

## 11 - Биофизика, медицинская физика

Жуковская Анастасия Алексеевна, магистрант 2 года обучения  
Томск, Томский государственный университет, физический

**Влияние скорости сдвига на характеристики начальных фаз свертывания нативной крови**

Демкин Владимир Петрович; Удут Владимир Васильевич, д.ф.-м.н.; д.м. н.

e-mail: [nastya120498z@mail.ru](mailto:nastya120498z@mail.ru) стр. 86

Колесник Ольга Владиславовна, аспирант 3 года обучения  
Красноярск, Красноярский научный центр ФИЦ СО РАН, Институт биофизики СО РАН

**Низкоинтенсивное воздействие Th-232 на биолюминесцентные клеточные системы. Роль активных форм кислорода**

Кудряшева Надежда Степановна, д.ф.-м.н.

e-mail: [OV.Kolesnik@yandex.ru](mailto:OV.Kolesnik@yandex.ru) стр. 87

Кудояров Данил Шамилевич, аспирант 1 года обучения  
Уфа, Башкирский государственный университет, Физико-технический институт

**Визуализация молекул олигонуклеотидов dT<sub>12</sub> и измерение их вольтамперных характеристик**

Шарипов Талгат Ишмухамедович, к.ф.-м.н.

e-mail: [danilkud@mail.ru](mailto:danilkud@mail.ru) стр. 88

Лысенко Виктория Юрьевна, магистрант 1 года обучения  
Ростов-на-Дону, Южный федеральный университет, физический

**Локальное окружение ионов цинка в слоях арахидоновой кислоты: рентгеноспектральная диагностика**

Яловега Галина Эдуардовна, д.ф.-м.н.

e-mail: [viktoriya.250699@mail.ru](mailto:viktoriya.250699@mail.ru) стр. 90

Пронина Екатерина Вячеславовна, аспирант 2 года обучения  
Ростов-на-Дону, Южный федеральный университет, физический

**Исследование дополнительных центров связывания ионов цинка в гемоглобине: рентгеновская спектроскопия поглощения**

Яловега Галина Эдуардовна, д.ф.-м.н.

e-mail: [ev\\_pronina\\_105@mail.ru](mailto:ev_pronina_105@mail.ru) стр. 91

Сушко Екатерина Сергеевна, аспирант 4 года обучения  
Красноярск, Красноярский научный центр ФИЦ СО РАН

**Токсичность и антиоксидантная активность эндоэдрального Gd-содержащего фуллеренола. Роль активных форм кислорода в клеточных и ферментативных процессах**

Кудряшева Надежда Степановна, д.ф.-м.н.

e-mail: [kkovel@yandex.ru](mailto:kkovel@yandex.ru) стр. 93

Шупова Елизавета Витальевна, аспирант 1 года обучения  
Севастополь, Севастопольский государственный университет, радиоэлектроники и информационной безопасности

**Исследование комплексообразования (4-(4-(диметиламино)стирил)-6-метил)-пиримидинил-2-тиоцианата с кофеином методом УФ/видимой спектроскопии**

Бучельников Анатолий Сергеевич, к.ф.-м.н.

e-mail: [liza.shupova@mail.ru](mailto:liza.shupova@mail.ru) стр. 94

## Влияние скорости сдвига на характеристики начальных фаз свертывания нативной крови

*Жуковская Анастасия Алексеевна*

*Национальный исследовательский Томский государственный университет*

*Демкин Владимир Петрович, д.ф.-м.н.*

*Удуг Владимир Васильевич, д.м.н.*

*[nastya120498z@mail.ru](mailto:nastya120498z@mail.ru)*

Коагуляция крови является крайне сложным и еще не до конца изученным биохимическим процессом. Он активизируется при повреждении стенки кровеносного сосуда и ведет к превращению плазмы крови в фибриновый сгусток, останавливающий кровотечение. Изучение реологического поведения крови очень важно для понимания кровотока, что помогает выявлять и, следовательно, лечить сердечно-сосудистые заболевания и их осложнения.

Нативная кровь хорошо описывается в рамках реологической модели как жидкость, обладающая вязкоупругими свойствами. Основным реологическим уравнением для таких жидкостей является  $\tau = \eta \dot{\gamma}$ , где  $\tau$  – тензор касательных напряжений;  $\dot{\gamma}$  – скорость сдвиговой деформации;  $\eta$  – динамическая вязкость. При низких скоростях сдвига  $\dot{\gamma}$  пространственная структура основных форменных элементов – эритроцитов не разрушается и обуславливает пороговое поведение сдвиговой деформации, при которой проявляются упругие свойства крови. При высоких скоростях  $\dot{\gamma} > 200 \text{ с}^{-1}$  пространственная структура эритроцитов разрушается, что вызывает эффект сдвигового разжижения крови и уменьшение вязкости [1].

Одним из методов лабораторной диагностики системы гемостаза является метод низкочастотной пьезотромбоэластографии (НПТЭГ), который регистрирует изменение сопротивления исследуемой жидкости резонансным колебаниям иглы-резонатора пьезоэлектрического датчика. Благодаря высокой чувствительности метода можно визуализировать информацию на всех звеньях коагуляции крови: от инициации до формирования фибринового сгустка, что обеспечивает широкое применение данного метода.

Неньютоновское поведение крови в реальных потоках сильно отличается от соответствующего поведения в установившемся потоке. Поэтому при моделировании гемодинамики, необходимо выбирать реологическую модель, максимально соответствующую реальным клиническим условиям.

Существенная зависимость динамической вязкости от биохимического состава крови и внешних факторов окружающей среды обуславливает принципиальные различия в характере течения крови и, соответственно, порождает разнообразие реологических моделей крови.

Данная работа посвящена изучению двух реологических моделей: модель Quemada и модель Walburn-Schneck [2] и их последующему сравнению с экспериментом.

Первая модель учитывает влияние гематокрита  $Ht$  на вязкость крови. Следуя работе [2], динамическая вязкость крови определяется формулой (1):

$$\eta(\dot{\gamma}) = \eta_p \left( 1 - \frac{1}{2} \frac{k_0 + k_\infty \sqrt{\frac{\dot{\gamma}}{\gamma_c}}}{1 + \sqrt{\frac{\dot{\gamma}}{\gamma_c}}} Ht \right)^{-2}, \quad (1)$$

где  $\eta_p = 1,2 \cdot 10^{-3} \text{ Па} \cdot \text{с}$ ;  $k_\infty = 2,07$ ;  $k_0 = 4,33$ ;  $\gamma_c = 1,88 \text{ с}^{-1}$ .

Вторая модель - Walburn-Schneck, отражает статистическую корреляцию между двумя наиболее значимыми внутренними параметрами крови (гематокрит и концентрация белков в плазме). Динамическая вязкость крови определяется формулой:

$$\eta(\dot{\gamma}) = C_1 * e^{C_2 * Ht} * e^{\frac{C_4 * TPMA}{Ht^2}} * \dot{\gamma}^{-C_3 * Ht} \quad (2)$$

где  $C_1 = 0,797 \text{ мПас}$ ,  $C_2 = 0,0608$ ,  $C_3 = 0,00499$ ,  $C_4 = 14,585 \text{ л/г}$ ,  $TPMA = 25 \text{ г/л}$  - (концентрация белков крови без альбумина).

На рис. 1 приведены результаты расчетов  $\eta(\dot{\gamma})$  по формулам (1-2) и сравнение их с измеренной в работе [3] вязкостью. Экспериментальные значения  $\eta(\dot{\gamma})$  соответствуют группе клинически здоровых людей в возрасте от 54 до 59 лет без сердечно-сосудистой патологии, не имевших в течение 3-х месяцев клинических и лабораторных признаков острых или обострения хронических заболеваний. Гематокрит считается равным 45 % для всех трех случаев.

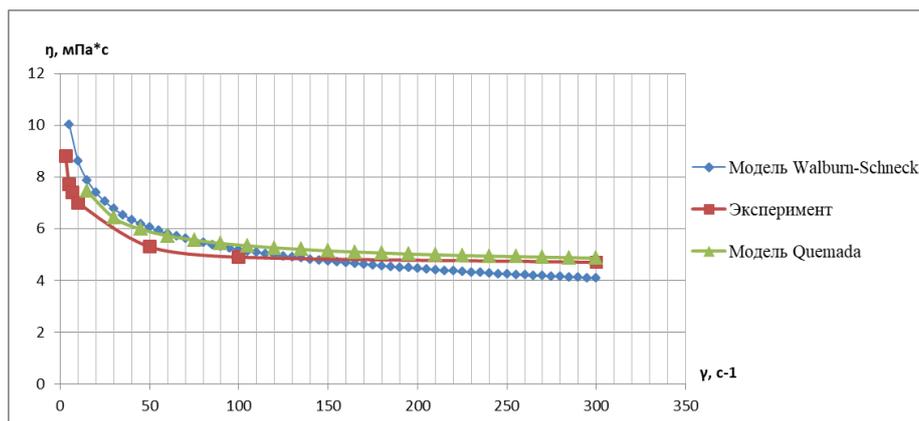


рис. 1 Сравнение моделей Walburn-Schneck и Quemada с экспериментом

Из рисунка видно, что модель Quemada (1) дает лучшее согласие с экспериментом, чем модель Walburn-Schneck (2). Вероятно, это связано с тем, что в модели (2) не учитываются альбумины, концентрация которых сравнима с концентрацией глобулинов, но их вклад в изменение вязкости противоположен вкладу глобулинов. Хорошо известно, что плазменные факторы вносят существенный вклад в вязкость крови при малых скоростях сдвига. Поэтому в области малых скоростей сдвига наблюдается значительное расхождение модели (1), чем модели (2), с экспериментом. В области больших значений скоростей сдвига также модель (1) дает лучшее согласие с экспериментом.

Список публикаций:

- [1] Демкин В.П., Мельничук С.В., Удут В.В., Тютрин И.И., Руденко Т.В., Креницына Д.Б.// Известия высших учебных заведений. Физика. 2019. Т. 62, №12. – С.55–62.  
 [2] Zineb Mimouni. The Rheological Behavior of Human Blood-Comparison of Two Models //Open Journal of Biophysics, 2016, 6, 29-33.  
 [3] Ажермачева М.Н. Нарушение реологических свойств крови при острых и хронических ишемических нарушениях мозгового кровообращения// Journal of Siberian Medical Sciences, 2014, URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/narushenie-reologicheskikh-svoystv-krovi-pri-ostryh-i-hronicheskikh-ishemicheskikh-narusheniyah-mozgovogo-krovoobrascheniya>.

## Низкоинтенсивное воздействие Th-232 на биолюминесцентные клеточные системы. Роль активных форм кислорода

**Колесник Ольга Владиславовна**

*Рожко Татьяна Владимировна, Лапина Мария Александровна, Соловьёв Владислав Сергеевич,*

*Сачкова Анна Сергеевна, Кудряшева Надежда Степановна*

*Институт биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН*

*Кудряшева Надежда Степановна, д.ф.-м.н.*

*[OV.Kolesnik@yandex.ru](mailto:OV.Kolesnik@yandex.ru)*

Морские люминесцентные бактерии являются удобным биотестовым объектом и широко используются в качестве биотеста для мониторинга токсичности окружающей среды. Физиологическая активность бактерий оценивается по интенсивности их свечения. Высокая скорость регистрации интенсивности люминесценции с помощью современных люминометров (1-3 минуты) и простота тестируемого организма позволяют одновременно проводить большое количество измерений, что обеспечивает достоверность статистической обработки результатов. Морские бактерии можно рассматривать как простые одноклеточные модели живых объектов и использовать для прогнозирования результатов радиационного воздействия на более сложные многоклеточные организмы.

В ходе жизнедеятельности бактерий продуцируются активные формы кислорода (АФК), которые являются естественными побочными продуктами метаболических окислительных процессов и играют важную роль в поддержании гомеостаза и в передаче клеточных сигналов (внутриклеточные мессенджеры). Различные воздействия на бактериальную культуру, включая радиоактивное ионизирующее излучение, способны изменять производство АФК. Ранее было продемонстрировано, что АФК участвуют в активации физиологических функций люминесцентных бактерий под действием бета-излучающего радионуклида трития. Особый интерес представляет вопрос: отвечают ли АФК за биоэффекты других радионуклидов с другими характеристиками радиоактивного распада?

Целью работы было изучение низкоинтенсивного воздействия тория-232 на люминесценцию морских бактерий *Photobacterium phosphoreum* и выявление роли АФК в протекающих процессах. Молекулярные механизмы биологических откликов на низкоинтенсивные воздействия тория представляют практический интерес, т.к. они позволяют прогнозировать реакцию живых организмов на низкодозовую радиацию на больших территориях в таких ситуациях, как аварии на атомных станциях, при добыче полезных ископаемых, нефти и др.

Торий – один из самых распространённых радиоактивных элементов в природных экосистемах. Его наиболее долгоживущий изотоп –  $^{232}\text{Th}$  характеризуется периодом полураспада  $14 \cdot 10^9$  лет, что приблизительно в три раза превышает возраст Земли (поэтому практически весь природный торий представлен исключительно этим нуклидом). В окружающей среде торий содержится в угле, который используется в качестве топлива для ТЭЦ. Наряду с ураном, торий считается наиболее важным источником ядерной энергии, и в настоящее время ему уделяется внимание ввиду возможности его применения в качестве более чистого, безопасного и более распространённого ядерного топлива. Кроме того, торий используется для производства керамики, сварочных электродов, объективов для фотоаппаратов и телескопов, огнеупорного кирпича, термостойких красок и материалов для аэрокосмической промышленности. Несмотря на распространённость данного элемента, в настоящее время влияние радиоактивного тория на живые организмы изучено недостаточно. В качестве объекта исследования были использованы интактные бактерии *Photobacterium phosphoreum*. Источником облучения служил азотнокислый Th-232 ( $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ); доза облучения бактериальной культуры не превышала 0,1 Гр, что не превышает условную границу низких доз. Была изучена кинетика люминесценции бактерий в растворах с различной концентрацией Th-232 ( $10^{-11}$  –  $10^{-3}$  М), одновременно определялось содержание АФК с помощью хемилюминесцентного люминольного метода. Измерения интенсивности биолюминесценции и хемилюминесценции проводили с помощью планшетного люциметра Luminoskan Ascent (Thermal Fisher Corp.). Все измерения проводились при  $+20$  °С.

Было обнаружено, что Th-232 умеренно активирует клеточные процессы при низкодозовом воздействии ( $<0,1$  Гр). Была выявлена отрицательная корреляция между интенсивностью биолюминесценции бактерий и содержанием АФК ( $r = -0,60$ ,  $p < 0,05$ ) в диапазоне низких концентраций тория ( $10^{-11}$ – $10^{-6}$  М). Можно сделать вывод, что активация бактериальной биолюминесценции связана с усилением окислительно-восстановительных процессов в водных средах и потреблением бактериями АФК.

Полученные результаты способствуют пониманию молекулярного механизма «гормезисных» ответов клеток на низкоинтенсивные радиоактивные воздействия. В данном исследовании Th-232 использовался как представитель группы альфа-излучающих радионуклидов. Результаты выявляют особенности механизма воздействия низкоинтенсивного радиоактивного облучения на живые организмы и способствуют дальнейшей адаптации биолюминесцентных методов к целям радиэкологического мониторинга.

## Визуализация молекул олигонуклеотидов $dT_{12}$ и измерение их вольтамперных характеристик

<sup>1</sup>Кудояров Данил Шамилевич

<sup>1</sup>Шарипов Талгат Ишмухамедович

<sup>2</sup>Алибай Темирулан Талгатулы

<sup>1</sup>Башкирский государственный университет

<sup>2</sup>Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева

Шарипов Талгат Ишмухамедович, к.ф.-м.н.

[danilkud@mail.ru](mailto:danilkud@mail.ru)

Цель исследования состояла в визуализации и определении проводимости олигонуклеотидов, которые состоят только из одного вида нуклеотидов: тимина ( $dT_{12}$ ). Для визуализации олигонуклеотидов использовали атомно-силовой микроскоп (АСМ), для определения вольтамперных характеристик применяли сканирующий туннельный микроскоп (СТМ).

Олигонуклеотиды - это короткие синтетические одноцепочечные участки ДНК в среднем от 15 до 50 нуклеиновых оснований. Их получают как путём химического синтеза, так и расщеплением более длинных полинуклеотидов.

Для исследования были использованы олигонуклеотиды с повторяющейся последовательностью, состоящие из 12 одинаковых звеньев тимина. Образцы хранились в морозильной камере для сохранности. Перед исследованием образцы размораживали в течении 1-2 часов.

Раствор олигонуклеотидов в концентрации 1 нг/мкл нагревали до 85 градусов, для этого эппендорф с раствором держали в горячей воде в течении 6 минут. Эту процедуру проводили для разворачивания молекул, так как они находятся в состоянии глобул. Для визуализации олигонуклеотидов и оценки их осаждаемости на поверхность подложки использовали АСМ.

В исследованиях в качестве подложек применяли серебро, термически напыленное в вакууме на поверхность слюды. На подложку наносили каплю олигонуклеотидов объемом 5 мкл. После чего, ждали полного высыхания капли на подложке. Высыхание занимало примерно 60 минут.

Сначала в режиме прерывистого контакта получали АСМ-изображение олигонуклеотидов на подложке (рис. 1). Далее проводили анализ полученного АСМ-изображения для того, чтобы оценить как олигонуклеотиды располагались на подложке. Нам нужно было добиться наименьшего слипания молекул.

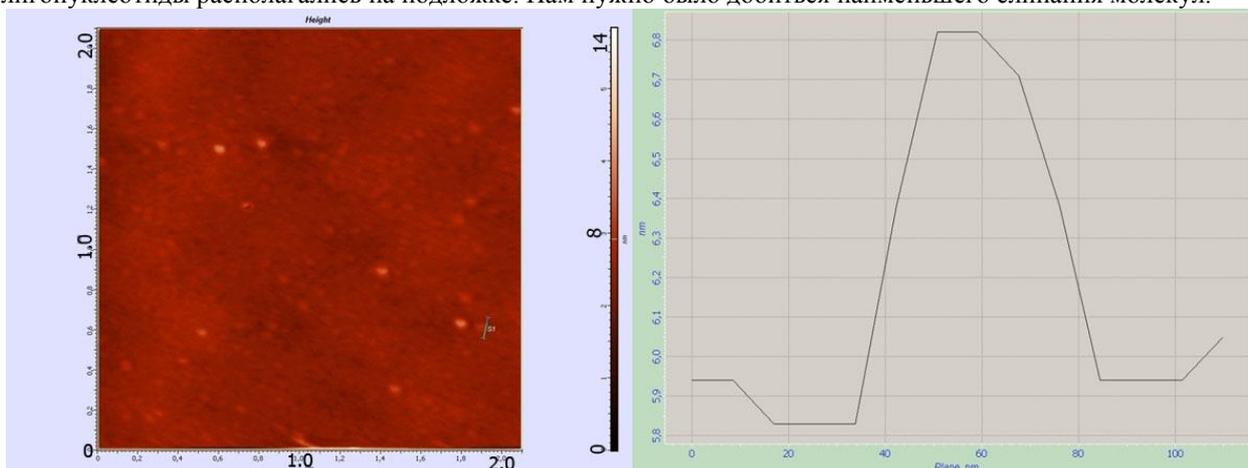


рис.1. АСМ-изображение (слева) олигонуклеотидов  $dT_{12}$ , осажденных на серебряную подложку, и профиль сечения, проведенного по одной из молекул.

Затем этот же образец исследовали методом СТМ, используя режим туннельной спектроскопии, измеряли вольтамперные характеристики олигонуклеотидов. Сначала получили СТМ-изображение поверхности подложки с напыленной на нее пленкой серебра и измерили её вольтамперную характеристику. После чего были исследованы олигонуклеотиды и получены их ВАХ (рис 2).

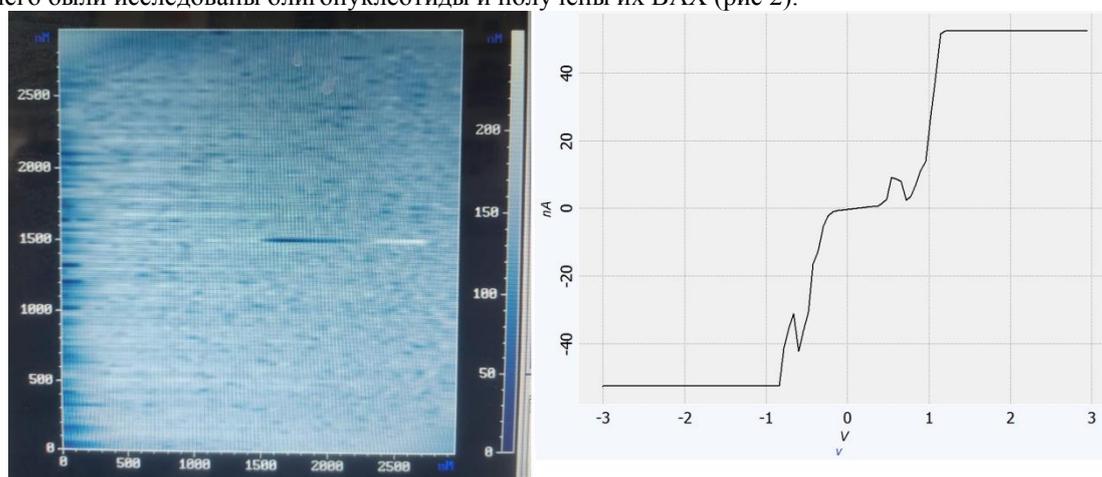


рис.2. СТМ-изображение (слева) олигонуклеотидов  $dT_{12}$ , осажденных на серебряную подложку, и ВАХ (справа)

Можно сказать, что проводимость исследуемых олигонуклеотидов ниже, чем проводимость серебрянного напыления. Полученные данные в будущем могут быть использованы для сравнительного анализа проводимости других нуклеотидов.

Список публикаций:

- [1] Шарипов Т.И., Гарафутдинов Р.Р., Бахтизин Р.З. Исследование одноцепочечных ДНК с повторяющейся нуклеотидной последовательностью методами сканирующей зондовой микроскопии. // Известия Российской академии наук. Серия физическая. 2020. Том 84. № 5. С. 675-678.
- [2] Быков В.А., Лазарев М.И., Саунин С.А. Сканирующая зондовая микроскопия для науки и промышленности. // Электроника: наука, технология, бизнес. – 2008. – № 5. – С. 7 – 14.

## Локальное окружение ионов цинка в слоях арахидиновой кислоты: рентгеноспектральная диагностика

Лысенко Виктория Юрьевна

Кременная Мария Андреевна, Недоедкова Ольга Владимовна

Южный федеральный университет

Яловега Галина Эдуардовна, д.ф.-м.н.

[viktoriya.250699@mail.ru](mailto:viktoriya.250699@mail.ru)

Биомембраны выполняют как барьерную, так и транспортную функции для взаимодействия клетки с внешней средой, а также являются средой протекания множества биохимических процессов. Взаимодействие ионов металлов с клеточной мембраной имеет большое значение для многих процессов, протекающих в организме человека. Жизненно важные клеточные процессы зависят от контролируемого транспорта ионов металлов через липидные слои, входящие в состав биомембран. Арахидиновая кислота является адекватной моделью липидного слоя биомембраны. Изучение взаимодействия ионов цинка со слоем арахидиновой кислоты позволяет исследовать механизмы транспорта ионов цинка через биомембрану. Одним из лучших методов, исследующих механизмы взаимодействия липид-металл, является метод рентгеновской спектроскопии поглощения в режиме выхода флуоресценции в условиях полного внешнего отражения. Данный метод применяется в том числе для изучения локальной атомной и электронной структуры ионов металлов при их взаимодействии с липидным слоем на поверхности жидкости в режиме реального времени.

Проведен анализ экспериментальных спектров рентгеновского поглощения для К-краев цинка в липидных слоях арахидиновой кислоты на поверхности жидкости во флуоресцентной моде в условиях полного внешнего отражения полученных в работе [1]. Анализ проводился по методу «отпечатка пальца». Метод состоит в сопоставлении экспериментальных спектров исследуемых соединений с экспериментальными спектрами известных соединений, что позволяет с определенной точностью определить локальную структуру вокруг исследуемого элемента.

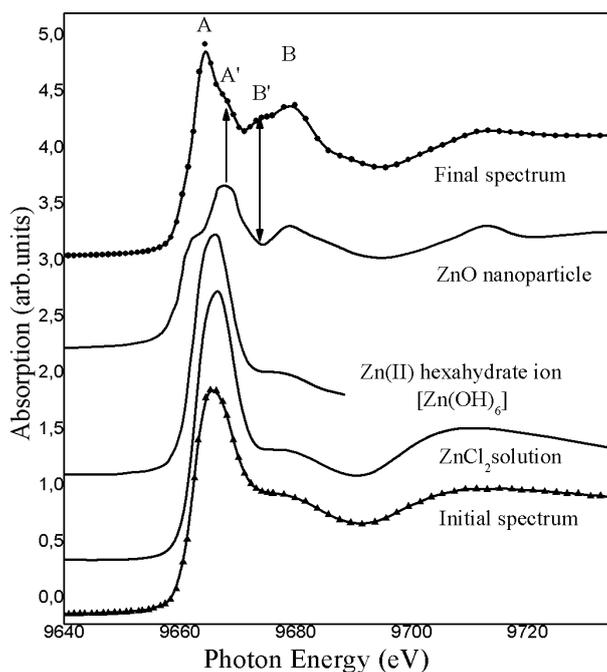


рис. 1. Сравнение экспериментальных начального и конечного спектра XANES для К-края цинка водного раствора  $ZnCl_2$  в липидном слое арахидиновой кислоты с экспериментальными спектрами взятыми из литературы: спектр для раствора  $ZnCl_2$  [2], гексагидрат иона  $Zn(II)$   $Zn(OH)_6$  [3] и наночастиц  $ZnO$  [4] (кривые нормированы на главный максимум и смещены по вертикали).

Результаты проведенного анализа показали, что изменения в экспериментальных спектрах являются результатом изменения локального окружения ионов цинка в процессе эксперимента по сравнению с его окружением в  $ZnCl_2$ . На начальном этапе измерений ионы цинка окружены молекулами воды. Дальнейший процесс взаимодействия монослоя арахидиновой кислоты и раствора  $ZnCl_2$  не приводит к образованию наночастиц оксида цинка под слоем арахидиновой кислоты, как это наблюдалось для случая солей никеля [5]. Предполагается, что наблюдаемые изменения связаны с взаимодействием полярных групп молекул арахидиновой кислоты с ионами цинка из водного раствора.

Авторы выражают благодарность Гранту Президента МК-2767.2021.1.2 за финансовую поддержку исследования.

Список публикаций:

- [1] Kremennaya M. A., Lysenko V. Yu., Novikova N. N., Yakunin S. N., Rogachev A. V., Yalovega G. E. // *Journal of Physics: Conference Series*: 2021. №2103, С. 012171.
- [2] Novikova N. N., Kovalchuk M. V., Yurieva E. A., Kononov O. V., Stepina N. D., Rogachev A. V., Yalovega G. E., Kosmachevskaya O. V., Topunov A. F., Yakunin S. N. // *Journal of Physical Chemistry B*. 2019 Vol. 123 pp 8370–8377.
- [3] Takahashi M., Tanida H., Kawachi S., Harada M., Watanabe I. // *Journal of Synchrotron Radiation*: 1999 Vol. 6 pp 278-280
- [4] Daley T., Raj E., Ramos S., Cibir G., Dent A., Hyde T. I., Sankar G. // *Journal of Physics*: 2013 №430 012080
- [5] Chumakov A., Al-Alwani A. J., Ermakov A., Shinkarenko O., Begletsova N., Glukhovskoy E., Santer S. // *Journal of Physics*: 20018 №1124 081009

## **Исследование дополнительных центров связывания ионов цинка в гемоглобине: рентгеновская спектроскопия поглощения**

**Пронина Екатерина Вячеславовна**

*Кременная Мария Андреевна, Лысенко Виктория Юрьевна*

*Южный федеральный университет*

*Яловега Галина Эдуардовна, д.ф.-м.н.*

*[ev\\_pronina\\_105@mail.ru](mailto:ev_pronina_105@mail.ru)*

Для выявления молекулярных механизмов изменения способности белковых молекул связывать металлы в условиях, моделирующих эндогенную интоксикацию в организме определение координационного окружения металлов проводилось с помощью спектроскопии XANES.

Белковые структуры выполняют витально важные функции в живых организмах, в частности, в организме человека. Они обладают способностью к транспортировке газов и микроэлементов, участвуют в катализе и могут отвечать за патогенез различных заболеваний. Под действием неблагоприятных экзогенных и эндогенных факторов - повышенного радиационного фона, экологических загрязнений, окислительного и термического стресса наблюдается прогрессирующее аномальное накопление ионов металлов на биоорганических макромолекулах. Экзогенная и эндогенная интоксикации, являются важным фактором, оказывающим значительное влияние на структурные и функциональные свойства белков в организме и, как правило, на взаимодействие белка с металлом. Много усилий направлено на выяснение механизмов, с помощью которых различные токсиканты модифицируют структуру белка.

Известно, что нарушение пространственной структуры белка может приводить к образованию нефункциональных структур или белков со сниженной активностью при формации комплексов с переходными металлами [1], [2]. Одной из самых значимых белковых структур для жизнедеятельности человека является гемоглобин. Как известно, в активном центре гемоглобина располагаются ионы железа, которые отвечают за транспорт кислорода в организме. Однако под воздействием неблагоприятных экзогенных и эндогенных факторов в гемоглобине могут возникать дополнительные центры связывания, которые могут связывать такие нетипичные для гемоглобина ионы как цинк.

С помощью спектроскопии XANES нами были исследованы возможные структурные модели центров связывания гемоглобина с ионами цинка: модель замещения иона железа на ион цинка и модель связывания цинка с гистидином (Рис. 1). Для данных моделей были рассчитаны теоретические спектры рентгеновского поглощения для К-края цинка (Рис. 2) и сопоставлены с экспериментальным спектром из работы [3].

Как показало сопоставление экспериментального и теоретических спектров поглощения, спектры рентгеновского поглощения чувствительны к изменениям локальной структуры цинка в белках, а связывание ионов цинка в молекуле гемоглобина через гистидин более вероятно, чем замещение иона железа на ион цинка в плоскости порфирина.

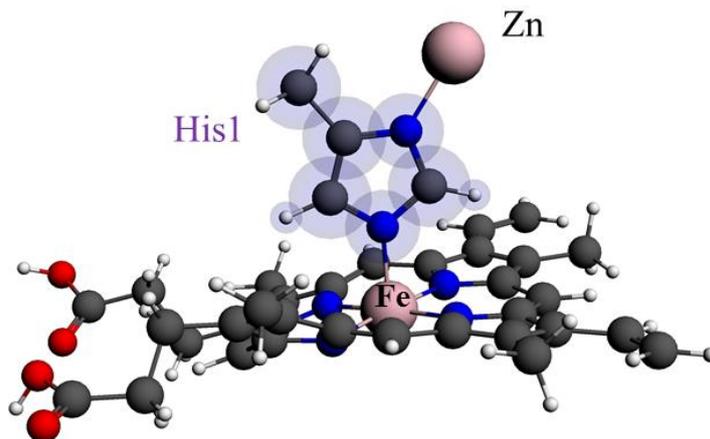


рис.1– Модель присоединения цинка на гистидин, центральный атом в плоскости порфирина – железо.

Проанализированные данные позволяют утверждать, что методом рентгеновского поглощения при использовании моделирования и теоретических расчетов спектров возможно определить локализацию присоединенного атома цинка, которая с наибольшей вероятностью располагается вблизи аминокислоты гистидин.

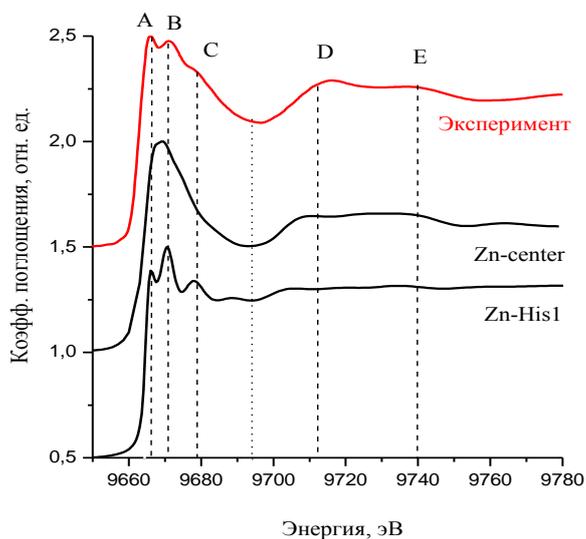


рис.2 - Сравнение экспериментального спектра рентгеновского поглощения для K-края Zn в гемоглобине [3] с теоретическими спектрами для структурных моделей центров связывания ионов цинка в гемоглобине.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента МК-2767.2021.1.2.

Список публикаций:

1. Gomes, Cláudio M. (2019). *Biophysical and Spectroscopic Methods for Monitoring Protein Misfolding and Amyloid Aggregation* // [Methods in Molecular Biology, Protein Misfolding Diseases Volume 1873 (Methods and Protocols), 10.1007/978-1-4939-8820-4(Chapter 1), 3–18.
2. Reeg, Sandra; Grune, Tilman, *Protein Oxidation in Aging: Does It Play a Role in Aging Progression?* // *Antioxidants & Redox Signaling*, 2015, 23(3), 239–255.
3. Н. Н. Новикова, С. Н. Якунин, М. В. Ковальчук, Э. А. Юрьева, Н. Д. Степина, А. В. Рогачев, М. А. Кремённая, Г. Э. Яловега, О. В. Космачевская, А. Ф. Топунов *Возможности рентгеновской абсорбционной спектроскопии в геометрии полного внешнего отражения для исследования белковых пленок на жидкости*//*Кристаллография*. 2019. Т.64, №6, с.931-937

# Токсичность и антиоксидантная активность эндоэдрального Gd-содержащего фуллеренола. Роль активных форм кислорода в клеточных и ферментативных процессах

Сушко Екатерина Сергеевна

Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук

Кудряшева Надежда Степановна, д.ф.-м.н.

[kkovel@yandex.ru](mailto:kkovel@yandex.ru)

Фуллеренолы (углеродные водорастворимые биологически активные наночастицы, полигидроксилированные производные фуллеренов) являются перспективными агентами для разработки лекарственных препаратов. Фуллеренолы, содержащие гадолиний, могут быть перспективными кандидатами для использования в качестве новых контрастных агентов для магнитно-резонансной томографии (МРТ). Наиболее широко используемыми Gd-содержащими соединениями являются гадолиамид, гадопентетат dimeглюмин, гадотерат меглюмин и др. [1-2]; однако есть опасения, что эти вещества могут быть токсичными [2]. Производные металлофуллерена удерживают токсичные ионы  $Gd^{3+}$  в инертной, но прочной углеродной оболочке, предотвращая их высвобождение.

В работе проведен анализ токсичности и антиоксидантной активности эндоэдрального Gd-содержащего фуллеренола с 40-42 кислородсодержащих группами (Gd@F). Для мониторинга токсичности и антиоксидантной активности Gd@F в модельных растворах использовали люминесцентные клеточные и ферментативные биотесты (светящиеся морские бактерии и их ферментативные реакции, соответственно), где главный тестируемый параметр физиологической активности – интенсивность биолюминесценции. Для характеристики токсичности Gd@F определяли эффективные концентрации, ингибирующие биолюминесценцию тестовых систем на 50%. Антиоксидантную активность Gd@F изучали в растворах модельных окислителей (1,4-бензохинона и  $K_3[Fe(CN)_6]$ ); по уменьшению общей и окислительной токсичности растворов рассчитывали коэффициенты детоксикации. Содержание активных форм кислорода (АФК) оценивали в экспериментальных растворах, определяли корреляции с токсичными/антиоксидантными характеристиками.

Gd@F ингибировал биолюминесценцию биотестовых систем при высоких концентрациях ( $>2 \cdot 10^{-1}$  г/л), проявляя меньшую токсичность по сравнению с ранее изученными фуллеренолами [3]. Эффективная активация бактериальной биолюминесценции (до 100%) наблюдалась при воздействии низкой концентрации Gd@F ( $10^{-3}$  г/л –  $2 \cdot 10^{-1}$  г/л). Была изучена антиоксидантная способность фуллеренола Gd@F. Особые биоэффекты Gd@F (низкая токсичность, активация биолюминесценции бактерий низкими концентрациями, эффективная антиоксидантная способность) были объяснены гидрофобными взаимодействиями, сродством к электрону и нарушением баланса АФК в биолюминесцентных системах.

В работе продемонстрирован высокий потенциал люминесцентных биотестов для сравнения токсичности и антиоксидантной активности углеродных наноструктур.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, Правительства Красноярского края и Красноярского краевого фонда науки в рамках научных проектов № 18-29-19003; №20-44-243001.

Список публикаций:

- [1] Maravilla K. R., San-Juan D., Kim S. J., Elizondo-Riojas G., Fink J. R., Escobar W., Bag A., Roberts D. R., Hao J., Pitrou C., Tsiouris A. J., Herskovits E., Fiebach J. B. // *American Journal of Neuroradiology*. 2017. V38. №9. p.1681–1688.
- [2] Ersoy H., Rybicki F. J. // *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2007. V26. №5. p.1190–1197.
- [3] Kovel E. S., Sachkova A. S., Vnukova N. G., Churilov G. N., Knyazeva E. M., Kudryasheva N. S. // *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. V20. №9. 2324.

# Исследование комплексообразования (4-(4-(диметиламино)стирил)-6-метил)-пиримидинил-2-тиоцианата с кофеином методом УФ/видимой спектроскопии

Шупова Елизавета Витальевна

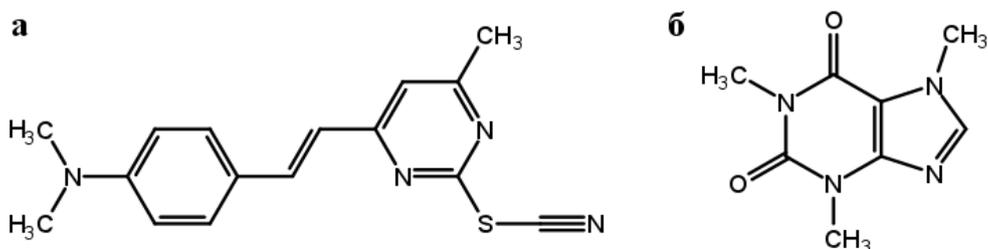
Папонов Борис Владимирович

Севастопольский государственный университет

Бучельников Анатолий Сергеевич, к.ф.-м.н.

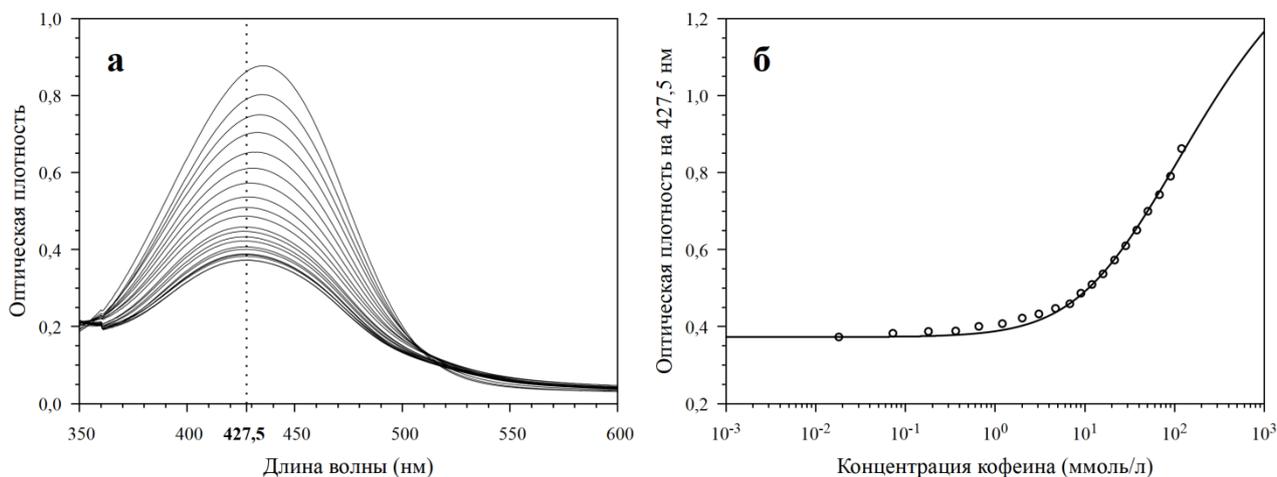
[liza.shupova@yandex.ru](mailto:liza.shupova@yandex.ru)

С целью поиска новых соединений, активных в отношении грибов, бактерий, в также, возможно, злокачественных новообразований, нами был синтезирован (4-(4-(диметиламино)стирил)-6-метил)-пиримидинил-2-тиоцианат **1**, структурная формула которого изображена на *рис.1а*. Существуют основания полагать, что соединение **1** обладает высокой аффинностью к нуклеиновым кислотам, в частности, к ДНК, что может обуславливать его биологический эффект (ДНК-тропность). Поскольку молекула ДНК состоит из двух видов азотистых оснований, пиримидиновых и пуриновых, имеет смысл в качестве пилотного эксперимента провести оценку взаимодействия соединения **1** с веществом, структурно схожим с основаниями ДНК. Таким веществом является, например, производное пурина кофеин (1,3,7-триметилксантин; *рис.1б*). Таким образом, целью настоящей работы явилось исследование комплексообразования соединения **1** с кофеином, состоящее из двух частей: качественного подтверждения образования межмолекулярных комплексов и количественной характеристики данного процесса, выражающейся в нахождении равновесной константы связывания.



*рис.1. Структуры (4-(4-(диметиламино)стирил)-6-метил)-пиримидинил-2-тиоцианата 1 (а) и кофеина (б)*

Соединение **1** представляет собой порошок ярко-желтого цвета, дающий в воде раствор желтого цвета. Раствор кофеина является бесцветным. В связи с этим в качестве экспериментального метода определения комплексообразования этих двух веществ был выбран метод спектрофотометрического титрования, в котором концентрация соединения **1** поддерживалась постоянной ( $8,0 \cdot 10^{-5}$  моль/л), а концентрация кофеина изменялась от  $1,2 \cdot 10^{-1}$  моль/л до нуля. Титрование проводилось в полистироловых кюветах с длиной оптического пути 1 см в диапазоне длин волн 350-800 нм с шагом 0,5 нм. Регистрация спектров поглощения осуществлялась с помощью двухлучевого спектрофотометра Lambda 365 (Perkin Elmer, США). Результатом эксперимента титрованием явился набор спектров поглощения (*рис.2а*) соединения **1** при различных концентрациях кофеина.



*рис.1. Спектры поглощения соединения 1 в присутствии различных концентраций кофеина (а) и соответствующая им кривая титрования (б)*

Очевидно, полоса поглощения соединения **1** по мере добавления кофеина испытывает одновременно bathochromное (на 7,5 нм) и гиперхромное смещение, что является характерным признаком образования межмолекулярных комплексов [1]. На *рис.2б* изображена кривая титрования, т.е. зависимость оптической

плотности смеси на длине волны, соответствующей максимуму поглощения соединения **1** (427,5 нм), от концентрации кофеина.

Количественная оценка комплексообразования проводилась с помощью модели 1:2 гетероассоциации [2], согласно которой соединение **1** способно образовывать комплексы с кофеином, а кофеин также может образовывать гомодимеры. Закон сохранения массы в рамках такой модели задается системой уравнений:

$$\begin{cases} x_0 = x_1 + K_h x_1 y_1 \\ y_0 = y_1 + 2K_y y_1^2 + K_h x_1 y_1 \end{cases}, \quad (1)$$

где  $x_0, y_0$  — общие концентрации соединения **1** и кофеина,  $x_1, y_1$  — мономерные концентрации соединения **1** и кофеина соответственно,  $K_y$  — равновесная константа димеризации кофеина (равна 12,2 л/моль [2]),  $K_h$  — равновесная константа комплексообразования. Искомая константа  $K_h$  находится путем минимизации квадратичного отклонения экспериментальных точек кривой титрования от теоретических значений поглощения

$$A(y_0) = \varepsilon_m x_1 + \varepsilon_h K_h x_1 y_1, \quad (2)$$

где  $\varepsilon_m, \varepsilon_h$  — коэффициент молярного поглощения соединения **1** в свободной и связанной с кофеином форме. Коэффициент  $\varepsilon_m$  рассчитывается как  $A(0) / x_0$ ,  $\varepsilon_h$  является подгоночным параметром наряду с константой  $K_h$ .

Расчетной кривой титрования, изображенной на *рис.2б* сплошной линией, соответствуют значения  $K_h = 14,7$  л/моль и  $\varepsilon_h = 18272$  л/(моль·см). Близкое к единице значение коэффициента детерминации  $R^2 = 0,9953$  позволяет заключить, что полученное значение константы, по-видимому, соответствует действительности. Кроме того, оно согласуется со значениями констант комплексообразования других известных ароматических биологически активных веществ с кофеином [3]. Таким образом, проведенный анализ показал, что соединение **1** эффективно агрегирует с кофеином, что указывает на высокую вероятность связывания его и с ДНК.

Работа выполнена в рамках субсидии Минобрнауки России на трудоустройство выпускников 2020 года на научно-исследовательские позиции в 2021 году.

Список публикаций:

[1] Кантор Ч., Шиммель П. // *Биофизическая химия*. Том 2. Москва: Мир. 1984. 496 с.

[2] Барановский С.Ф., Болотин П.А., Евстигнеев М.П., Чернышев Д.Н. // *Журн. прикл. спектр.* 2009. Т. 76. № 1. С. 143-151.

[3] Evstigneev M.P., Lantushenko A.O., Evstigneev V.P., Mykhina Yu.V., Davies D.B. // *Biophys. Chem.* 2008. V. 132. P. 148-158.

