

НЕКОТОРЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ХОЛЕСТЕРИЧЕСКОЙ ЖИДКОКРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ ДИСПЕРСИИ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЕЕ СПОСОБНОСТЬ К ОБРАЗОВАНИЮ МЕТАЛЛООРГАНИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ

О. В. Кондрашина, В. Г. Артюхов, А. И. Сливкин

Воронежский государственный университет

Поступила в редакцию 29.02.2012 г.

Аннотация. При замене хлорида натрия на хлорид магния в среде формирования холестерической жидкокристаллической дисперсии ДНК ХЖКД образуется с правым углом «закрутки». Это явление не влияет на способность ДНК образовывать частицы дисперсии с Gd. Ионы железа, не способные к интеркаляции между парами азотистых оснований ДНК, подобную амплификацию произвести не могут.

Ключевые слова: ДНК, дисперсия, гадолиний.

Abstract. Liquid-crystal DNA dispersion in the magnesium chloride medium organizes as a right angled cholesteric instead of sodium chloride medium which leads to left angle. This phenomenon does not affect on the dispersion ability to form a metalorganic nanoparticle with Gd which goes to increase in the amplitude of the CD spectrum. Iron ions are not capable of intercalation into DNA pair base so amplification doesn't happen.

Key words: DNA, dispersion, gadolinium.

При создании любого фармацевтического препарата особую роль, наряду с его эффективностью, играет безопасность его применения. Взаимодействие лекарственного вещества с организмом человека и животных всегда комплексно и имеет как желаемый эффект, так и негативные реакции. Основной проблемой нейтрон-захватной терапии (НЗТ) злокачественных опухолей с использованием препаратов, содержащих ^{157}Gd , является сильная токсичность его ионов. Один из методов устранения нежелательной реакционной способности ионов Gd^{3+} состоит в их связывании с инертным биосовместимым носителем (целлюлозой, хитозаном и т. д.). Однако высокомолекулярные комплексные соединения имеют относительно низкое содержание гадолиния и большой размер молекулы, т. е. возникает проблема создания необходимой локальной концентрации этого элемента в опухоли на период облучения [1].

Нам представляется особо перспективной попытка использовать в качестве носителя гадолиния наночастицы холестерической жидкокристаллической дисперсии (ХЖКД), созданные из ДНК тимуса телят путем фазового вытеснения ДНК из раствора молекулами полиэтиленгликоля. Данный вид наночастиц ХЖКД ДНК имеет высокое

средство к ионам Gd^{3+} за счет свободных фосфатных групп у нуклеиновых кислот, а также за счет способности ионов гадолиния к интеркаляции между парами азотистых оснований. GdCl_3 в среде ХЖКД ДНК образует комплексное металлорганическое соединение ДНК-Gd внутри наночастицы. При этом значительно изменяются физико-химические свойства наночастиц: они обретают свойство малой растворимости и способность существовать в условиях с низким осмотическим давлением и ионной силой. Избыточный положительный заряд на их поверхности не позволяет им слипаться в единую фазу. Локальная концентрация гадолиния достигает 30% от массы наночастицы, что значительно выше по сравнению со всеми существующими на сегодняшний день аналогами, состоящими из хитозана, гадопентетовой кислоты и целлюлозы, где концентрация гадолиния не превышает 8—12% [2].

Предпринятые ранее эксперименты по оценке дисперсии ДНК-Gd поражать клетки живых организмов указали на их малую активность [1—3]. Если этот вид наночастиц является еще и безопасной, и инертной субстанцией для организма человека и животных, то это позволит рассматривать ХЖКД ДНК-Gd как перспективный материал для дальнейшей разработки метода НЗТ. Поэтому нашей задачей было дальнейшее изучение тех физико-

химических свойств ХЖКД ДНК-Gd, которые определяют стабильность данного препарата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ДНК тимуса теленка («Sigma», США) с молекулярной массой $(0,6—0,8) \cdot 10^6$ Да и концентрацией $2 \cdot 10^{-7}$ М, приготовленные в 0,3 М NaCl; полиэтиленгликоль с молекулярной массой 4000 Да («Sigma», США) $8,5 \cdot 10^{-5}$ М в 0,3 М NaCl; соли гадолиния чистотой 99,99% предоставлены Государственным институтом редких металлов (Москва). Для формирования ХЖКД растворы ДНК и ПЭГ смешивали 3 мин на миксере типа «Vortex» и инкубировали в течение часа при комнатной температуре.

Спектры кругового дихроизма (КД) растворов ДНК, ХЖКД ДНК и ХЖКД комплексов ДНК-Gd регистрировали портативным дихрометром СКД-2 производства Института спектроскопии РАН (г. Троицк). Критерием формирования ХЖКД ДНК служило наличие в спектре КД аномальной полосы, характерной для холестериков [1—4]. При добавлении к ХЖКД ДНК ионов Gd^{3+} амплитуда полосы увеличивается в 2-2,5 раза. Это является признаком формирования металлоорганических наночастиц ХЖКД ДНК-Gd. Физико-химические свойства данного комплекса описаны в [5—6].

Все экспериментальные исследования осуществлялись в 4—5 кратной повторности. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью программы статистиче-

ской обработки данных «Origin-98» традиционным способом с использованием *t*-критерия Стьюдента при 95% уровне значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

СВОЙСТВА ДНК И ХЖКД, ПРИГОТОВЛЕННОЙ В РАСТВОРЕ $MgCl_2$

К ДНК, находящейся в водном растворе 0,1М $MgCl_2$ одинаковой ионной силы с раствором 0,3 М NaCl, добавляли $GdCl_3$, создавая концентрации от $2 \cdot 10^{-5}$ до $6 \cdot 10^{-5}$ М. При этом наблюдался постепенный переворот полосы спектра КД, похожий на действие ионов Gd^{3+} в растворе 0,3 М NaCl, но форма спектра несколько отличалась от спектров, описанных в [1, 2] (рис. 1). Можно говорить об определенном вкладе ионов натрия в стабилизацию структуры молекул ДНК.

При добавлении к ДНК в растворе $MgCl_2$ полиэтиленгликоля формируется ХЖКД с положительной аномальной оптической полосой (рис. 2). Положительная оптическая полоса спектра КД для холестерика указывает на правостороннюю «закрутку» жидкого кристалла. При добавлении ионов Gd^{3+} к ХЖКД ДНК в растворе $MgCl_2$ в спектре КД образуется аномальная оптическая полоса, равная по амплитуде для системы, приготовленной в 0,3 М NaCl, но противоположной (положительной) по знаку. Здесь угол «закрутки» увеличивается в правую сторону. При попытке создать ХЖКД ДНК-Gd путем добавления полиэтиленгликоля к ДНК, об-

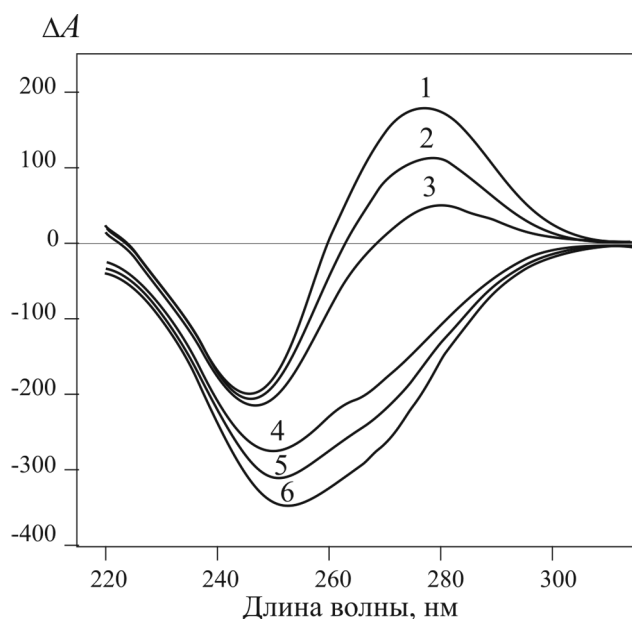


Рис. 1. Спектры кругового дихроизма для ХЖКД ДНК при концентрациях $GdCl_3$ 0 (1), $2 \cdot 10^{-5}$ М (2), $3 \cdot 10^{-5}$ М (3), $4 \cdot 10^{-5}$ М (4), $5 \cdot 10^{-5}$ М (5) и $6 \cdot 10^{-5}$ М (6); $\Delta A = (A_L - A_R)$

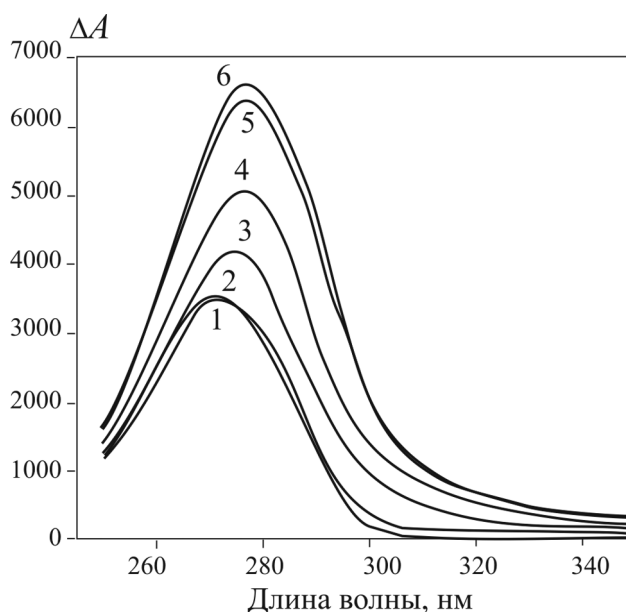


Рис. 2. Спектры кругового дихроизма для ХЖКД ДНК в среде 0,1М $MgCl_2$ при концентрации $GdCl_3$ 0 (1), $2,49 \cdot 10^{-4}$ М (2), $4,97 \cdot 10^{-4}$ М (3), $9,8 \cdot 10^{-4}$ М (4), $1,48 \cdot 10^{-3}$ М (5) и $2,92 \cdot 10^{-3}$ М (6); $\Delta A = (A_L - A_R)$

работанной гадолинием в растворе 0,1 М $MgCl_2$, выявлено, что при этом формируются аморфные частицы, лишенные холестерических оптических свойств. Добавление ЭДТА к ионам Gd^{3+} (соотношение 1:1) в растворе 0,1 М $MgCl_2$ ведет к восстановлению свойств ДНК.

ОБРАБОТКА ДНК И ХЖКД ИОНАМИ ЖЕЛЕЗА (III)

Ионы Fe^{3+} , как и ионы редкоземельных элементов, имеют заряд (+3), но они не являются интеркаляторами в пары оснований ДНК [7]. К раствору ДНК в водно-солевом растворе добавляли $FeCl_3$ ($1 \cdot 10^{-5}$ — $6 \cdot 10^{-5}$ М). При попытке сформировать ХЖКД из ДНК, обработанных ионами железа, было установлено, что в этом случае формировались частицы, лишенные холестерических оптических свойств.

При введении ионов Fe^{3+} в систему с уже сформированной ХЖКД наблюдается ~10%-ное ослабление оптических свойств изучаемой системы. Амплификации полосы не происходит. Вероятно, названные ионы металлов, находясь в микроокружении ДНК, влияют своими зарядами на ее трехмерную ориентацию в пространстве и, таким образом, препятствуют формированию упорядоченной структуры ХЖКД. В то же время, ионы Fe^{3+} с уже сформированной ХЖКД из ДНК не вызывают интеркаляции, но и не вызывают системного изменения угла «закрутки» холестерика. В результате амплификации полосы не наблюдается.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сформированная в растворе $MgCl_2$ ХЖКД сохраняет способность к формированию металлорганических наночастиц ХЖКД ДНК-Gd, несмотря на противоположный угол «закрутки». Ионы железа, не способные к интеркаляции, не приводят к

амплификации спектра КД. В работе [1] было высказано предположение, что амплификация полосы спектра КД происходит из-за изменения угла «закрутки» холестерика вследствие кооперативного изменения структуры ДНК за счет интеркаляции ионов. Результаты описанных экспериментов косвенно подтверждают эту гипотезу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Particles of liquid-crystalline dispersious formed by (nucleic acid – rare earth element) complexes as a potential platform for neutron capture therapy / Yu. M. Yevdokimov [et al.] // *Int. J. Biol. Macromol.* — 2005. — Vol. 37. — P. 165—173.
2. Некоторые характеристики комплексов гадолиния с линейной и жидкокристаллическими формами ДНК / В. И. Саянов [и др.] // *Биофизика.* — 2007. — Т. 52, № 3. — С. 452—459.
3. Новый биоматериал на основе частиц холестерической жидкокристаллической дисперсии комплекса (ДНК-Gd). Определение концентрации гадолиния в частицах / С. В. Акулиничев [и др.] // *Медицинская физика.* — 2006. — № 3. — С. 64—69.
4. Евдокимов Ю. М. Жидкокристаллические формы ДНК и их биологическая роль / Ю. М. Евдокимов // *Жидкие кристаллы и их практическое применение.* — 2003. — № 3. — С. 10—47.
5. Индуцированное изменение холестерической закрутки нуклеиновых кислот катионами РЗЭ / Ю. М. Евдокимов [и др.] // *Письма в ЖЭТФ.* — 2007. — Т. 131, №3. — С. 556—566.
6. Жидкокристаллические дисперсии комплексов ДНК с гадолинием – потенциальная платформа для нейтронзахватывающей терапии / Ю.М. Евдокимов [и др.] // *Доклады РАН.* — 2005. — Т. 402, №5. — С. 693—696.
7. Bisintercalator-containing dinuclear complex: An efficient artificial nuclease / X. Chen [et al.] // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* — 2009. — V.19. — P. 4139—4142.

Кондрашина Ольга Владимировна — м.н.с. каф. фармацевтической химии и фармацевтической технологии Воронежского государственного университета; e-mail: olganuelle@yandex.ru, тел.: (473) 253-0789

Артюхов Валерий Григорьевич — профессор, заведующий кафедрой биофизики и биотехнологии Воронежского государственного университета; e-mail: artuykhov@bio.vsu.ru

Сливкин Алексей Иванович — зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии ВГУ, доктор фармацевтических наук, профессор; e-mail: slivkin@pharm.vsu.ru, тел.: (473) 255-47-76

Kondrashina Olga V. — younger research associate of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology department, the Voronezh State University; e-mail: olganuelle@yandex.ru, tel.: (473) 253-0789

Artyukhov Valeriy G. — professor, head of biophysics and biotechnology department, Voronezh State University; e-mail: artuykhov@bio.vsu.ru

Slivkin Alexsey Y. — professor, head of the pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology department, Voronezh State University; doctor of pharmaceutical science; e-mail: slivkin@pharm.vsu.ru, tel.: (473) 255-47-76