

О.В. Маркітан ¹, Н.М. Власова ¹, Є.В. Шелудько ²

ВЗАЄМОДІЯ РИВАНОЛУ З ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕЇНОВОЮ КИСЛОТОЮ, АДСОРБОВАНОЮ НА ПОВЕРХНІ НАНОКРИСТАЛІЧНОГО ДІОКСИДУ ТИТАНУ

¹ Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України
вул. Генерала Наумова, 17, Київ, 03164, Україна, E-mail: kamtar@ukr.net

² Інститут біоорганічної та нафтохімії ім. В.П. Кухаря Національної академії наук України
вул. Академіка Кухаря, 1, Київ, 02094, Україна, E-mail: escheludkor@gmail.com

Створення нових терапевтичних матеріалів на основі нуклеїнових кислот спонукає до комбінування останніх з матеріалами, що здатні їх адсорбувати. Одним з найбільш перспективних матеріалів для таких цілей є нанокристалічний діоксид титану завдяки низькій токсичності, стабільності його фізичних та хімічних параметрів, високій біосумісності. Відповідно, розуміння природи взаємодії поверхні оксиду титану з біологічно активними речовинами є досить важливим питанням. Також завжди є актуальним питання, чи залишається біополімер, іммобілізований на поверхні твердого тіла, здатним слугувати резервуаром для доставки ліків або інструментом для лікування певного захворювання.

Метою роботи було дослідити взаємодію біологічно-активної речовини риванолу з поверхню ДНК-вмісного діоксиду титану. Встановлено, що попередня адсорбція дезоксирибонуклеїнової кислоти на поверхні діоксиду титану не перешкоджає її взаємодії з риванолом, що підтверджено методами електронної спектроскопії, атомно-силової та скануючої електронної мікроскопії. Режим взаємодії риванолу з дезоксирибонуклеїновою кислотою залежить від співвідношення їхніх концентрацій і може бути як інтеркальованим чи напівінтеркальованим, так і електростатичним. Виходячи з розрахованих термодинамічних характеристик, процес взаємодії дезоксирибонуклеїнової кислоти, адсорбованої на поверхні твердого носія, є самодовільним та відбувається за іоннообмінним механізмом. Ці гібридні органо-мінеральні сорбенти можуть слугувати модельними структурами для досліджень в біотехнологічних галузях, використовуватися для розробок нових способів доставки ліків або генів, резервуарних систем на молекулярному рівні, слугувати біосумісними носіями. Створення органо-мінеральних сорбентів, які поєднують нуклеїнові кислоти та оксиди металів, сприяє стабілізації таких систем і розширює сфери їхнього можливого застосування в медицині і біотехнології, підвищуючи їхню цільову специфічність.

Ключові слова: діоксид титану, дезоксирибонуклеїнова кислота, риванол, адсорбція, інтеркаляція, ізотерма, моделі адсорбції

ВСТУП

Нанорозмірні матеріали завдяки їхнім унікальним властивостям все частіше стають основою для досліджень та розробки нових каталітичних систем, біочіпів, сенсорів молекулярного розпізнавання, які широко використовуються в біотехнологічній сфері, медицині та хімії навколишнього середовища [1–8]. Дезоксирибонуклеїнова кислота (ДНК) в останні роки стала домінуючою в нанобіотехнологічних дослідженнях та генній інженерії. Вона застосовується як резервуар для локальної доставки ліків [9–12] і для розробки методів лікування генетичних захворювань шляхом пошуку потенційних інтеркаляторів [2, 13–18]. За допомогою гібридизації доменів, дотримуючись

критеріїв, яким повинні відповідати олігонуклеотидні послідовності [19], молекули ДНК можуть бути зібрані в спеціально розроблені форми з нестандартними поворотами та вигинами [20–22]. Такі синтетичні наноструктури ДНК здатні слугувати платформами та активними компонентами нанобіотехнологічних застосувань, оскільки є програмованим матеріалом. Їхня наноінженерія відкриває численні можливості для розробки нових терапевтичних методів [10].

Створення нових терапевтичних засобів на основі нуклеїнових кислот спонукає до комбінування останніх з матеріалами, що здатні їх адсорбувати й слугувати носіями. Завдяки низькій токсичності, стабільності фізико-хімічних параметрів та високій

біосумісності [23–34] одним з найбільш перспективних матеріалів для таких цілей є нанокристалічний діоксид титану. Відповідно, розуміння природи взаємодії поверхні оксиду металу з біологічно активними речовинами є досить важливим питанням. Такі взаємодії є дуже складними, оскільки включають утворення різних за своєю природою зв'язків між численними групами біомолекул і поверхневими функціональними групами твердої речовини. Також завжди є актуальним питання, чи залишається молекула біополімера, прикріплена на поверхні твердого тіла, здатною слугувати резервуаром для доставки ліків чи інструментом для лікування певного захворювання.

Діамінопохідні акридину мають анти-мікробні та антивірусні властивості та широко використовуються як бактеріальні засоби [35]. Ще понад ніж півстоліття тому Лерман у своїй роботі [36] вперше описав взаємодію акридину та його діамінопохідних з двохспіральною ДНК, назвавши її інтеркаляцією. Аміногрупи на кінцях гетероциклу молекули можуть утворювати іонні зв'язки з залишками фосфатної кислоти, а її пласка частина (акридинове кільце) утримується між парами азотистих основ (на молекулах пурину та піримідину) за рахунок стекінг-взаємодії. Поєднання акридинових барвників з ДНК викликало інтерес через мутагенність даних сполук. Процес інтеркаляції, в результаті якого відбуваються локальні зміни в структурі спіралі, має велике терапевтичне значення. Інтеркаляція порушує процеси реплікації та транскрипції ДНК, пригнічуючи таким чином поділ і ріст «шкідливих» клітин [37]. Ці структурні зміни є важливим показником біоактивності лікарських речовин, основою їхньої антисептичної, бактерицидної, протівірусної та проти-пухлинної дії, що успішно використовується у медицині, хімії навколишнього середовища та інших галузях з лікувальною, аналітичною і діагностичною метою [17, 38–41]. Зокрема, бактерицидна дія акридинів [42] ґрунтується на їхній взаємодії з молекулами ДНК. Риванол (РВ) – антисептичний, профілактичний і лікувальний протимікробний засіб акридинового ряду, широко застосовується для лікування

ран, шкіри та слизових оболонок при різного роду інфекціях.

При встановленні можливості взаємодії попередньо сорбованої на твердому носії ДНК з речовинами та способу її реалізації ключовим питанням є доступність центрів зв'язування. Метою даної роботи було виявити закономірності та особливості взаємодії біологічно-активної речовини риванолу з поверхнею ДНК-вмісного діоксиду титану.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Для дослідження використані нанокристалічний порошок діоксиду титану (TiO_2 , Aldrich) з питомою поверхнею $62 \pm 5 \text{ м}^2/\text{г}$ (Nova 1200, Quantachrome), який за даними рентгенофазового аналізу є анатазом з розміром частинок 30 нм, що відповідає заявленій виробником величині ($< 25 \text{ нм}$).

Дезоксирибонуклеїнова кислота зі сперми риб (ч.д.а., Sigma-Aldrich), риванол (ч.д.а., Sigma-Aldrich). При проведенні експерименту працювали з щойно приготовленими розчинами, щоб уникнути їх окиснення [43].

Для встановлення необхідних значень рН розчинів та суспензій застосовували стандарт-титри HCl та NaOH (Titrisol, Merck). Для створення необхідних значень іонної сили використовували NaCl (ч.д.а., Merck). Всі розчини та суспензії готували на бідистильованій воді. Значення рН розчинів та суспензій перевіряли за допомогою приладу «Иономер ЭВ-74». Визначення концентрацій ДНК та РВ проводили спектрофотометрично з використанням спектрофотометра Specord M-40 та UV-Vis Perkin-Elmer Lambda 35. Тверду фазу відокремлювали центрифугуванням протягом 20 хв при швидкості обертання 8000 об/хв. Всі дослідження проводили при кімнатній температурі ($\sim 20 \text{ }^\circ\text{C}$).

Зразок діоксиду титану, що містить ДНК, готували додаванням 10 мл суспензії TiO_2 концентрацією 10 або 20 г/л до 10 мл розчину, що містив 4 мг ДНК при рН 4.5 (0.01 М NaCl). Цю суспензію витримували протягом 2 год при постійному перемішуванні. Попередньо було визначено, що цього часу достатньо для встановлення адсорбційної рівноваги. Після перевірки значень рН відділяли тверду фазу центрифугуванням. Концентрацію адсорбо-

ваної ДНК визначали за різницею інтенсивностей поглинання в УФ діапазоні спектра вихідного розчину та розчину після адсорбції. Спектр розчину ДНК характеризується смугою поглинання з максимумом при 260 нм. Для вихідного розчину ДНК молярний коефіцієнт екстинкції становить $\epsilon = 6600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ [44–46]. Попередньо нами було досліджено залежність положення та інтенсивності максимуму поглинання від рН розчину ДНК та його концентрації.

Для дослідження взаємодії нуклеїнової кислоти з риванолом в розчині до 10 мл розчинів РВ з концентрацією в інтервалі 10–100 мкМ додавали 10 мл розчину ДНК концентрацією 0.04 г/л; та до 10 мл розчину ДНК з концентрацією в інтервалі 0.1–0.01 г/л додавали 10 мл розчину риванолу концентрацією 40 мкМ. Значення рН розчинів у першій системі становило приблизно 5.3, а у другій із ростом концентрації ДНК у зразках величина рН розчинів зменшувалася від 5.8 до 4.8. Для того, щоб не порушувати встановлену рівновагу в системах, значення рН не доводили до якоїсь певної величини. Розчини витримували при постійному перемішуванні протягом 1 год. Спектральні зміни у розчинах фіксували спектрофотометрично при довжині хвилі 364.4 нм.

Адсорбцію риванолу на поверхні діоксиду титану вивчали, змішуючи рівні об'єми (10 мл) суспензії TiO_2 (2 та 10 г/л) та розчину РВ (20 мкМ), так щоб в одержаних суспензіях концентрація діоксиду титану становила 1 та 5 г/л, риванолу – 10 мкМ, іонна сила створювалася 0.01 М NaCl. рН розчинів доводили до значень досліджуваного інтервалу додаванням розчинів кислоти або лугу. Об'єм зразків кожної серії зі значенням рН від 3 до 8 був постійним. Суспензії витримували, періодично перемішуючи, при кімнатній температурі протягом 1 год. Концентрацію адсорбованого РВ визначали за максимумом його смуги поглинання при 270.4 нм.

Для вивчення залежності адсорбції риванолу від його вихідної концентрації на поверхні ДНК-вмісного діоксиду титану змішували по 10 мл суспензії TiO_2 (0.1 г/10 мл або 0.2 г/10 мл) та розчину ДНК (4 мг/10 мл). Перемішували протягом 2 год.

для встановлення рівноваги. Після центрифугування відокремлювали рівноважний розчин для визначення концентрації ДНК, що адсорбувалася. До ДНК-вмісного TiO_2 додавали 20 мл розчину риванолу (7.5 мкМ/10 мкМ/40 мкМ), перевіряли значення рН та перемішували протягом 1 год. Після кожного наступного центрифугування, відділивши центрифугат для аналізу, заливали тверду фазу 20 мл розчину риванолу тієї ж концентрації. Сумарні величини рівноважної концентрації визначали додаванням кожного наступного значення даної величини до попереднього.

Зразки для запису спектрів дифузного відбиття та дослідження методами атомно-силової (АСМ) та скануючої електронної мікроскопії (СЕМ) відокремлювали тверду фазу центрифугуванням (8000 об/хв, 20 хв) після останнього циклу адсорбції при вивченні залежності адсорбції риванолу від його вихідної концентрації на поверхні ДНК-вмісного оксиду та декантації. Після центрифугування тверду фазу відокремлювали і сушили при кімнатній температурі.

Морфологію поверхні оцінювали за допомогою скануючого електронного мікроскопа MA-10 (Karl Zeiss), використовуючи ретельно розтерті тверді зразки без додаткової обробки, та атомно-силового мікроскопа NT-206 («Микротест-машины») із стандартним зондом CSC37 і жорсткістю консолі 0.3–0.6 Н/м. Методом АСМ сканування проводили в контактному статичному режимі зі швидкістю 10 мкм/с і кроком 0.3 нм. Зразки (4 мг) після розтирання в агатовій ступці протягом 3 хв. перемішували в етиловому спирті (5 мл) 15 хв. Потім диспергували при 20000 об/хв протягом 10 хв (диспергатор «Heidolph Silent Crusher S»). Приготовлену суспензію (0.25 мл) наносили на кварцове скло і висушували при 50 °С до постійної ваги.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

З літературних даних відомо, що для інтеркаляції молекул біологічно активних речовин у молекули ДНК наявність плаского гетероциклічного хромофора не є достатньою умовою [47]. Для такої взаємодії необхідною є його певна електронна структура, на яку істотно впливають екзоциклічні групи молекули. У роботі [48] при розрахунку

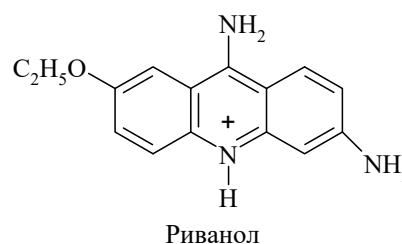
кінетичних параметрів взаємодії біологічно активних речовин з ДНК було відмічено залежність величини ентальпії інтеркаляції від кількості та природи екзоциклічних замісників у складі речовин.

З літературних даних відомо [47, 49–51], що біологічна активність акридинів зумовлена здатністю їхніх молекул до взаємодії з нуклеїновими кислотами. В результаті такої взаємодії з ДНК, а саме інтеркаляції молекул акридинів у молекули нуклеїнової кислоти, відбуваються локальні зміни у структурі спіралі, а саме її розкручування та збільшення відстані між сусідніми парами азотистих основ.

Акридин проявляє основні властивості. Константа його протонування у воді при 20 °С дорівнює $\lg K_a = 5.6$ [35]. Введення двох аміногруп в положення 3 та 6 акридинового кільця приводить до суттєвого підвищення основності атома азоту гетероцикла. Як результат, константа протонування риванолу збільшується у порівнянні з цією ж константою для акридину на 6 порядків і становить $\lg K_a = 11.49$ [52]. При цьому аміногрупи проявляють дуже слабкі основні властивості внаслідок спряження їхніх електронних пар з ароматичною системою π -електронів акридинового цикла [53]. Таким чином, риванол у інтервалі рН від 3 до 8 перебуває в розчині у вигляді протонованих по гетероциклічному атому азоту катіонів.

Для дослідження можливості та закономірностей взаємодії риванолу з дезоксирибонуклеїновою кислотою, попе-

редньо адсорбованою на поверхні діоксиду титану, було досліджено адсорбцію РВ на поверхні TiO_2 та ДНК-вмісного TiO_2 . Одержані результати було порівняно із взаємодією ДНК та риванолу у водних розчинах при різному співвідношенні концентрацій компонентів даної системи, оскільки з літератури відомо, що метод зв'язування акридинових барвників з ДНК залежить від величини співвідношення їхніх концентрацій [45, 49, 50, 54]. Рельєф поверхні потрійної системи TiO_2 -ДНК-РВ досліджено методами АСМ та СЕМ.



В присутності ДНК в розчині спостерігаються спектральні зміни, що свідчать про утворення комплексу ДНК-риванол (рис. 1 а). Інтенсивність спектрів зменшується, а максимум поглинання зміщується в довгохвильову область спектра. Величина зміщення максимуму поглинання залежить від співвідношення концентрацій $C_{ДНК}/C_{РВ}$. Відсутність спільної точки перетину для всіх спектрів може свідчити про різний тип зв'язування риванолу з молекулами нуклеїнової кислоти.

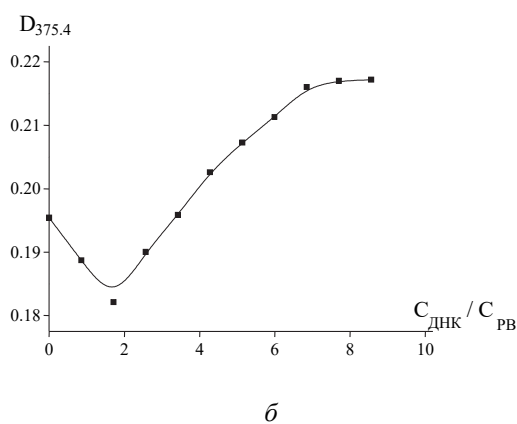
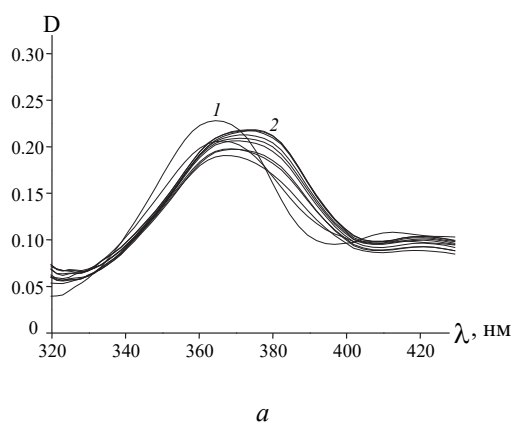


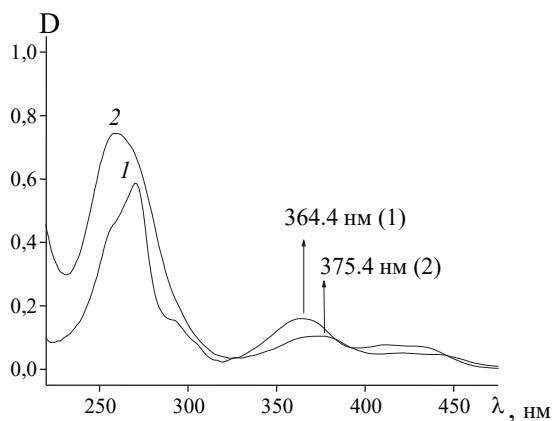
Рис. 1. Спектри поглинання риванолу в присутності ДНК (а): 1 – $C_{ДНК} = 0$; 2 – $C_{ДНК} = 0.005-0.05$ г/л; $C_{РВ} = 20$ мкМ. Залежність оптичної густини риванолу від $C_{ДНК}/C_{РВ}$ (б)

При $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}} \leq 2$ спектральні криві мають спільну точку перетину зі спектром чистого риванолу. При цьому співвідношенні з'являється вільний РВ в системі (надлишок) і його взаємодія відбувається із зовнішньою поверхнею макромолекули ДНК. При $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}} \geq 2$ весь риванол у системі знаходиться у зв'язаному стані і утворення комплексу ДНК-риванол характеризується іншим типом взаємодії, в результаті якого молекули РВ вбудовуються в спіраль ДНК. Тобто, концентраційне співвідношення $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}} = 2$ є ніби межею насичення макромолекули риванолом. Відсутність лінійної залежності зміни оптичної густини РВ від співвідношення концентрацій $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}}$ (рис. 1 б) також вказує на реалізацію різних типів зв'язування в системі. Одержані результати добре узгоджуються з літературними даними [46, 50].

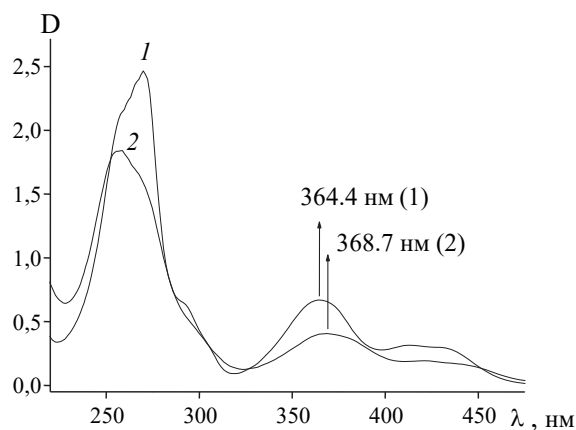
У ході дослідження взаємодії у водному розчині, що містить ДНК та РВ при співвідношенні концентрацій $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}} = 7$ спектрофотометричним методом спостерігається зменшення інтенсивності поглинання (гіпохромний ефект) та довгохвильовий

(батохромний) зсув до 20 нм максимуму поглинання риванолу у видимій області спектра (рис. 2 а), що характерно при інтеркаляції акридинових барвників у молекули ДНК.

Взаємодія РВ з ДНК у водному розчині при співвідношенні $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}} = 1.4$ приводить до прояву у його спектрі гіпохромного ефекту, який супроводжується незначним батохромним зсувом (до 4 нм) максимуму поглинання у видимій області спектра (рис. 2 б). Це може свідчити про напівінтеркаляційну взаємодію у системі ДНК-РВ за даних умов експерименту (молярному співвідношенні концентрацій), оскільки вбудовування хромофорів у подвійну спіраль не може відбуватися через кожну пару нуклеотидів, а лише через дві [55]. Це граничний випадок, ніби насичення. Оскільки концентрацію ДНК ми розглядаємо, як концентрацію пар нуклеїнових основ, то співвідношення $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}} = 1.4$ означає, що на кожні приблизно півтори пари нуклеїнових основ «припадає» одна молекула риванолу, а це, виходячи з вище сказаного, унеможливорює інтеркаляцію.



а



б

Рис. 2. Спектри поглинання індивідуального розчину риванолу (1) та його комплексу з ДНК (2) при $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}} = 7$ (а) та $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}} = 1.4$ (б); $C_{\text{ДНК}} = 68.5$ мкМ

Не виключено, що і стеричний фактор має місце у даному випадку. При співвідношенні $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}} \leq 1$ у видимій області спектра відмічено лише зменшення інтенсивності максимуму його поглинання, але наявного зсуву максимуму поглинання в бік більших довжин хвиль не зафіксовано

(рис. 3). Це свідчить про відсутність повної чи часткової інтеркаляційної взаємодії молекул РВ з ДНК. В даному випадку може реалізуватися зовнішнє зв'язування катіонів РВ з негативно зарядженим фосфатним остовом спіралі за рахунок електростатичної взаємодії [46, 50, 56, 57].

Було досліджено адсорбцію риванолу на поверхні діоксиду титану з водного розчину в залежності від рН. У водних розчинах електролітів на поверхні діоксиду титану в результаті взаємодії функціональних груп поверхні ($\equiv\text{TiOH}$) з протонами та іонами електроліту утворюється подвійний електричний шар. Методом потенціометричного титрування водних суспензій TiO_2 були розраховані константи рівноваги реакцій протонування, іонізації поверхневих функціональних груп та константи зв'язування їх з аніонами та катіонами електроліту. Була визначена точка нульового заряду (ТНЗ) для діоксиду титану, яка знаходиться при $\text{pH} = 6.5$. Концентрація гідроксильних груп на поверхні становила 0.5 ммоль/г [58–60]. В кислому середовищі

гідроксильні групи в основному протоновані. При рН вище ТНЗ переважають іонізовані групи.

Результати даного адсорбційного дослідження наведені на рис. 4. Як бачимо, хід адсорбційних кривих та величина максимального вилучення риванолу з розчину практично співпадають, незалежно від вихідної концентрації сорбента. Величина адсорбції риванолу у системі зростає при $\text{pH} > 5$, як і концентрація іонізованих гідроксильних груп на поверхні діоксиду титану. Оскільки риванол перебуває у розчині в досліджуваному інтервалі рН в катіонній формі, то можна припустити, що рушійною силою адсорбційного процесу є електростатична взаємодія.

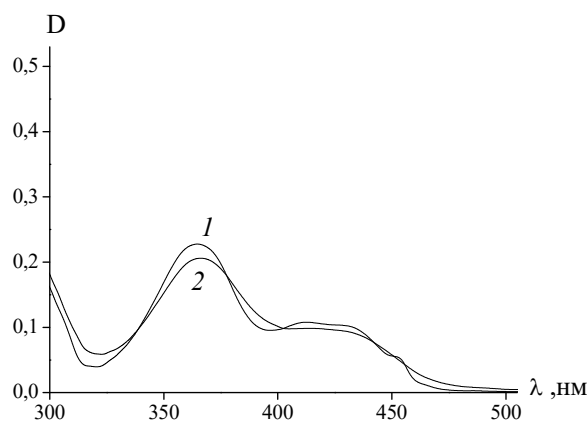


Рис. 3. Спектри поглинання індивідуального розчину риванолу (1) та його комплексу з ДНК (2) при $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}} \leq 1$

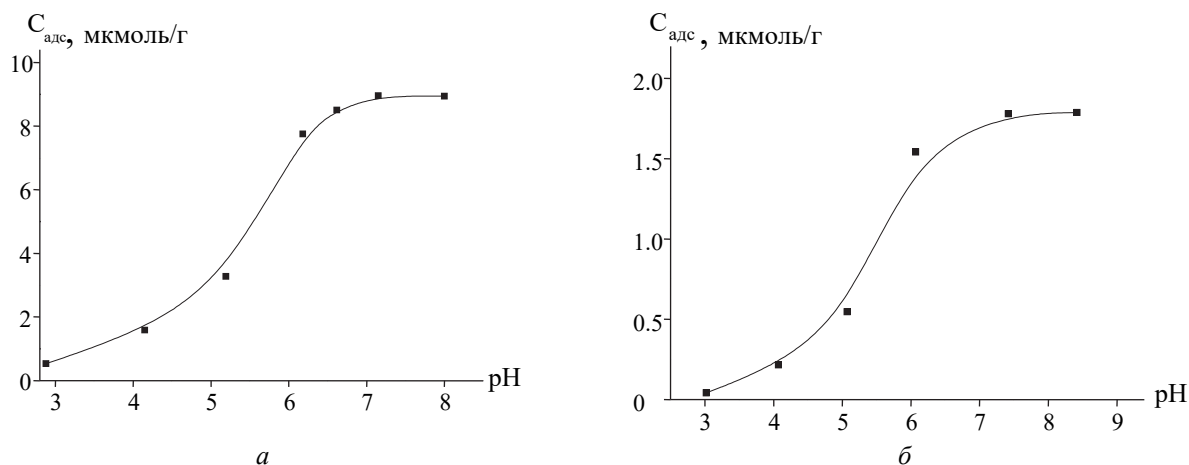


Рис. 4. Залежність адсорбції риванолу ($C_{\text{РВ}} = 10 \text{ мкМ}$) від рН при іонній силі розчину 0.01 NaCl та концентрації діоксиду титану 1 г/л (а) та 5 г/л (б)

Враховуючи те, що молекули риванолу також адсорбуються на поверхні діоксиду і при $\text{pH} < \text{ТНЗ}$, можна припустити, що реалізуються й інші способи зв'язування з його поверхнею, наприклад, за рахунок утворення водневих зв'язків між нейтральними групами поверхні та активними групами РВ [61]. Екзоциклічні аміногрупи молекул риванолу здатні до утворення водневих зв'язків з гідроксильними групами поверхні оксиду. А от наявність екзоциклічної етоксигрупи в складі молекули, що не здатна до утворення таких зв'язків, може створювати стеричні перешкоди при підході РВ до поверхні оксиду навіть у випадку, коли електростатична взаємодія є можливою.

Згідно літературних даних [62, 63], молекули акридинів майже повністю зв'язуються з молекулами ДНК при співвідношенні $[\text{ДНК}]/[\text{ліганд}] \geq 20$ у системі. Враховуючи дане співвідношення, було

досліджено взаємодію риванолу з ДНК, іммобілізованою на поверхні діоксиду титану, в залежності від pH розчину. Концентрація ДНК, адсорбованої на поверхні TiO_2 , становила близько 50 мкмоль/г, а концентрація вихідного розчину риванолу – 10 мкМ. На поверхні ДНК-вмісного діоксиду титану в кислій області спостерігається значна адсорбція РВ, величина якої при $\text{pH} = 3$ становить близько 60 % (рис. 5), тоді як на поверхні TiO_2 в кислій області при $\text{pH} = 3$ риванол практично не адсорбується. Як зазначалося вище, молекули РВ перебувають у водному розчині в інтервалі pH від 2 до 8 у катіонній формі. Бічний остов молекули ДНК, адсорбованої на поверхні TiO_2 , є доступним для взаємодії та, починаючи з $\text{pH} \geq 2$, є негативно зарядженим. Це сприяє адсорбції позитивно заряджених молекул РВ, рушійною силою якої є електростатична взаємодія, з подальшою їхньою інтеркаляцією у молекули ДНК.

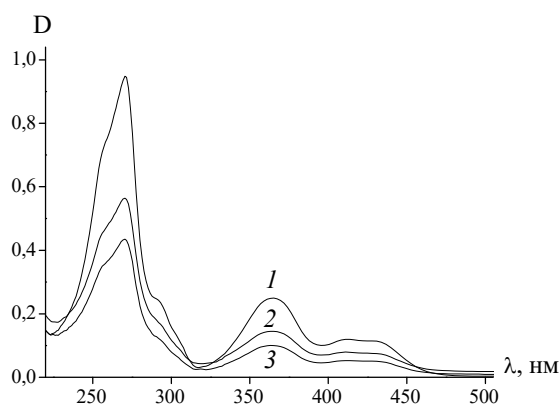


Рис. 5. Спектри поглинання вихідного (1) та рівноважних розчинів риванолу при $\text{pH} = 2.4$ (2) та $\text{pH} = 3$ (3) потрібної системи TiO_2 -ДНК-РВ

Одержані спектри дифузійного відбиття риванолу, адсорбованого на поверхні ДНК-вмісного TiO_2 , є підтвердженням способу взаємодії між ДНК, іммобілізованою на поверхні діоксиду титану, та РВ (рис. 6). У видимій області в спектрі риванолу спостерігається зменшення інтенсивності максимуму поглинання та зміщення його до 20 нм в довгохвильову область, що характерно при інтеркаляційній взаємодії між молекулами.

При $\text{pH} > 6$, коли на поверхні діоксиду титану поступово відбувається депротонування гідроксильних поверхневих груп,

спостерігається десорбція ДНК з поверхні TiO_2 . Даному процесу може сприяти і попередня інтеркаляція риванолу у молекули ДНК, що призводить до локальних змін у їхній структурі.

Для розрахунку кількісних характеристик адсорбції РВ на поверхні ДНК-вмісного TiO_2 було вивчено залежність адсорбції риванолу від його вихідної концентрації у розчині при $\text{pH} = 4.4, 4.6, 4.8$ у інтервалі певних концентраційних співвідношень, а саме: $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}} = 20-4$, $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}} = 26-6$ та $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}} = 11-2$. Концентрація ДНК, адсорбованої на поверхні діоксиду титану,

становила близько 19.8, 39.4, 43.2 мкмоль/г відповідно. Ізотерми адсорбції РВ, наведені на рис. 7, належать до ізотерм різного типу. Для двох останніх концентраційних інтервалів одержані ізотерми адсорбції є типовими ізотермами Ленгмюра, які характеризуються утворенням моношару молекул адсорбата або наявністю на поверхні адсорбента центрів зв'язування для кожної

окремої його молекули. Ізотерми, що спостерігаються для РВ при першому концентраційному співвідношенні, належать до іншого типу. Вона має своєрідний ступінчатий характер, що може спостерігатися у тому випадку, коли на поверхні адсорбента існує декілька груп активних центрів, що відрізняються за своєю енергією.

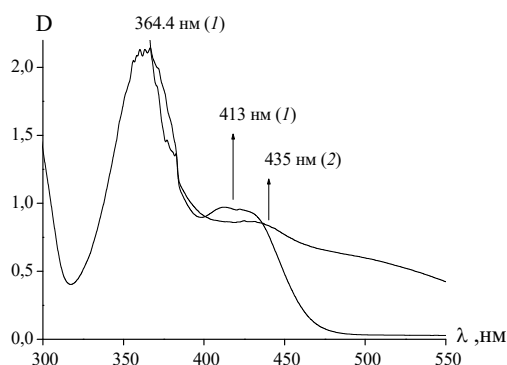


Рис. 6. Спектри дифузного відбиття твердих зразків індивідуального риванолу (1) та адсорбованого (2) на поверхні ДНК-вмісного діоксиду титану

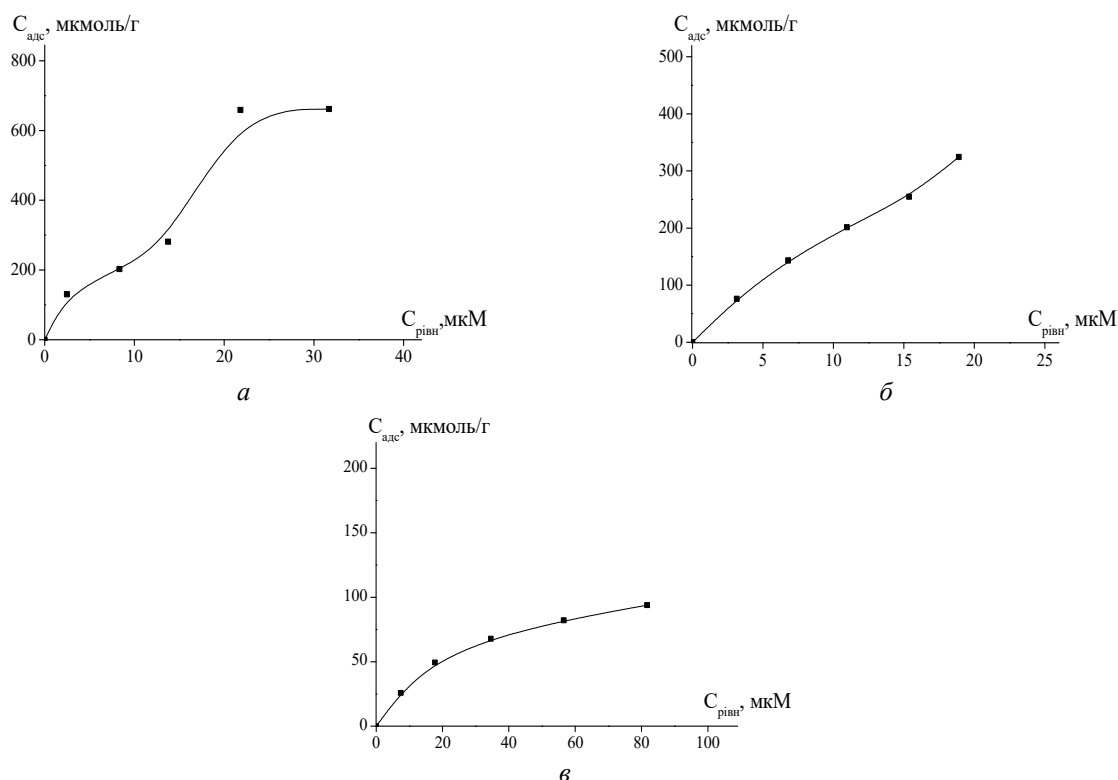


Рис. 7. Ізотерми адсорбції РВ на поверхні ДНК-вмісного TiO_2 у інтервалах концентраційних співвідношень $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}} = 20-4$ при $\text{pH} = 4.4$ (а), $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}} = 26-6$ при $\text{pH} = 4.6$ (б) та $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}} = 11-2$ при $\text{pH} = 4.8$ (в). $C_{\text{ДНК}} = 19.8/39.4/43.2$ мкмоль/г та $C_{\text{РВ}} = 10/7.5/40$ мкМ (першої і кожної наступної порції барвника), іонна сила розчину 0.01 М NaCl

При адсорбції РВ на поверхні ДНК-вмісного діоксиду титану роль сорбента виконує дезоксирибонуклеїнова кислота, іммобілізована на поверхні TiO_2 . Відомо, що при взаємодії дволанцюгової ДНК з речовинами існує три основні типи нековалентного зв'язування їхніх молекул: електростатичне або зовнішнє зв'язування з фосфатним остовом молекул ДНК, жолобковий спосіб взаємодії та інтеркаляція, в якому беруть участь пари нуклеїнових основ. Відповідно є декілька типів активних центрів, що мають різну енергію [64, 65]. Оскільки адсорбцію здійснювали ступінчасто, додаючи до однієї й тієї самої наважки сорбента декілька разів аліквоту однакового об'єму риванолу, то величина

співвідношення $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}}$ змінювалася від 20 для першої точки до 4 для останньої. Перший ступінь ізотерми відповідає процесу заповнення найбільш активних центрів, другий – процесу заповнення центрів з більш низькою активністю. Не виключено, що при подальшому підвищенні концентрації можлива взаємодія між молекулами адсорбата, коли попередньо зв'язана молекула риванолу з ДНК слугує центром зв'язування для кожної наступної. Припустивши почергову реалізацію двох способів зв'язування, враховуючи, що інтеркаляційна взаємодія також містить, як початковий етап реалізації, електростатичну складову [66], можна пояснити різний характер кривих ізотерм адсорбції.

Таблиця. Параметри, розраховані за ізотермами адсорбції риванолу з поверхнею ДНК-вмісного діоксиду титану

| Модель адсорбції | Параметри моделі | Значення параметрів | | |
|--------------------|---|---|---|---|
| | | $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}} = 20-4$ $C_{\text{ДНК}} = 19.8 \text{ мкмоль/г}$ | $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}} = 26-6$ $C_{\text{ДНК}} = 39.4 \text{ мкмоль/г}$ | $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РВ}} = 11-2$ $C_{\text{ДНК}} = 43.2 \text{ мкмоль/г}$ |
| Ленгмюр | K_L , л/моль | 4.97 | 38449 | 34815 |
| | $\log K_L$ | 4.97 | 4.58 | 4.54 |
| | A_{max} , моль/г | $6.240 \cdot 10^{-4}$ | $7.024 \cdot 10^{-4}$ | $1.261 \cdot 10^{-4}$ |
| | ΔG° , кДж/моль | -27.885 | -25.717 | -25.475 |
| | R_L , (C_0 , моль/л) | 0.515 | 0.776 | 0.418 |
| | R^2 | 0.91255 | 0.9989 | 0.99958 |
| Фрейндліх | K_F , л/моль | 1.142 | 0.4744 | 0.00495 |
| | $\log K_F$ | 0.057 | 0.206 | -2.305 |
| | $1/n$ | 0.719 | 0.786 | 0.420 |
| | R^2 | 0.97489 | 0.99852 | 0.9981 |
| Дубінін-Радущкевич | K_{DR} , моль ² /кДж ² | 0.00497 | 0.00561 | 0.00424 |
| | $\log K_{\text{DR}}$ | -2.303 | -2.25 | -2.37 |
| | A_{max} , моль/г | 0.01486 | 0.0158 | $9.152 \cdot 10^{-4}$ |
| | E , кДж/моль | 10.03 | 9.44 | 10.859 |
| | R^2 | 0.96969 | 0.99815 | 0.99196 |

Для аналізу отриманих даних застосовували різні ізотермічні моделі. При використанні тієї чи іншої моделі для характеристики та одержання кількісних параметрів адсорбції важливо враховувати особливості даного процесу для досліджуваних систем. Модель ізотерми Ленгмюра описує моношарову адсорбцію на однорідній поверхні без взаємодії між адсорбованими молекулами [67]. Згідно моделі Фрейндліха, поверхня більшості адсорбентів є неоднорідною з різними за величиною енергії адсорбційними центрами. Між адсорбованими частинками можлива взаємодія, тому адсорбція часто не

обмежується утворенням мономолекулярного шару [68]. Для оцінки механізму взаємодії між риванолом та адсорбованою на поверхні діоксиду титану ДНК було розраховано дані рівноваги за допомогою моделі Дубініна-Радущкевича [69]. Дана модель є більш загальною, оскільки вона не передбачає однорідності поверхні та постійного адсорбційного потенціалу. Вона була розроблена для опису адсорбції на мікропористих адсорбентах і використовується для встановлення фізичної або хімічної природи адсорбції. Оскільки одним із способів взаємодії ДНК з речовинами є

інтеркаляція, коли планарний ароматичний фрагмент молекули вставляється між парами нуклеїнових основ, проникаючи у молекулу ДНК, то у певному наближенні дволанцюгову дезоксирибонуклеїнову кислоту можна розглядати, як пористу речовину. Тому дана модель була використана для встановлення природи адсорбції РВ на поверхні ДНК-вмісного діоксиду титану.

Значення параметра кореляції лінійних залежностей ($R^2 \approx 0.99$), наведені в таблиці, свідчать про те, що розраховані параметри можуть слугувати для характеристики адсорбційного процесу.

Даний процес адсорбції є спонтанним, оскільки $\Delta G^\circ < 0$ і здійснюється за іонообмінним механізмом, оскільки середнє значення енергії адсорбції, розрахованої за моделлю Дубініна-Радушкевича, знаходиться в діапазоні $8 < E < 16$ кДж/моль. Сприятливий характер адсорбції можна виразити через безрозмірний рівноважний параметр Холла (R_L), який розраховується на основі константи Ленгмюра [70]. Значення R_L вказує на характер перебігу процесу: незворотна ($R_L = 0$), сприятлива ($0 < R_L < 1$), лінійна ($R_L = 1$) або несприятлива ($R_L > 1$).

Про неоднорідність поверхні можна судити й за значенням параметра $1/n$, розрахованого за рівнянням Фрейндліха: чим він менший, тим більша неоднорідність

адсорбента. Він також є мірою інтенсивності сорбції. При значеннях $1/n < 1$ процес адсорбції є сприятливим на даному адсорбенті.

Параметр $1/n$ є також показником сили і характеру адсорбції: при $1/n = 1$ розподіл адсорбованих частинок не залежить від концентрації, при $1/n = 0$ адсорбція має необоротний характер, при $1/n < 1$ адсорбція сприятлива, при $1/n > 1$ адсорбційний процес є несприятливим на даному адсорбенті. Аналізуючи розраховані параметри міри інтенсивності сорбції $1/n$ та R_L , розраховані за моделями Фрейндліха та Ленгмюра відповідно, видно, що характер адсорбції на цьому сорбенті є сприятливий.

Рельєф системи TiO_2 -ДНК-РВ було досліджено методами АСМ та СЕМ. При вбудовуванні риванолу в молекули ДНК на поверхні TiO_2 утворюються подовжені фрагменти з чіткими межами, що утворюють анізотропний рельєф (рис. 8 а). У разі реалізації режиму зовнішнього зв'язування, при концентраційному співвідношенні $C_{\text{ДНК}}/C_{\text{РН}} \leq 2$, молекули риванолу здатні утворювати агрегати шляхом стекінг-взаємодії, використовуючи як основу попередньо адсорбовану молекулу риванолу [46, 50, 62, 71]. Утворені таким чином агрегати чітко фіксуються на АСМ-зображенні (рис. 8 б).

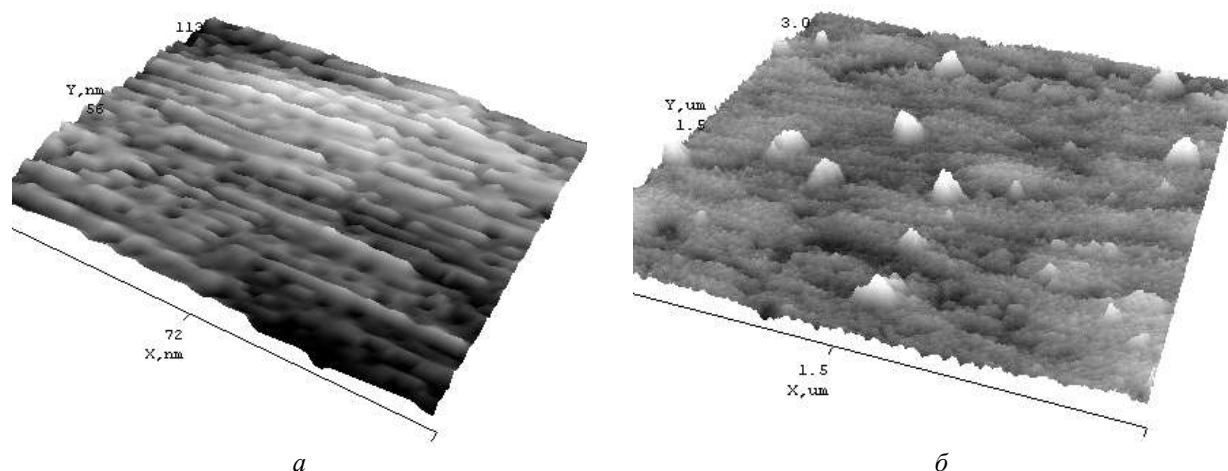


Рис. 8. АСМ 3D-зображення рельєфу поверхні потрійної системи TiO_2 -ДНК-РН при повній (а) та неповній (б) інтеркаляції риванолу у молекули ДНК

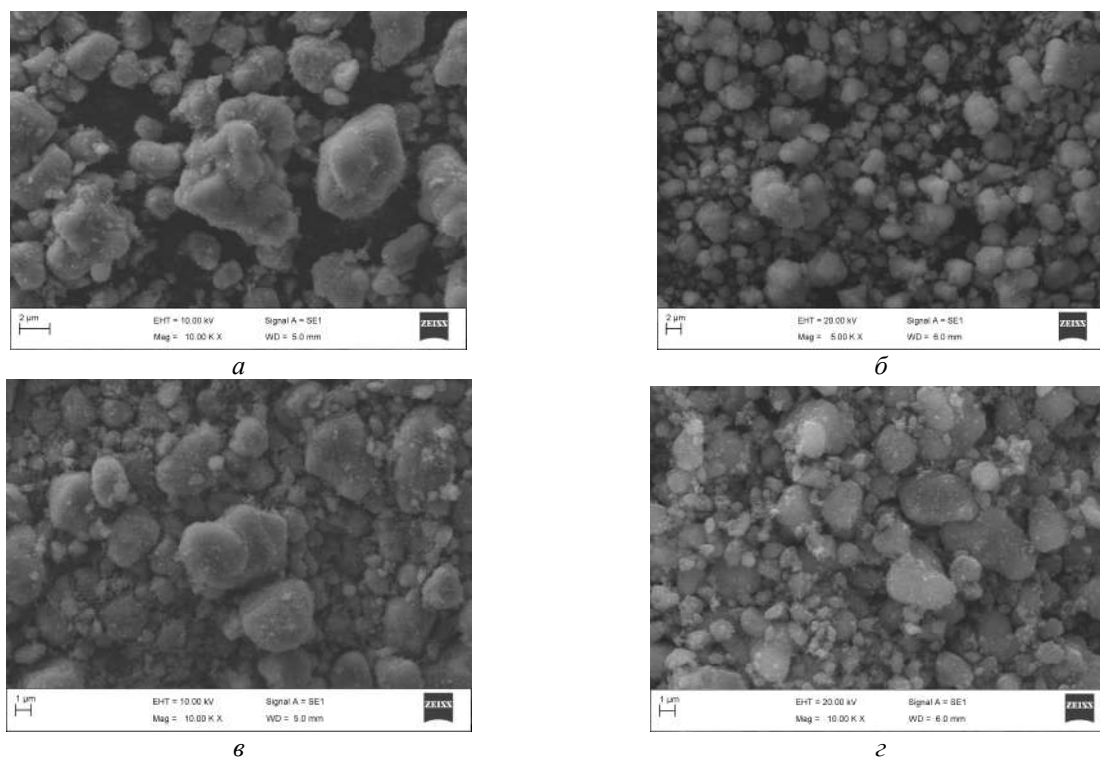


Рис. 9. СЕМ-зображення поверхонь бінарної TiO_2 -риванол (а, б) та потрійної TiO_2 -ДНК-риванол (в, г) систем

Це ж підтверджують і знімки, зроблені за допомогою скануючого електронного мікроскопа (рис. 9). На знімках поверхні адсорбційної системи діоксиду титану з риванолом видно, що сферичні частиночки TiO_2 рівномірно покриті адсорбованою речовиною (рис. 8 а, б). Поверхня системи ДНК-вмісного діоксиду титану з РВ більш ущільнена, покрита шаром желеподібної маси, на поверхні якої в довільному порядку, як наплення, фіксується адсорбована речовина риванол (рис. 8 в, г).

ВИСНОВКИ

Проведено дослідження взаємодії похідного діаміноакридину (риванолу) з дезоксирибонуклеїною кислотою, адсорбованою на поверхні нанокристалічного діоксиду титану. Також досліджено взаємодію риванолу з нуклеїною кислотою у розчині. Встановлено, що попередня адсорбція дезоксирибонуклеїнової кислоти на поверхні діоксиду титану не перешкоджає її взаємодії з риванолом. Показано, що режим взаємодії риванолу з нуклеїною кислотою у розчині залежить від співвідношення їхніх концентрацій. Він може бути як

інтеркальованим чи напівінтеркальованим при безпосередньому входженні риванолу між парами гетероциклічних основ обох або одного з ланцюгів нуклеїнової кислоти, так і електростатичним, коли молекули біологічно-активної речовини взаємодіють з зовнішнім фосфатним остовом молекул нуклеїнової кислоти. Розраховано термодинамічні характеристики процесу взаємодії дезоксирибонуклеїнової кислоти, іммобілізованої на поверхні твердого носія, з риванолом. Виходячи з отриманих параметрів, показано, що цей процес є самодовільним та здійснюється за іонообмінним механізмом. Дані гібридні органо-мінеральні сорбенти можуть слугувати модельними структурами для досліджень в біотехнологічних галузях, використовуватися для розробок нових способів доставки ліків або генів, резервуарних систем на молекулярному рівні, слугувати біосумісними носіями. Створення органо-мінеральних сорбентів, які поєднують нуклеїнові кислоти та оксиди металів, сприяє стабілізації таких систем і розширює сфери їхнього можливого застосування в медицині і біотехнології, підвищуючи їхню цільову специфічність.

Interaction of rivanol with molecules of deoxyribonucleic acid (DNA) sorbed onto nanocrystalline titania surface

O.V. Markitan, N.N. Vlasova, Y.V. Sheludko

Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
17 General Naumov Str., Kyiv, 03164, Ukraine, kammar@ukr.net

Kukhar Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
1 Academician Kukhar Str, Kyiv, 02094, Ukraine, escheludkop@gmail.com

Creation of new therapeutic materials based on nucleic acids encourages the combination of the latter with materials capable of adsorbing them. One of the most promising materials for such purposes is nanocrystalline titanium dioxide due to its low toxicity, stability of its physical and chemical parameters, and high biocompatibility. Accordingly, understanding the nature of the interaction of the surface of titanium oxide with biologically active substances is a very important issue. It is also always a relevant question whether the biopolymer immobilized on the surface of a solid remains capable of serving as a reservoir for drug delivery or a tool for the treatment of a particular disease.

The aim of the work was to investigate the interaction of the biologically active substance rivanol with the surface of DNA-containing titanium dioxide. It has been found that prior adsorption of deoxyribonucleic acid on the surface of titanium dioxide does not prevent its interaction with rivanol, which was confirmed by the methods of electron spectroscopy, atomic force and scanning electron microscopy. The mode of interaction of rivanol with deoxyribonucleic acid depends on the ratio of their concentrations and can be either intercalated or semi-intercalated, and electrostatic. Based on the calculated thermodynamic characteristics, the process of interaction of deoxyribonucleic acid adsorbed on the surface of a solid carrier is arbitrary and occurs by an ion exchange mechanism. These hybrid organo-mineral sorbents can serve as model structures for research in biotechnological fields, be used for the development of new methods of drug or gene delivery, reservoir systems at a molecular level, and serve as biocompatible carriers. The creation of organo-mineral sorbents, which combine nucleic acids and metal oxides, contributes to the stabilization of such systems and expands the scope of their possible application in medicine and biotechnology, increasing their target specificity.

Keywords: titanium dioxide, deoxyribonucleic acid, rivanol, adsorption, intercalation, isotherm, models adsorption

ЛІТЕРАТУРА

1. Paunesku T., Rajh T. Biology of TiO₂-oligonucleotide nanocomposites // Nat. Mater. – 2003. – V. 2, N 5. – P. 343–346.
2. Suzuki H., Amano T., Toyooka T. Preparation of DNA-adsorbed TiO₂ particles with high performance for purification of chemical pollutants // Environ. Sci. Technol. – 2008. – V. 42, N 21. – P. 8076–8082.
3. Abu-Salah Kh.M., Ansari A.A., Alrokayan S.A. DNA-Based Applications in Nanobiotechnology // J. Biomed. Biotechnol. – 2010. – V. 2010. – P. 715295–715310.
4. Sun Y., Kiang C-H. DNA-based artificial nanostructures: Fabrication, properties, and applications. In: Nanostructured Biomaterials and Their Applications in Nanobiotechnology. V. 1–2. – American Scientific Publishers, 2005. – 1049 p.
5. Pautler R., Kelly E.Y., Huang P-J.J. et al. Attaching DNA to nanoceria: regulating oxidase activity and fluorescence quenching // ACS Appl. Mater. Interfaces. – 2013. – V. 5, N 15. – P. 6820–6825.
6. Soni A., Khurana P., Singh T., Yayaram B. A DNA intercalation methodology for an efficient prediction of ligand binding pose and energetics // Bioinformatics. – 2017. – V. 33, N 10. – P. 1488–1496.
7. Fahrenkopf N.M., Shahedipour-Sandvik F., Tokranova N. et al. Direct attachment of DNA to semiconducting surfaces for biosensor applications // J. Biotechnol. – 2010. – V. 150, N 3. – P. 312–314.
8. Fahrenkopf N.M., Rice P.Z., Bergkvist M. et al. Immobilization mechanism of deoxyribonucleic acid (DNA) to hafnium dioxide (HfO₂) surface for biosensing applications // ACS. Appl. Mater. Interfaces. – 2012. – V. 4, N 10. – P. 5360–5368.

9. Ruan W., Zheng M., An Y. et al. DNA nanoclew templated spherical nucleic acids for siRNA delivery // Chem. Commun.. – 2018. – V. 54, N 29. – P. 3609–3612.
10. Linko V., Ora A., Kostianinen M.A. DNA nanostructures as smart drug-delivery vehicles and molecular devices // Trends Biotechnol. – 2015. – V. 33, N 10. – P. 586–594.
11. Hu Y., Chen Z., Zhang H. et al. Development of DNA tetrahedron-based drug delivery system // Drug Delivery. – 2017. – V. 24, N 1. – P. 1295–1301.
12. Jiang Q., Liu S., Liu J. et al. Rationally designed DNA-origami nanomaterials for drug delivery in vivo // Adv. Mater. – 2019. – V. 31, N 45. – P. e1804785.
13. Waring M.J. DNA Modification and Cancer // Annu. Rev. Biochem. – 1981. – V. 50, N 1. – P. 159–192.
14. Zhang Q., Jiang Q., Li N. et al. DNA Origami as an In Vivo Drug Delivery Vehicle for Cancer Therapy // ACS Nano. – 2014. – V. 8, N 7. – P. 6633–6643.
15. Hurley L.H. DNA and its associated processes as targets for cancer therapy // Nat. Rev. Cancer. – 2002. – V. 2, N 3. – P. 188–200.
16. Zhao Y.-X., Shaw A., Zeng X., Benson E., Nyström A. M., Högberg B. DNA Origami Delivery System for Cancer Therapy with Tunable Release Properties // ACS Nano. – 2012. – V. 6, N 10. – P. 8684–8691.
17. Mukherjee A., Sasikala W.D. Drug-DNA intercalation: From discovery to the molecular mechanism // Rev. Adv. Protein Chem. Struct. Biol. – 2013. – V. 92. – P. 1–62.
18. Zhuang X., Ma X., Xue X. et al. A Photosensitizer-Loaded DNA Origami Nanosystem for Photodynamic Therapy // ACS Nano. – 2016. – V. 10, N 3. – P. 3486–3495.
19. Seeman N.C. Nucleic acid junctions and lattices // J. Theor. Biol. – 1982. – V. 99, N 2. – P. 237–247.
20. Dietz H., Douglas S.M., Shih W.M. Folding DNA into Twisted and Curved Nanoscale Shapes // Science. – 2009. – V. 325, N 5941. – P. 725–730.
21. Han D., Pal S., Nangreave J., Deng Z. et al. DNA Origami with Complex Curvatures in Three-Dimensional Space // Science. – 2011. – V. 332, N 6027. – P. 342–346.
22. Rothemund P.W.K. Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns // Nature. – 2006. – V. 440, N 7082. – P. 297–302.
23. Lee J., Mahendra S., Alvarez P.J.J. Nanomaterials in construction industry: A review of their applications and environmental health and safety considerations // ACS Nano. – 2010. – V. 4, N 7. – P. 3580–3590.
24. Gagner J.E., Shrivastava S., Qian X. et al. Engineering nanomaterials for biomedical applications requires understanding the nano-bio interface: A perspective // J. Phys. Chem. Lett. – 2012. – V. 3, N 21. – P. 3149–3158.
25. Moghimi S.M., Hunter A.C., Murray J.C. Nanomedicine: Current status and future prospects // FASEB J. – 2005. – V. 19, N 3. – P. 311–330.
26. Moyano D.F., Rotello V.M. Nano meets biology. Structure and function of the nanoparticle interface // Langmuir. – 2011. – V. 27, N 17. – P. 10276–10385.
27. Fishre J., Egerton T.A. Titanium Compounds // Inorganic Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. – New York: Wiley-Interscience, 2001.
28. Ai J., Biazar E., Jafarpour M. et al. Nanotoxicology and nanoparticle safety in biomedical designs // Int. J. Nanomed. – 2011. – V. 6. – P. 1117–1127.
29. Stark W.J. Nanoparticles in biological systems // Ang. Chem. Int. Ed. – 2011. – V. 50, N 6. – P. 1242–1258.
30. Shemetov A.A., Nabiev I., Sukhanova A. Molecular interaction of proteins and peptides with nanoparticles // ACS Nano. – 2012. – V. 6, N 6. – P. 4585–4602.
31. Sundgren J.-E., Bodö P., Lundström I. Auger electron spectroscopic studies of the interface between human tissue and implants of titanium and stainless steel // J. Colloid Interface Sci. – 1986. – V. 110, N 1. – P. 9–20.
32. Stoch A., Jastrzebski W., Brozek A. et al. FTIR absorption–reflection study of biomimetic growth of phosphates on titanium implants // J. Mol. Struct. – 2000. – V. 555, N 1–3. – P. 375–382.
33. Engholm-Keller K., Larsen M.R. Titanium dioxide as chemoaffinity chromatographic sorbent of biomolecular compounds– applications in acidic modification-specific proteomics // J. Proteomics. – 2011. – V. 75, N 2. – P. 317–328.
34. Lane A.N., Jenkins T.C. Thermodynamics of Nucleic Acids and Their Interactions with Ligands // Rev. Biophys. – 2000. – V. 33, N 3. – P. 255–306.
35. Гетероциклические соединения / Под ред. Эльдерфильда Р. Т. 4. – Москва: Издательство иностранной литературы, 1955. – 539 с.
36. Lerman L.S. Structural consideration of the interaction of DNA and acridines // J. Mol. Biol. – 1961. – V. 3, N 1. – P. 18–30.
37. Lenglet G., David-Cordonnier M.-H. DNA-destabilizing agents as an alternative approach for targeting DNA: Mechanisms of action and cellular consequences // J. Nucleic Acids. – 2010. – V. 2010. – P. 1–17.
38. Koster D.A., Palle K., Bot E.S.M., Bjornsti M.-A., Dekker N.H. Antitumour drugs impede DNA uncoiling by topoisomerase I // Nature. – 2007. – V. 448, N 7150. – P. 213–217.

39. *Biebricher A.S., Heller I., Roijmans R.F.H. et al.* The impact of DNA intercalators on DNA and DNA-processing enzymes elucidated through force-dependent binding kinetics // *Nat. Commun.* – 2015. – V. 6, N 7304. – P. 1–12.
40. *Tse W.C., Boger D.L.* Sequence-selective DNA recognition: Natural products and nature's lessons // *Chem. Biol.* – 2004. – V.11, N 12. – P. 1607–1617.
41. *Wang A.H., Ughetto G., Quigley G.J., Rich A.* Interactions between an anthracycline antibiotic and DNA: molecular structure of daunomycin complexed to d(CpGpTpApCpG) at 1.2-Å resolution // *Biochemistry.* – 1987. – V. 26, N 4. – P. 1152–1163.
42. *Альберт А.* Избирательная токсичность. – Москва: Медицина, 1989. – 400 с.
43. *Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У. Джонс К.* Справочник биохимика. – Москва: Мир, 1991. – 544 с.
44. *Tuite E., Kelly J.M.* The Interaction of Methylene Blue, Azure B, and Thionine with DNA: Formation of Complexes with Polynucleotides and Mononucleotides as Model Systems // *Biopolymers.* – 1995. – V. 35. – P. 419–433.
45. *Aslanoglu M.* Electrochemical and spectroscopic studies of the interaction of proflavine with DNA // *Anal. Sci.* – 2006. – V. 22, N 3. – P. 439–443.
46. *Bereznyak E.G., Gladkovskaya N.A., Khrebtova A.S. et al.* Peculiarities of DNA-Proflavine Binding under Different Concentration Ratios // *Biophysics.* – 2009. – V. 54, N 5. – P. 574–580.
47. *Морошкіна Е.Б.* Интеркаляция как способ связывания биологически активных соединений с двухспиральной ДНК // *Вестник СПбГУ. Сер. 4.* – 2011. – Вып. 4. – С. 114–122.
48. *Wakelin L.P.G., Waring M.J.* Kinetics of drug–DNA interaction // *J. Mol. Biol.* – 1980. – V. 144, N 2. – P. 183–214.
49. *Muller W., Crothers D.M.* Interactions of Heteroaromatic Compounds with Nucleic Acids // *Eur. J. Biochem.* – 1975. – V. 54, N 1. – P. 267–277.
50. *Чернышев Д.Н., Бучельников А.С., Мухина Ю.В., Барановский С.Ф.* Спектрофотометрический анализ связывания ароматических биологически активных соединений с ДНК // *Вісник СевНТУ: Серія: Фізика біологічних систем і молекул.* – 2011. – Вып. 113. – С. 57–66.
51. *Li W.-Y., X J.-G., Guo X.-Q. et al.* Study on the interaction between rivanol and DNA and its application to DNA assay // *Spectrochim. Acta, Part A.* – 1997. – V. 53. – P. 781–787.
52. *Haugen G.H., Melhuish W.H.* Association and self-quenching of proflavine in water // *Trans. Faraday Soc.* – 1964. – V. 60. – P. 386–394.
53. *Schulman S.G., Naik D.V., Capomacchia A.C., Roy T.* Electronic Spectra and Electronic Structures of Some Antimicrobials Derived from Proflavine // *J. Pharm. Sci.* – 1975. – V. 64, N 6. – P. 982–986.
54. *Bloomfield V.A., Crothers D.M., Tinoco I.* Physical chemistry of nucleic acids. – New York: Harper and Row, 1974. – 432 p.
55. *Mc Ghee I.D., von Hippel P.N.* Theoretical aspects of DNA-protein interactions: Cooperative and non-cooperative binding of large ligands to a one-dimensional homogeneous lattice // *J. Mol. Biol.* – 1974. – V. 86, N 2. – P. 469–489.
56. *Georghiou S.* Interaction of acridine drugs with DNA and nucleotides // *Photochem. Photobiol.* – 1977. – V. 26, N 1. – P. 59–68.
57. *Sasikala W.D., Mukherjee A.* Structure and dynamics of proflavine association around DNA // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2016. – V. 18, N 15. – P. 10383–10391.
58. *Vlasova N.M., Markitan O.V.* Surface complexation modeling of biomolecule adsorptions onto titania // *Colloids and Interfaces.* – 2019. – V. 3, N 28. – P. 1–16.
59. *Власова Н.Н., Маркітан О.В.* Адсорбционные комплексы пуриновых нуклеотидов на поверхности диоксида титана // *Коллоид. журн.* – 2019. – Т. 81, № 1. – С. 16–23.
60. *Власова Н.Н., Маркітан О.В.* Адсорбция пиримидиновых нуклеотидов на поверхности диоксида титана // *Коллоид. журн.* – 2018. – Т. 80, № 4. – С. 379–386.
61. *Власова Н.Н., Головова Л.П., Стукалина Н.Г.* Адсорбционные комплексы диаминопроизводных акридина на поверхности кремнезема // *Коллоид. журн.* – 2012. – Т. 74, № 1. – С. 25–34.
62. *Nafisi S., Saboury A.A., Keramat N., Neault J-F.* Stability and structural features of DNA intercalation with ethidium bromide, acridine orange and methylene blue // *J. Mol. Struct.* – 2007. – V. 827, N 1–3. – P. 35–43.
63. *Lee C.H., Chang C-T., Wetmur J.G.* Induced Circular Dichroism of DNA-Dye Complexes // *Biopolymers.* – 1973. – V. 12, N 5. – P. 1099–1122.
64. *Strekowski L., Wilson B.* Noncovalent interactions with DNA: An overview // *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis.* – 2007. – V. 623, N 1–2. – P. 3–13.
65. *Ihmels H., Otto D.* Intercalation of Organic dye molecules into double-stranded DNA – General principles and recent developments // *Top. Curr. Chem.* – 2005. – V. 258. – P. 161–204.

66. Shaikh S.A., Ahmed S.R., Jayaram B. A molecular thermodynamic view of DNA-drug interactions: A case study of 25 minor-groove binders // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2004. – V. 429. – P. 81–99.
67. Langmuir I. The constitution and fundamental properties of solids and liquids // *J. Am. Chem. Soc.* – 1916. – V. 38. – P. 2221–2295.
68. Freundlich H.M.F. Über die Adsorption in Lösungen // *Z. Phys. Chem.* – 1906. – V. 57. – P. 385–470.
69. Dubinin M.M., Radushkevich L.V. On the equation of the characteristic curve for active coals // *Proceedings of the USSR Academy of Sciences.* – 1947. – V. 55. – P. 331–334.
70. Hall K.R., Eagleton L.C., Acrivos A., Vermeulen T. Pore and solid diffusion kinetics in fixed-bed adsorption under constant pattern conditions // *Ind. Eng. Chem. Fundam.* – 1966. – V. 5. – P. 212–223.
71. Baranovskii S.F., Bolotin P.A., Evstigneev M.P., Chernyshev D.N. Complexation of heterocyclic ligands with DNA in aqueous solution // *J. Appl. Spectroscopy.* – 2008. – V. 75, N 2. – P. 251–260.

REFERENCES

1. Paunesku T., Rajh T. Biology of TiO₂-oligonucleotide nanocomposites. *Nat. Mater.* 2003. **2**(5): 343.
2. Suzuki H., Amano T., Toyooka T. Preparation of DNA-adsorbed TiO₂ particles with high performance for purification of chemical pollutants. *Environ. Sci. Technol.* 2008. **42**(21): 8076.
3. Abu-Salah Kh.M., Ansari A.A., Alrokayan S.A. DNA-Based Applications in Nanobiotechnology. *J. Biomed. Biotechnol.* 2010. **2010**: 715295.
4. Sun Y., Kiang C-H. DNA-based artificial nanostructures: Fabrication, properties, and applications. In: *Handbook of Nanostructured Biomaterials and Their Applications in Nanobiotechnology*. V. 1–2. (American Scientific Publishers, 2005).
5. Pautler R., Kelly E.Y., Huang P-J. J., Cao J., Liu B., Liu J. Attaching DNA to nanoceria: regulating oxidase activity and fluorescence quenching. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2013. **5**(15): 6820.
6. Soni A., Khurana P., Singh T., Yayaram B. A DNA intercalation methodology for an efficient prediction of ligand binding pose and energetics. *Bioinformatics.* 2017. **33**(10): 1488.
7. Fahrenkopf N.M., Shahedipour-Sandvik F., Tokranova N., Bergkvist M., Cady N.C. Direct attachment of DNA to semiconducting surfaces for biosensor applications. *J. Biotechnol.* 2010. **150**(3): 312.
8. Fahrenkopf N.M., Rice P.Z., Bergkvist M., Deskins N.A., Cady N.C. Immobilization mechanism of deoxyribonucleic acid (DNA) to hafnium dioxide (HfO₂) surface for biosensing applications. *ACS. Appl. Mater. Interfaces.* 2012. **4**(10): 5360.
9. Ruan W., Zheng M., An Y., Liu Y., Lovejoy D.B., Hao M., Zou Y., Lee A., Yang S., Lu Y., Morsch M., Chung R., Shi B. DNA nanoclew templated spherical nucleic acids for siRNA delivery. *Chem. Commun.* 2018. **54**(29): 3609.
10. Linko V., Ora A., Kostianinen M.A. DNA nanostructures as smart drug-delivery vehicles and molecular devices. *Trends Biotechnol.* 2015. **33**(10): 586.
11. Hu Y., Chen Z., Zhang H., Li M., Hou Z., Luo X., Xue X. Development of DNA tetrahedron-based drug delivery system. *Drug Delivery.* 2017. **24**(1): 1295.
12. Jiang Q., Liu S., Liu J., Wang Z.-G., Ding B. Rationally designed DNA-origami nanomaterials for drug delivery in vivo. *Adv. Mater.* 2019. **31**(45): e1804785.
13. Waring M.J. DNA Modification and Cancer. *Annu. Rev. Biochem.* 1981. **50**(1): 159.
14. Zhang Q., Jiang Q., Li N., Dai L., Liu Q., Song L., Wang J., Li Y., Tian J., Ding B., Du Y. DNA Origami as an In Vivo Drug Delivery Vehicle for Cancer Therapy. *ACS Nano.* 2014. **8**(7): 6633.
15. Hurley L.H. DNA and its associated processes as targets for cancer therapy. *Nat. Rev. Cancer.* 2002. **2**(3): 188.
16. Zhao Y.-X., Shaw A., Zeng X., Benson E., Nyström A.M., Högberg B. DNA Origami Delivery System for Cancer Therapy with Tunable Release Properties. *ACS Nano.* 2012. **6**(10): 8684.
17. Mukherjee A., Sasikala W.D. Drug-DNA intercalation: From discovery to the molecular mechanism. *Rev. Adv. Protein Chem. Struct. Biol.* 2013. **92**: 1–62.
18. Zhuang X., Ma X., Xue X., Jiang Q., Song L., Dai L., Zhang C., Jin S., Yang K., Ding B., Wang P.C., Liang X.-J. A Photosensitizer-Loaded DNA Origami Nanosystem for Photodynamic Therapy. *ACS Nano.* 2016. **10**(3): 3486.
19. Seeman N.C. Nucleic acid junctions and lattices. *J. Theor. Biol.* 1982. **99**(2): 237.
20. Dietz H., Douglas S.M., Shih W.M. Folding DNA into Twisted and Curved Nanoscale Shapes. *Science.* 2009. **325**(5941): 725.

21. Han D., Pal S., Nangreave J., Deng Z., Liu Y., Yan H. DNA Origami with Complex Curvatures in Three-Dimensional Space. *Science*. 2011. **332**(6027): 342.
22. Rothemund P.W.K. Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns. *Nature*. 2006. **440**(7082): 297.
23. Lee J., Mahendra S., Alvarez P.J.J. Nanomaterials in construction industry: A review of their applications and environmental health and safety considerations. *ACS Nano*. 2010. **4**(7): 3580.
24. Gagner J.E., Shrivastava S., Qian X., Dordick J.S., Siegel R.W. Engineering nanomaterials for biomedical applications requires understanding the nano-bio interface: A perspective. *J. Phys. Chem. Lett.* 2012. **3**(21): 3149.
25. Moghimi S.M., Hunter A.C., Murray J.C. Nanomedicine: Current status and future prospects. *FASEB J.* 2005. **19**(3): 311.
26. Moyano D.F., Rotello V.M. Nano meets biology. Structure and function of the nanoparticle interface. *Langmuir*. 2011. **27**(17): 10276.
27. Fishre J., Egerton T.A. Titanium Compounds. In: *Inorganic Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. (New York: Wiley-Interscience, 2001).
28. Ai J., Biazar E., Jafarpour M., Montazeri M., Majdi A., Aminifard S., Zafari M., Akbari H.R., Rad H.G. Nanotoxicology and nanoparticle safety in biomedical designs. *Int. J. Nanomed.* 2011. **6**: 1117.
29. Stark W.J. Nanoparticles in biological systems. *Ang. Chem. Int. Ed.* 2011. **50**(6): 1242.
30. Shemetov A.A., Nabiev I., Sukhanova A. Molecular interaction of proteins and peptides with nanoparticles. *ACS Nano*. 2012. **6**(6): 4585.
31. Sundgren J.-E., Bodö P., Lundström I. Auger electron spectroscopic studies of the interface between human tissue and implants of titanium and stainless steel. *J. Colloid Interface Sci.* 1986. **110**(1): 9.
32. Stoch A., Jastrzebski W., Brozek A., Stoch J., Szaraniec J., Trybalska B., Kmita G. FTIR absorption–reflection study of biomimetic growth of phosphates on titanium implants. *J. Mol. Struct.* 2000. **555**(1–3): 375.
33. Engholm-Keller K., Larsen M.R. Titanium dioxide as chemoaffinity chromatographic sorbent of biomolecular compounds— applications in acidic modification-specific proteomics. *J. Proteomics*. 2011. **75**(2): 317.
34. Lane A.N., Jenkins T.C. Thermodynamics of Nucleic Acids and Their Interactions with Ligands. *Rev. Biophys.* 2000. **33**(3): 255.
35. *Heterocyclic compounds* / Ed. Elderfield R. T. 4. (Moscow: Publishing House of Foreign Literature, 1955). [in Russian].
36. Lerman L.S. Structural consideration of the interaction of DNA and acridines. *J. Mol. Biol.* 1961. **3**(1): 18.
37. Lenglet G., David-Cordonnier M.-H. DNA-destabilizing agents as an alternative approach for targeting DNA: Mechanisms of action and cellular consequences. *J. Nucleic Acids*. 2010. **2010**: 1.
38. Koster D.A., Palle K., Bot E.S.M., Bjornsti M.-A., Dekker N.H. Antitumour drugs impede DNA uncoiling by topoisomerase I. *Nature*. 2007. **448**(7150): 213.
39. Biebricher A.S., Heller I., Roijmans R.F.H., Hoekstra T.P., Peterman E.J.G., Muite G.J.L. The impact of DNA intercalators on DNA and DNA-processing enzymes elucidated through force-dependent binding kinetics. *Nat. Commun.* 2015. **6**(7304): 1.
40. Tse W.C., Boger D.L. Sequence-selective DNA recognition: Natural products and nature's lessons. *Chem. Biol.* 2004. **11**(12): 1607.
41. Wang A.H., Ughetto G., Quigley G.J., Rich A. Interactions between an anthracycline antibiotic and DNA: molecular structure of daunomycin complexed to d(CpGpTpApCpG) at 1.2-Å resolution. *Biochemistry*. 1987. **26**(4): 1152.
42. Albert A. *Selective Toxicity*. (Moscow: Meditsina, 1989). [in Russian].
43. Dawson R.M.C, Elliot D.C, Elliot W.H, Jones K.M. *Data for Biochemical Research*. (Clarendon Press, Oxford, 1986).
44. Tuite E., Kelly J.M. The Interaction of Methylene Blue, Azure B, and Thionine with DNA: Formation of Complexes with Polynucleotides and Mononucleotides as Model Systems. *Biopolymers*. 1995. **35**: 419.
45. Aslanoglu M. Electrochemical and spectroscopic studies of the interaction of proflavine with DNA. *Anal. Sci.* 2006. **22**(3): 439.
46. Bereznyak E.G., Gladkovskaya N.A., Khrebtova A.S., Dukhopelnikov E.V., Zinchenko A.V. Peculiarities of DNA–Proflavine Binding under Different Concentration Ratios. *Biophysics*. 2009. **54**(5): 574.
47. Moroshkina E.B. Intercalation as a mode of biological active compound binding with double-stranded DNA. *Vestnik of Saint Petersburg University*. Ser 4. 2011. **4**: 114. [in Russian].
48. Wakelin L.P.G., Waring M.J. Kinetics of drug–DNA interaction. *J. Mol. Biol.* 1980. **144**(2): 183.
49. Muller W., Crothers D.M. Interactions of Heteroaromatic Compounds with Nucleic Acids. *Eur. J. Biochem.* 1975. **54**(1): 267.

50. Chernyshev D.N., Buchelnikov A.S., Mukhina Yu.V., Baranovsky S.F. Spectrophotometric analysis of the binding of aromatic biologically active compounds to DNA. *Visnyk of SevNTU: Series: Physics of biological systems and molecules*. 2011. **113**: 57. [in Russian].
51. Li W.-Y., X J.-G., Guo X.-Q., Zhu Q.-Z., Zhao Y.-B. Study on the interaction between rivanol and DNA and its application to DNA assay. *Spectrochim. Acta, Part A*. 1997. **53**: 781.
52. Haugen G.H., Melhuish W.H. Association and self-quenching of proflavine in water. *Trans. Faraday Soc.* 1964. **60**: 386.
53. Schulman S.G., Naik D.V., Capomacchia A.C., Roy T. Electronic Spectra and Electronic Structures of Some Antimicrobials Derived from Proflavine. *J. Pharm. Sci.* 1975. **64**(6): 982.
54. Bloomfield V.A., Crothers D.M., Tinoco I. *Physical chemistry of nucleic acids*. (New York: Harper and Row, 1974).
55. McGhee J.D., von Hippel P.N. Theoretical aspects of DNA-protein interactions: Cooperative and non-cooperative binding of large ligands to a one-dimensional homogeneous lattice. *J. Mol. Biol.* 1974. **86**(2): 469.
56. Georgiou S. Interaction of acridine drugs with DNA and nucleotides. *Photochem. Photobiol.* 1977. **26**(1): 59.
57. Sasikala W.D., Mukherjee A. Structure and dynamics of proflavine association around DNA. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2016. **18**(15): 10383.
58. Vlasova N.M., Markitan O.V. Surface complexation modeling of biomolecule adsorptions onto titania. *Colloids and Interfaces*. 2019. **3**(28): 1.
59. Vlasova N.M., Markitan O.V. Adsorption complexes of purine nucleotides on the surface of titanium dioxide. *Colloid. J.* 2019. **81**(1): 16. [in Russian].
60. Vlasova N.N., Markitan O.V. Adsorption of pyrimidine nucleotides on the surface of titanium dioxide. *Colloid. J.* 2018. **80**(4): 379. [in Russian].
61. Vlasova N.N., Golovkova L.P., Stukalina N.G. Adsorption complexes of diamino derivatives of acridine on the surface of silica. *Colloid. J.* 2012. **74**(1): 25. [in Russian].
62. Nafisi S., Saboury A.A., Keramat N., Neault J-F. Stability and structural features of DNA intercalation with ethidium bromide, acridine orange and methylene blue. *J. Mol. Struct.* 2007. **827**(1-3): 35.
63. Lee C. H., Chang C-T., Wetmur J.G. Induced Circular Dichroism of DNA-Dye Complexes. *Biopolymers*. 1973. **12**(5): 1099.
64. Strekowski L., Wilson B. Noncovalent interactions with DNA: An overview. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2007. **623**(1-2): 3.
65. Ihmels H., Otto D. Intercalation of Organic dye molecules into double-stranded DNA - General principles and recent developments. *Top. Curr. Chem.* 2005. **258**: 161.
66. Shaikh S.A., Ahmed S.R., Jayaram B. A molecular thermodynamic view of DNA-drug interactions: A case study of 25 minor-groove binders. *Arch. Biochem. Biophys.* 2004. **429**: 81.
67. Langmuir I. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. *J. Am. Chem. Soc.* 1916. **38**: 2221.
68. Freundlich H.M.F. Über die Adsorption in Lösungen. *Z. Phys. Chem.* 1906. **57**: 385.
69. Dubinin M.M., Radushkevich L.V. On the equation of the characteristic curve for active coals. *Proceedings of the USSR Academy of Sciences*. 1947. **55**: 331.
70. Hall K.R., Eagleton L.C., Acrivos A., Vermeulen T. Pore and solid diffusion kinetics in fixed-bed adsorption under constant pattern conditions. *Ind. Eng. Chem. Fundam.* 1966. **5**: 212.
71. Baranovskii S.F., Bolotin P.A., Evstigneev M.P., Chernyshev D.N. Complexation of heterocyclic ligands with DNA in aqueous solution. *J. Appl. Spectroscopy*. 2008. **75**(2): 251.

Надійшла 13.04.2023, прийнята 05.09.2023