічна та молекулярна біофізика та багато-багато інших. Вільне володіння англійською мовою дозволяло Олександрові Миколайовичу знаходити та додавати в свої підручники велику кількість відомостей із закордонних статей, книг та публікацій щодо самих передових та актуальних наукових досліджень та технологій. Саме завдяки цьому студенти нашої кафедри мають якісну професійну підготовку в галузі біофізики та біотехнологій.

Зустріч з Олександром Миколайовичем стала для нас, студентів, найбільш яскравим та сильним враженням в житті та могутнім стимулом в майбутній роботі, і вплив якої буде зберігатися упродовж всього нашого життя, оскільки важко переоцінити значення Олександра Миколайовича як Вчителя на створену їм наукову школу. Проте в біографії видатних вчених важливі не тільки реальні досягнення, але й їх особистості, риси їх характеру, відношення до навколишнього життя. Ерудиція та широта поглядів робили Олександра Миколайовича прекрасним, майже чарівним співрозмовником. Він прекрасно знав світову літературу, світові мистецтво та поезію. Олександр Миколайович завжди любив спілкуватися зі студентами та викладачами кафедри, доброзичливо, чуйно та з розумінням відносився до всіх студентів, ретельно та педантично підходив до захисту дипломів, постійно цікавився про готовність студентів. Олександр Миколайович прекрасно володів дисциплінами, які читав студентам, дуже любив розповідати, вмів доступно пояснити навіть найскладніший навчальний матеріал. Він завжди намагався зацікавити нас, говорив нам про важливість своєчасного вивчення матеріала та підготовки індивідуальних завдань, про важливість постійного професійного зростання, а також про те, що у нас, студентів та аспірантів, є всі можливості та знання, щоб досягнути в нашій майбутній діяльності та професійній кар'єрі всього, що ми прагнемо. Оптимізм та енергійність були його найбільш яскравими якостями. І найголовніше, чому він нас намагався навчити — це здійснювати задумане сьогодні, тому що «потім» — ніколи не буде.

Ми, наші однокурсники та всі покоління випускників нашої кафедри назавжди збережемо добру пам'ять про видатного вченого, великого нашого Вчителя, чуйну та прекрасну людину професора Олександра Миколайовича Огурцова».

*Розповідає Віктор Олексійович Карачевцев, доктор фіз.-мат. наук, професор, член-кореспондент НАН України, завідувач відділу молекулярної біофізики Фізико-*

*технічного інституту низьких температур ім. Б.І. Веркіна НАН України: «Моє тісне спілкування з Олександром Миколайовичем Огурцовим почалося в 2003 році, коли я запросив його взяти участь в роботі наукової Ради нашого інституту з проблеми «Молекулярна біофізика», хоча ми були знайомі з кінця 70-х років, коли він ще був студентом університету. Потім, працюючи з ним в одному інституті, я спостерігав за його науковою працею, як він пройшов шлях від аспіранта до доктора наук. Його наукові праці, робота у провідних європейських лабораторіях свідчили про його високий науковий рівень. Хоча біофізика для нього в той період часу була достатньо незвіданою наукою — Олександр Миколайович був спеціалістом у галузях фізики і спектроскопії кріоцисталів — я був впевненим в ньому як у вченому і в тому, що він здатен зробити вірний висновок про наукові праці, які розглядалися на засіданні Ради. На початковому етапі його роботи в Раді я, більш за все, покладався на його високий рівень експериментатора-спектроскопіста. Однак за досить короткий період він став розбиратися в проблематиці нашого відділу молекулярної біофізики як справжній біофізик. Цей процес прискорився після його переходу в Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут», де він очолив кафедру біотехнології, біофізики та аналітичної хімії. Він продемонстрував свої визначні здібності до освоєння нових знань, до самоосвіти. Вже скоро він зробив новий якісний перехід: від придбання нових знань до донесення цього знання студентам у вигляді лекцій і написання навчальних посібників. Я був рецензентом ряду таких книг і можу стверджувати, що Олександр Миколайович до традиційної, класичної інформації в тій сфері, якій була присвячена книга, завжди додавав і нові результати, які нещодавно були отримані в науковому світі. Він завжди відстежував нові, видатні результати і намагався їх донести до студентів. Олександр Миколайович за неповне десятиліття підготував і видав велику кількість таких посібників. Мушу зазначити, що я не знаю іншого професора, який був би настільки активний в написанні книг. Це говорить про його неймовірну працездатність. З кожним роком розширювався його науковий кругозір, він став розбиратися і в такій складній, як для фізика, науці як біохімія, а потім поширив сферу своїх інтересів і на біотехнологію. За деякими питаннями, суміжними для моєї праці, я почав звертатися до його книг. На засіданні Ради його думка з багатьох питань була цікавою та авторитетною. Його високий науковий рівень і авторитет серед колег проявився в обранні його, протягом багатьох років, головою конкурсної комісії Ради з вибору кращих наукових робіт з біофізики в нашому інституті. Я думаю, що робота в нашій Раді сприяла тому, що він став фахівцем не тільки у фізиці твердого тіла, а й фахівцем у біофізиці та біотехнології. Він практично започаткував ці напрямки та спеціальності в Національному технічному університеті «Харківський політехнічний інститут», коли він очолив кафедру біотехнології, біофізики та аналітичної хімії. Окремо хочеться зупинитися і на такій його людській якості як чесність і відвертість, яку я відзначав для себе під час обговорення з ним багатьох наукових і не зовсім наукових питань. На жаль, Олександра Миколайовича вже немає серед нас, наукова спільнота Харкова, України понесла значну втрату. Ми назавжди збережемо в пам'яті його чудові людські якості, доброзичливість, талант вченого, педагога та керівника».*

*Розповідає Малюкін Юрій Вікторович доктор фіз.-мат. наук, професор, член-кореспондент НАН України, Науково-технологічний комплекс «Інститут монокристалів» НАН України: «Я знав Олександра зі студентських років, коли ми разом навчалися на кафедрі фізичної оптики Харківського національного університету.*



Професор О.М. Огурцов та чл.-корр. НАН України В.О. Карачевцев обговорюють наукові доповіді у кулуарах конференції NanoBioPhysics-2017 (Харків, 2017 р.).

У нас був надзвичайно дружній та талановитий студентський колектив, ми всі мали жагу до знань і не боялися навіть вступати в дискусії з викладачами. Олександр був одним з найбільш активних студентів нашої групи. Закінчивши у 1982 році фізичний факультет, ми разом пішли працювати до Фізико-технічного інституту низьких температур. Потім наші шляхи розійшлися: я перейшов до Інституту монокристалів, а Олександр присвятив себе викладацькій діяльності в Харківському політехнічному інституті. Але протягом всього наукового життя ми завжди підтримували найтісніші зв'язки. Олександр ніколи не відмовляв в допомозі, в наукових консультаціях з різних питань, наданні рекомендацій та відгуків на дисертації, що захищалися в нашому відділі, він особисто був опонентом кандидатських та докторських дисертацій моїх учнів. Ми завжди підтримували не лише наукові, але й особисті зв'язки, Олександр був моїм другом, і пам'ять про нього назавжди лишиться в моєму серці».

Колеги, учні та друзі завжди будуть пам'ятати видатного вченого, самовідданого педагога з високою ерудицією, чудову людину професора Олександра Миколайовича Огурцова.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Google Академия. Александр Николаевич Огурцов. [Интернет]. [Цитируется 2020 февраля 20]. Доступно по адресу: <https://scholar.google.com.ua/citations?hl=ru&user=76X7YqUAAAAJ>
2. Prof. Ogurtsov AN Publications. [Internet]. [Cited 2020 Feb 20]. Available from: <https://sites.google.com/site/anogurtsov/home/publications>
3. Кафедра биотехнологии, биофизики и аналитической химии НТУ «ХПИ». [Интернет]. [Цитируется 2020 Feb 20]. Доступно по адресу : <https://sites.google.com/site/anogurtsov/home/kafedra>
4. Кафедра біотехнології, біофізики та аналітичної хімії. Робочий сайт кафедри. [Интернет]. [Цитується 2020 лютого 20]. Доступно за адресою : <https://sites.google.com/site/prokafedru/home>
5. Огурцов АН. Модификация криокристаллов электронными возбуждениями. Харьков: НТУ «ХПИ»; 2009. 368 с. ISBN 978-966-593-741-8. Доступно по адресу: <http://repository.kpi.kharkov.ua/handle/KhPI-Press/16>
6. Огурцов АН, редактор. Актуальные проблемы биотехнологии и биоинженерии. Харьков: «Типография Мадрид»; 2019. 240 с. ISBN 978-617-7683-53-6. Доступно по адресу: <http://repository.kpi.kharkov.ua/handle/KhPI-Press/39707>



7. Огурцов АН. Физика и биофизика: в 2-х ч. Ч. 1: Основы общей физики. Харьков: НТУ «ХПИ»; 2016. 538 с. ISBN 978-617-05-0184-4. Доступно по адресу: <http://repository.kpi.kharkov.ua/handle/KhPI-Press/28060>
8. Огурцов АН. Физика и биофизика: в 2-х ч. Ч. 2: Основы биофизики. Харьков: НТУ «ХПИ»; 2016. 560 с. ISBN 978-617-05-0185-1. Доступно по адресу: <http://repository.kpi.kharkov.ua/handle/KhPI-Press/28063>
9. Огурцов АН, Близнюк ОН, Масалитина НЮ. Бионанотехнология и нанобиофизика: в 2-х частях. Часть 1. Бионаноструктуры. Харьков: НТУ «ХПИ»; 2019. 256 с. Доступно по адресу: [http://repository.kpi.kharkov.ua/bitstream/KhPI-Press/42012/1/Book\\_2019\\_Ogurtsov\\_Bionanotechnologiya\\_Ch\\_1.pdf](http://repository.kpi.kharkov.ua/bitstream/KhPI-Press/42012/1/Book_2019_Ogurtsov_Bionanotechnologiya_Ch_1.pdf)
10. Огурцов АН, Близнюк ОН, Масалитина НЮ. Бионанотехнология и нанобиофизика: в 2-х частях. Часть 2. Функционирование бионаносистем. Харьков: НТУ «ХПИ»; 2019. 288 с. Доступно по адресу: [http://repository.kpi.kharkov.ua/bitstream/KhPI-Press/42013/1/Book\\_2019\\_Ogurtsov\\_Bionanotechnologiya\\_Ch\\_2.pdf](http://repository.kpi.kharkov.ua/bitstream/KhPI-Press/42013/1/Book_2019_Ogurtsov_Bionanotechnologiya_Ch_2.pdf)

## REFERENCES

1. Google Academy. Aleksandr Nikolaevych Ogurtsov. (Ogurtsov AN) [Cited 2020 Feb 20]. Available from: <https://scholar.google.com.ua/citations?hl=ru&user=76X7YqUAAAAJ>.
2. Prof. A. N. Ogurtsov Publications. [Cited 2020 Feb 20]. Available from: <https://sites.google.com/site/anogurtsov/home/publications>
3. Department of Biotechnology, Biophysics & Analytical Chemistry NTU "KhPI". [Cited 2020 Feb 20]. Available from: <https://sites.google.com/site/anogurtsov/home/kafedra>
4. Department of Biotechnology, Biophysics & Analytical Chemistry. Web-site of the department. [Cited 2020 Feb 20]. Available from: <https://sites.google.com/site/prokafedru/home>
5. Ogurtsov AN. Cryocrystals Modification by Electronic Excitations. Kharkov: NTU "KhPI"; 2009. 368 p. (In Russian) [Cited 2020 May 5]. Available from: <http://repository.kpi.kharkov.ua/handle/KhPI-Press/16>
6. Ogurtsov AN, editor. Actual problems of biotechnology and bioengineering. Kharkov: "Madrid Printing House"; 2019. 240 p. (In Russian) [Cited 2020 May 5]. Available from: <http://repository.kpi.kharkov.ua/handle/KhPI-Press/39707>
7. Ogurtsov AN. Physics and Biophysics: in 2 parts. Part 1: Fundamentals of General Physics. Kharkov: NTU "KhPI"; 2016. 538 p. (In Russian) [Cited 2020 May 5]. Available from: <http://repository.kpi.kharkov.ua/handle/KhPI-Press/28060>
8. Ogurtsov AN. Physics and Biophysics: in 2 parts. Part 2: Fundamentals of Biophysics. Kharkov: NTU "KhPI"; 2016. 560 p. (In Russian) [Cited 2020 May 5]. Available from: <http://repository.kpi.kharkov.ua/handle/KhPI-Press/28063>
9. Ogurtsov AN, Bliznjuk ON, Masalitina NYu. Bionanotechnology and nanobiophysics: in 2 parts. Part 1. Bionanostructures. Kharkov: NTU "KhPI"; 2019. 256 p. (In Russian) [Cited 2020 May 5]. Available from: [http://repository.kpi.kharkov.ua/bitstream/KhPI-Press/42012/1/Book\\_2019\\_Ogurtsov\\_Bionanotechnologiya\\_Ch\\_1.pdf](http://repository.kpi.kharkov.ua/bitstream/KhPI-Press/42012/1/Book_2019_Ogurtsov_Bionanotechnologiya_Ch_1.pdf)
10. Ogurtsov AN, Bliznjuk ON, Masalitin NYu. Bionanotechnology and nanobiophysics: in 2 parts. Part 2: Functioning of bionanosystems. Kharkov: NTU "KhPI"; 2019. 288 p. (In Russian) [Cited 2020 May 5]. Available from: [http://repository.kpi.kharkov.ua/bitstream/KhPI-Press/42013/1/Book\\_2019\\_Ogurtsov\\_Bionanotechnologiya\\_Ch\\_2.pdf](http://repository.kpi.kharkov.ua/bitstream/KhPI-Press/42013/1/Book_2019_Ogurtsov_Bionanotechnologiya_Ch_2.pdf)

*О.М. Близнюк<sup>1</sup>, В.П. Берест<sup>2</sup>, О.О. Горобченко<sup>2</sup>, Д.В. Безрукавий<sup>1</sup>, В.А. Дорохина<sup>1</sup>,  
В.О. Карачевцев<sup>3</sup>, М.В. Косевич<sup>2,3</sup>, Ю.В. Малюкин<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут»,  
вул. Кирпичова, 2, Харків, 61002, Україна

<sup>2</sup>Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, 61022, Україна

<sup>3</sup>Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б.І. Веркіна НАН України,  
пр. Науки, 47, Харків, 61103, Україна

<sup>4</sup>НТК «Інститут монокристалів» НАН України, пр. Науки, 60, Харків, 61001, Україна

O.N. Bliznjuk  <http://orcid.org/0000-0002-2595-8421>

V.P. Berest  <https://orcid.org/0000-0001-7779-154X>

O.A. Gorobchenko  <http://orcid.org/0000-0003-1580-0679>

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

M.V. Kosevich  <https://orcid.org/0000-0003-0257-4588>

Yu.V. Malyukin  <http://orcid.org/0000-0002-0636-8370>

## ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ

В редакцію подається електронний варіант статті (MS Word 2007 і вище) українською, російською або англійською мовою через сайт журналу <http://periodicals.karazin.ua/biophysvisnyk> з направленням установи і експертним висновком у вигляді відсканованих файлів.

Текст набирається на аркушах формату А4 через один інтервал. Використовується шрифт Times New Roman 12 pt, вирівнювання тексту по ширині. Поля справа і зліва по 2,5 см, зверху – 3,5 см, знизу – 2 см. Математичні та хімічні символи вводяться до тексту статті за допомогою редактора MathType або Microsoft Equation. Рисунки, придатні до репродукції, у форматі \*.emf, \*.wmf, \*.jpg, \*.jpeg, \*.png вставляються до тексту в межах площі сторінки, вказаної вище. Рисунки розміщувати в межах таблиці з прозорими зовнішніми границями у першому рядку, підпис та коментарі до рисунку – у другому рядку таблиці. Графіки будуються у програмних пакетах, призначених для обробки і візуалізації наукових даних: Origin, Mathcad тощо. Використання офісного пакету MS Excel для побудови графіків не допускається. Цифри і підписи на осях та надписах повинні мати шрифт 9 pt. Підписи під рисунками друкуються шрифтом 10 pt. Формули, таблиці й рисунки нумеруються послідовно арабськими цифрами, наприклад, (1); Табл. 1; Рис. 1.

На першій сторінці зверху на першому рядку в лівому верхньому куті наводиться УДК (курсив, 11 pt). Після пропуску одного рядка, розміщується назва статті (великі літери, прямий напівжирний шрифт, 12 pt, вирівнювання по центру). Після пропуску одного рядка набираються ініціали, прізвища авторів (прямий напівжирний шрифт, 12 pt, вирівнювання по центру). На наступному рядку розміщуються повні назви й адреси установ, де виконувалась робота, адреса електронної пошти автора – контактної особи (курсив, 10 pt, вирівнювання по центру). Потім вміщується дата надходження статті до редакції: число – цифрами, місяць – прописом, рік – цифрами (шрифт прямий, 10 pt, вирівнювання по центру). На наступному рядку вміщується дата прийняття статті до друку (заповнюється редколегією).

Після пропуску одного рядка вміщуються три реферати (українською, англійською, російською мовами). Реферат мовою статті розміщується першим. Перед другим та третім рефератами з нових рядків пишуться назви статей (великими літерами, шрифт прямий, 10 pt, напівжирний, вирівнювання по центру), ініціали та прізвища авторів (шрифт прямий 10 pt, напівжирний, вирівнювання по центру), назви організацій та їх адреси (курсив 9 pt., вирівнювання по центру). Реферат повинен бути структурованим та містити наступні частини з заголовками: **Актуальність, Мета роботи, Матеріали і методи, Результати, Висновки**, які починаються з нового рядка. Слова “Реферат” і “Abstract” не пишуться. Заголовки структурних частин пишуться напівжирним шрифтом, після заголовка ставиться крапка. Текст реферату складає не менше 1800 та не більше 2000 фонетичних символів, тобто без проміжків між словами; прямий шрифт 10 pt. Реферати двома іншими мовами також повинні мати обсяг не менше 1800 та не більше 2000 фонетичних символів. На наступному рядку вміщуються 5-8 ключових слів, які розділяються між собою крапкою з комою (10 pt – перший реферат, 9 pt – другий та третій реферати). З початку рядка великими літерами, шрифт напівжирний, пишеться заголовок з двокрапкою “**КЛЮЧОВІ СЛОВА:**”. Тексти рефератів і ключові слова мають ширину на 1 см меншу, ніж основний текст (по 0,5 см з кожного боку). Реферати розділяються одним пустим рядком.

Основний текст статті наводиться після пропуску одного рядка шрифтом Times New Roman (Cyr), 12 pt. Абзаци починаються з червоного рядка (0,75 см). Рекомендується розбиття статті на такі розділи: вступ (назва розділу не пишеться), **МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** (обов'язково для експериментальних робіт), **РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ, ВИСНОВКИ**. Для теоретичних робіт передбачається більш вільне розташування матеріалу, наприклад, замість розділу **МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** рекомендуються розділи **ПОСТАНОВКА ЗАДАЧІ, МОДЕЛЬ** та ін. Розділи не нумеруються, літери великі, напівжирні, вирівнювання по центру. При необхідності розділи поділяються на підрозділи. Назви підрозділів пишуться з великої літери і виділяються напівжирним шрифтом, вирівнювання по центру. Розділи або підрозділи розділяються одним пустим рядком. Після назв розділів і підрозділів крапка не ставиться. У кінці тексту статті після пропуску одного рядка у розділі **ПОДЯКА** зазначається назва фонду, який фінансував роботу, і номер гранту. Потім розміщується розділ **КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ**, у якому автори декларують наявність фінансових або інших конфліктів інтересів, які могли вплинути на результати, інтерпретацію та висновки дослідження. Якщо немає конфлікту інтересів, так і потрібно заявити: "Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів". Потім розміщується розділ **Authors' ORCID ID**, у якому автори вказують адреси своїх профілів ORCID.

Літературні посилання нумеруються в порядку цитування в тексті, номер посилання пишеться у квадратних дужках. Не допускаються посилання на неопубліковані роботи, підручники та навчальні посібники. Список літератури (шрифт 10 pt.) розміщується за основним текстом статті, виділяється як розділ **REFERENCES** і оформлюється згідно з міжнародним стилем оформлення списку наукових публікацій **Vancouver**. Приклади оформлення бібліографічних посилань можна подивитись на сайті журналу у розділі «Керівництво для авторів»: <https://periodicals.karazin.ua/biophysvisnyk/about/submissions>.

**Рукописи оформлені не у відповідності до наведених правил не розглядатимуться!**



## INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Electronic files of the contributions (created in MS Word 2007 and later versions) written in English, Ukrainian or Russian, scans of the expert inference directive and directive from the author's institution should be sent to the Editorial Office online via the website <http://periodicals.karazin.ua/biophysvisnyk>.

A manuscript should be typed in single spacing on A4 paper. Use the MS Word with following options: 12 points Times New Roman font, text justified. Left and right margins should be 2.5 cm, the upper margin should be 3.5 cm, and bottom one should be 2 cm. Mathematical and chemical symbols, equations, and formulae should be inserted in the text by computer means (MathType or Microsoft Equation). Figures should be computer-generated in software packages intended for processing and visualization of scientific data: Origin, Mathcad, etc. The use of the MS Office Excel is not recommended. Use computer printed symbols for axes labeling. Insert prepared images into an MS Word file as files in \*.emf, \*.wmf, \*.jpg, \*.jpeg, \*.png format within the area of the page specified above. We recommend the following layout: images are placed in the first row of the table with transparent outer borders, legends and comments to figures are placed in the second row of the table. The font size of figure legends should be 9 points. Formulae, tables, figures should be numbered consecutively using Arabic numerals, e.g. (1), Table 1, Fig 1.

Insert UDK in the first line on the left of a first page (11 pt, Italic). Leave one line blank. Place the title of the paper in capital letters (12 pt, bold, centered) on the next line. After one blank line type initials and surnames of the authors (12 pt, bold, centered). On the next line type the authors' affiliation and postal addresses of the institution where the actual work was done, including an e-mail address of the corresponding author (10 pt, Italic, centered). Then, place the date of the paper submission: day — in numbers, month — in words, year — in numbers (straight font, 10 pt, centered). Then, place the date of the paper submission (to be filled by editor).

After one blank line place three abstracts of the paper (written in Ukrainian, Russian and English). The first abstract should be written in the language of the manuscript. On the next line provide second, and then on the next line — third abstracts (capital letters, straight font, 10 pt, bold, centered). Above the second and third abstracts place the titles of the paper in two languages (capital letters, straight font, 10 pt, bold, centered), then — initials and surnames of the authors (straight font, 10 pt, bold, centered), and finally — the authors' affiliation names and addresses (9 pt, Italic, centered), every time starting from a new line. The abstract should be structured and consist of the following parts with headings: **Background, Objectives, Materials and Methods, Results, Conclusions**, each placed on a new line. The words "Резюме" and "Abstract" should be omitted. The headers of structural parts are written in bold letters, putting a dot after the header. All the three abstracts of the paper should contain not less than 1,800 and not more than 2,000 phonetic symbols (i.e., without taking into account the spacing between words); straight font, 10 pt. On the next line type 5-8 key words, separated by a semicolon (10 pt — first abstract, 9 pt — second and third abstracts). Next, the header "**KEY WORDS:**" should be typed in bold capital letters at the beginning of the line. The texts of the abstracts and key words should be indented 0.5 cm from the left and right margins. The abstracts should be separated by a blank line.

Then, leave one blank line before starting to type the text of the paper with following options: Times New Roman font, 12 pt, text justified. The first line of each paragraph should be indented 0.75 cm from the left margin. Each manuscript should contain the following elements: an introduction (heading of this section should be omitted), **MATERIALS AND METHODS** (obligatory for experimental studies), **RESULTS AND DISCUSSION**, **CONCLUSIONS**. For theoretical less specified text organization is envisaged, e.g., instead of section **MATERIALS AND METHODS**, the sections **PROBLEM FORMULATION** or **MODEL** are recommended, etc. The sections are not numbered, capital letters, bold, centered. Sections may be subdivided into subsections, if necessary. Subsection Headings are centered and should be bold and capitalized. Leave one blank line after each section or subsection. A dot should be omitted after headings of sections and subsections. Names of the foundations and grant numbers should be included in the section **ACKNOWLEDGMENTS** at the end of the text after one blank line. The next section should be **CONFLICT OF INTEREST** in which you should declare financial or any other conflict of interest. If there is no conflict of interest you can state: "The authors declare that there is no conflict of interest." The next section should be **Authors' ORCID ID** in which you should include ORCID internet addresses of all authors.

References to the literature should be cited in the text consecutively by Arabic numerals in square brackets. The citation of unpublished papers, textbooks and tutorials are prohibited. List of references (10 pt) should be given at the end of the manuscript as a separate section **REFERENCES**, formatted according to the **Vancouver** style for scientific publications.

The examples for reference formats are given on the journal's website in the "Author Guidelines": <https://periodicals.karazin.ua/biophysvisnyk/about/submissions>.

**Manuscripts that do not meet the requirement mentioned above will not be considered for publication!**

Наукове видання

“Біофізичний вісник”

Вип. 43

Збірник наукових праць

Укр., рос. та англ. мовами.

Комп’ютерне верстання к.ф.-м.н. Горобченко О.О.

Підписано до друку 21.09.2020. Формат 60×84 1/8.  
Папір офсетний. Друк ризографічний.  
Ум. друк. арк. 14,58. Обл.-вид. арк. 16,95. Наклад 50 пр.

61022, Харків, майдан Свободи, 4  
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

---

Надруковано: Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна  
61022, Харків, майдан Свободи, 4, тел. +38-057-705-24-32  
Свідоцтво суб’єкта видавничої справи ДК № 3367 від 13.01.09