

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова праця

на правах рукопису

**СТАРЖИНСЬКА АЛІНА ВІТАЛІЇВНА**

УДК 538.958: 535.37: 535.34:  
539.196: 539.194: 539.199.

ДИСЕРТАЦІЯ

**ГЕТЕРОАСОЦІАЦІЯ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТУ  
З КАЛІКС[4]АРЕНОМ С-107 ТА ІОНАМИ МЕТАЛІВ**

104 – фізика та астрономія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

\_\_\_\_\_ А.В. Старжинська

Науковий керівник:

**Дмитренко Оксана Петрівна**

доктор фіз.-мат. наук, професор

Київ – 2025

## Анотація

Старжинська А.В. «Гетероасоціація аденозинтрифосфату з калікс[4]ареном С-107 та іонами металів». – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі природничих наук за спеціальністю 104 – фізика та астрономія. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка. Київ, 2025.

Методами електронного поглинання, спектрофлуометрії збудження і емісії, комп'ютерного моделювання методами квантової хімії, молекулярного докінгу та молекулярної динаміки досліджено водні розчини комплексів АТФ з калікс[4]аренами С-107, калікс[4]аренами С-107 з іонами  $\text{Ag}^+$  та іонами  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$  з різними концентраціями компонент. Показано, що із утворенням гетероасоціатів аденозинтрифосфат – С-107 відбувається гасіння фотолюмінесценції аденозинтрифосфату у вузькому концентраційному діапазоні калікс[4]аренів. Зі збільшенням вмісту іонів металів та температури спостерігається складний характер гасіння ФЛ, зумовлений формуванням комплексів. Встановлено параметри комплексоутворення, та проведено дослідження резонансної безвипромінювальної передачі енергії з використанням теорії Фьорстера вказаних комплексів.

**Метою** даної роботи є вивчення процесів комплексоутворення у водних розчинах АТФ з калікс[4]аренами С-107 та АТФ – С-107 з іонами  $\text{Ag}^+$ , а також з іонами  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{Ag}^+$ , визначення параметрів зв'язування та встановлення механізмів їх гетероасоціації.

**Об'єктом** досліджень є комплекси АТФ з калікс[4]аренами С-107, калікс[4]аренами С-107 з іонами  $\text{Ag}^+$  та іонами  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ .

**Предметом** досліджень є вивчення процесів утворення комплексів АТФ з калікс[4]аренами С-107, калікс[4]аренами С-107 з іонами  $\text{Ag}^+$  та іонами  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ , визначення параметрів зв'язування та встановлення механізмів гетероасоціації.

В роботі - **вперше** спектральними методами оптичного поглинання та гасіння флуоресценції у водних розчинах АТФ з калікс[4]аренами С-107 та АТФ – С-107 з іонами  $\text{Ag}^+$  показано, що має місце комплексоутворення з помітним падінням інтенсивності флуоресценції в широкому інтервалі концентрацій калікс[4]аренів;

- **вперше** методами квантової хімії, молекулярного докінгу та молекулярної динаміки для систем АТФ – С-107 показано, що утворення комплексів можливе внаслідок розміщення АТФ на вершині калікс[4]арену та вздовж його стінки за рахунок  $\pi$ - $\pi$  стекової взаємодії, яка супроводжується звуженням енергетичної щілини. При цьому встановлено, що найбільш рухомим є фосфатних «хвіст» АТФ та  $\text{NH}_3$ -групи каліксарену;

- **вперше** методом Штерна – Фольмера проведено порівняння утворення комплексів АТФ з важливими біологічно активними іонами  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  і  $\text{Ca}^{2+}$  та визначено механізми гетероасоціації;

- **вперше** показано, що найбільшою є величина константи зв'язування для статичного комплексу АТФ- $\text{Mg}^{2+}$  в порівнянні з системою АТФ- $\text{Ca}^{2+}$  при збереженні числа місць зв'язування  $n \approx 1$  та електростатичної взаємодії;

- **вперше** методом квантово-хімічного моделювання показано, що комплексоутворення АТФ з іонами  $\text{Mg}^{2+}$  та  $\text{Ag}^+$  приводить до перебудови електронних рівнів, перерозподілу зарядів, зміни дипольного моменту та величини енергетичної щілини. На відміну від комплексу АТФ- $\text{Mg}^{2+}$  вплив іона  $\text{Ag}^+$  в комплексі АТФ- $\text{Ag}^+$  є більш істотним і супроводжується помітними змінами заряду атомів Нітрогену 6 і Нітрогену 4 індольного циклу.

**Ключові слова:** АТФ, калікс[4]арени С-107, водні розчини, іони металів, оптичне поглинання, флуоресценція, ентропія, комп'ютерне моделювання.

## Публікації здобувача

### Статті у періодичних наукових виданнях, проіндексованих у базах даних Web of Science Core Collection та/або Scopus:

1. **Lohvyn A.V.** Spectral features of adenosine triphosphate solutions with calix[4]arene C-107/ **A.V. Lohvyn**, O.P. Dmytrenko, M.P. Kulish, T.O. Veklich, M.I. Kaniuk // Applied Nanoscience (Switzerland). –2022. – P.1–7. <https://doi.org/10.1007/s13204-022-02623-2> (Scopus, Q2)
2. **Starzhynska A.** Peculiarities of the Fluorescence Quenching in the ATP – Calix[4]arene C-107 Aqueous Solutions/ **A. Starzhynska**, O. Dmytrenko, M. Kulish, O. Pavlenko, I. Doroshenko, A. Lesiuk, T. Veklich, M. Kaniuk//Ukrainian Journal of Physics. –2024.–V. 69, NO. 2. –P.71–81. <https://doi.org/10.15407/ujpe69.2.71> (Scopus, Q3).
3. **Starzhynska A.V.** Mechanisms of formation of heteroassociates of ATP with  $ag^+$  ions/ **A.V. Starzhynska**, O.P. Dmytrenko, M.P. Kulish, O.L. Pavlenko, I. Doroshenko, A.I. Lesiuk, A.I. Misiura, T.O. Veklich, M.I. Kaniuk // Molecular Crystals and Liquid Crystals.–2024.–V.768, NO. 16. –P.826–839. <https://doi.org/10.1080/15421406.2024.2363079> (Scopus, Q4).
4. **Starzhynska A.V.** Complex Formation in Aqueous Solutions of Adenosine Triphosphate with  $Mg^{2+}$  and  $Ca^{2+}$  Ions/ **A.V. Starzhynska**, O.P. Dmytrenko, M.P. Kulish, O.L. Pavlenko, Lesiuk, A.I. Veklich, M.I. Kaniuk // Nanooptics and Photonics, Nanochemistry and Nanobiotechnology, and Their Applications. Springer Proceeding in Physics. – 2024. – V. 312. –P. 173-186. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-67527-0\\_14](https://doi.org/10.1007/978-3-031-67527-0_14) (Scopus)

**Апробація результатів дисертації:**

1. **Lohvyn A.** Electronic and spectral properties of the energy component of ATP ion transport in biomembranes/ **A. Lohvyn, S. Kosterin, T.Veklich, O. Dmytrenko, M. Kulish**// Proceedings of X International Conference “Medical Physics – the Current Status, Problems, the Way of Development. Innovation Technologies”. – 2021. – Київ, Україна. – P. 99-102. <https://conference.rb.knu.ua/en/>
2. **Starzhynska A.** Mechanisms of heteroassociation in an aqueous solution of ATP – Ag<sup>+</sup>/ **A. Starzhynska, O. Dmytrenko, M. Kulish, O. Pavlenko, I. Doroshenko, A. Lesiuk, A. Naumenko, T. Veklich, M. Kaniuk**// Book of abstracts international research and practice conference Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2023). – Lviv: LPNU. (16-19.08.2023). –2023. –P. 399 . <https://nano-conference.iop.kiev.ua/assets/files/nano2023.pdf> .
3. **Starzhynska A.** Complex formation in aqueous solutions of adenosine triphosphate with Mg<sup>2+</sup> and Ca<sup>2+</sup> ion/ **A. Starzhynska, O. Dmytrenko, M. Kulish, O. Pavlenko, A. Lesiuk, T. Veklich, M. Kaniuk**// Book of abstracts international research and practice conference Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2023). – Lviv: LPNU. (16-19.08.2023). – 2023. – P. 400. <https://nano-conference.iop.kiev.ua/assets/files/nano2023.pdf> .
4. **Starzhynska A.** Binding parameters in ATP complexes with curcumin drugs/ **A. Starzhynska, O. Dmytrenko, M. Kulish, O. Pavlenko, I. Doroshenko, A. Lesiuk, A. Misura, A. Naumenko, T. Veklich, M. Kaniuk**// Book of abstracts international research and practice conference Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2023). – Lviv: LPNU. (16-19.08.2023).–2023. –P.402. <https://nanoconference.iop.kiev.ua/assets/files/nano2023.pdf> .

## Abstract

Starzhynska A.V. «Heteroassociation of adenosine triphosphate with calix[4]arene C-107 and metal ions». – Qualification scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for the degree of Philosophy Doctor in the field of natural sciences in a specialty 104 – physics and astronomy. – Taras Shevchenko National University of Kyiv. Kyiv, 2024.

Aqueous solutions of ATP complexes with calix[4]arenes C-107, calix[4]arenes C-107 with  $\text{Ag}^+$  ions and  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$  ions with different concentrations of components were studied using the methods of electron absorption, excitation and emission spectrofluorometry, computer modeling using quantum chemistry, molecular docking and molecular dynamics. It was shown that with the formation of heteroassociates adenosine triphosphate – C-107, the photoluminescence of adenosine triphosphate is quenched in a narrow concentration range of calix[4]arenes. With an increase in the content of metal ions and temperature, a complex nature of PL quenching is observed, due to the formation of complexes. The parameters of complex formation were established, and a study of the resonance non-radiative energy transfer using the Förster theory of the indicated complexes was carried out.

**The aim** of this work is to study the processes of complexation in aqueous solutions of ATP with calix[4]arenes C-107 and ATP – C-107 with  $\text{Ag}^+$  ions, as well as with  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Ag}^+$  ions, determine the binding parameters and establish the mechanisms of their heteroassociation.

**The object** of research is ATP complexes with calix[4]arenes C-107, calix[4]arenes C-107 with  $\text{Ag}^+$  ions and  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$  ions.

**The subject** of research is the study of the processes of formation of ATP complexes with calix[4]arenes C-107, calix[4]arenes C-107 with  $\text{Ag}^+$  ions and  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$  ions, determination of binding parameters and establishment of heteroassociation mechanisms.

In the work - **for the first time**, using spectral methods of optical absorption and fluorescence quenching in aqueous solutions of ATP with calix[4]arenes C-107 and ATP – C-107 with  $\text{Ag}^+$  ions, it is shown that complexation occurs with a noticeable drop in fluorescence intensity in a wide range of calix[4]arenes concentrations;

- **for the first time**, using methods of quantum chemistry, molecular docking and molecular dynamics for ATP – C-107 systems, it is shown that the formation of complexes is possible due to the placement of ATP on the top of the calix[4]arene and along its wall due to the  $\pi$ - $\pi$  stacking interaction, which is accompanied by a narrowing of the energy gap. It was found that the most mobile are the phosphate “tail” of ATP and the  $\text{NH}_3$ -groups of calixarene;

- **for the first time**, the Stern-Volmer method was used to compare the formation of ATP complexes with important biologically active ions  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  and  $\text{Ca}^{2+}$  and the mechanisms of heteroassociation were determined;

- **for the first time**, it was shown that the binding constant for the static ATP- $\text{Mg}^{2+}$  complex is the largest in comparison with the ATP- $\text{Ca}^{2+}$  system while maintaining the number of binding sites  $n \approx 1$  and electrostatic interaction;

- **for the first time**, it was shown by the method of quantum-chemical modeling that the complex formation of ATP with  $\text{Mg}^{2+}$  and  $\text{Ag}^+$  ions leads to a rearrangement of electronic levels, a redistribution of charges, a change in the dipole moment and the magnitude of the energy gap. Unlike the ATP- $\text{Mg}^{2+}$  complex, the effect of the  $\text{Ag}^+$  ion in the ATP- $\text{Ag}^+$  complex is more significant and is accompanied by noticeable changes in the charge of the Nitrogen 6 and Nitrogen 4 atoms of the indole cycle.

**Key words:** ATP, calix[4]arenes C-107, aqueous solutions, metal ions, optical absorption, fluorescence, entropy, computer modeling.

## Applicant's publications

### Articles in scientific periodicals indexed in the Web of Science Core Collection and/or Scopus:

1. **Lohvyn A.V.** Spectral features of adenosine triphosphate solutions with calix[4]arene C-107/ **A.V. Lohvyn**, O.P. Dmytrenko, M.P. Kulish, T.O. Veklich, M.I. Kaniuk // Applied Nanoscience (Switzerland). –2022. –P.1–7. <https://doi.org/10.1007/s13204-022-02623-2> (Scopus, Q2)
2. **Starzhynska A.** Peculiarities of the Fluorescence Quenching in the ATP – Calix[4]arene C-107 Aqueous Solutions/ **A. Starzhynska**, O. Dmytrenko, M. Kulish, O. Pavlenko, I. Doroshenko, A. Lesiuk, T. Veklich, M. Kaniuk//Ukrainian Journal of Physics. –2024.–V. 69, NO. 2. –P.71–81. <https://doi.org/10.15407/ujpe69.2.71> (Scopus, Q3).
3. **Starzhynska A.V.** Mechanisms of formation of heteroassociates of ATP with  $ag^+$  ions/ **A.V. Starzhynska**, O.P. Dmytrenko, M.P. Kulish, O.L. Pavlenko, I. Doroshenko, A.I. Lesiuk, A.I. Misiura, T.O. Veklich, M.I. Kaniuk // Molecular Crystals and Liquid Crystals.–2024.–V.768, NO. 16. –P.826–839. <https://doi.org/10.1080/15421406.2024.2363079> (Scopus, Q4).
4. **Starzhynska A.V.** Complex Formation in Aqueous Solutions of Adenosine Triphosphate with  $Mg^{2+}$  and  $Ca^{2+}$  Ions/ **A.V. Starzhynska**, O.P. Dmytrenko, M.P. Kulish, O.L. Pavlenko, Lesiuk, A.I. Veklich, M.I. Kaniuk // Nanooptics and Photonics, Nanochemistry and Nanobiotechnology, and Their Applications. Springer Proceeding in Physics. – 2024. – V. 312. –P. 173-186. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-67527-0\\_14](https://doi.org/10.1007/978-3-031-67527-0_14) (Scopus)

### Approbation of dissertation results:

1. **Lohvyn A.** Electronic and spectral properties of the energy component of ATP ion transport in biomembranes/ **A. Lohvyn**, S. Kosterin,

T.Veklich, O. Dmytrenko, M. Kulish// Proceedings of X International Conference “Medical Physics – the Current Status, Problems, the Way of Development. Innovation Technologies”. – 2021. – Київ, Україна. – P. 99-102. <https://conference.rb.knu.ua/en/>

2. **Starzhynska A.** Mechanisms of heteroassociation in an aqueous solution of ATP – Ag<sup>+</sup>/ **A. Starzhynska**, O. Dmytrenko, M. Kulish, O. Pavlenko, I. Doroshenko, A. Lesiuk, A. Naumenko, T. Veklich, M. Kaniuk// Book of abstracts international research and practice conference Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2023). – Lviv: LPNU. (16-19.08.2023). –2023. –P. 399. <https://nano-conference.iop.kiev.ua/assets/files/nano2023.pdf> .

3. **Starzhynska A.** Complex formation in aqueous solutions of adenosine triphosphate with Mg<sup>2+</sup> and Ca<sup>2+</sup> ion/ **A. Starzhynska**, O. Dmytrenko, M. Kulish, O. Pavlenko, A. Lesiuk, T. Veklich, M. Kaniuk// Book of abstracts international research and practice conference Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2023). – Lviv: LPNU. (16-19.08.2023). – 2023. – P. 400. <https://nano-conference.iop.kiev.ua/assets/files/nano2023.pdf> .

3. **Starzhynska A.** Binding parameters in ATP complexes with curcumin drugs/ **A. Starzhynska**, O. Dmytrenko, M. Kulish, O. Pavlenko, I. Doroshenko, A. Lesiuk, A. Misura, A. Naumenko, T. Veklich, M. Kaniuk// Book of abstracts international research and practice conference Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2023). – Lviv: LPNU. (16-19.08.2023).–2023. –P.402. <https://nanoconference.iop.kiev.ua/assets/files/nano2023.pdf> .

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	12
ВСТУП .....	13
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	17
1.1. Молекулярна структура та властивості АТФ .....	17
1.2. Властивості розчинів АТФ з каліксаренами.....	19
1.3. Структура молекулярних комплексів з АТФ.....	22
1.4. Комп'ютерне моделювання комплексів АТФ з металами .....	35
РОЗДІЛ 2 МЕТОДИКА ЕКСПЕРИМЕНТУ .....	41
2.1. Матеріали та приготування розчинів.....	41
2.2. Методи спектральних досліджень розчинів.....	42
2.2.1. Оптичне поглинання.....	42
2.2.2. Флуоресценція гасіння та збудження .....	43
2.3. Методи визначення параметрів комплексоутворення .....	45
2.4. Комп'ютерне моделювання .....	46
Висновки до розділу 2 .....	47
РОЗДІЛ 3 КОМПЛЕКСОУТВОРЕННЯ В РОЗЧИНАХ АТФ З КАЛІКС[4]АРЕНОМ С-107 ТА ІОНАМИ $Ag^+$ .....	3 48
3.1. Комплекс АТФ з калікс[4]ареном С-107 .....	48
3.1.1. Спектри оптичної густини АТФ та С-107 у воді.....	49
3.1.2. Спектри фотолюмінесценції АТФ та С-107 у воді.....	52
3.1.3. Особливості гасіння флуоресценції в розчинах у воді АТФ – калікс[4]арену С -107 за різних температур.....	60
3.2. Комплекс АТФ з калікс[4]ареном С-107 та $Ag^+$ .....	67
3.3. Комп'ютерне моделювання молекул АТФ та калікс[4]арену.....	68
Висновки до розділу 3 .....	73
РОЗДІЛ 4 ГЕТЕРОАСОЦІАЦІЯ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТУ З КАЛІКС[4]АРЕНОМ С-107 ТА ІОНАМИ МЕТАЛІВ .....	3 75
4.1. Комплекс АТФ - $Ag^+$ .....	75

4.1.1. Квантово-хімічні розрахунки комплексу АТФ з іоном $\text{Ag}^+$ .....	76
4.1.2. Спектральні властивості емісії і збудження ФЛ водних розчинів АТФ - $\text{AgNO}_3$ .....	78
4.1.3. Константи зв'язування та термодинамічні параметри водних розчинів АТФ - $\text{AgNO}_3$ .....	83
4.2. Комплекс АТФ – $\text{Mg}^{2+}$ .....	91
4.2.1. Квантово-хімічні розрахунки комплексу АТФ з іоном $\text{Mg}^{2+}$ .....	91
4.2.2. Параметри зв'язування в гетеросоціатах АТФ – $\text{Mg}^{2+}$ .....	94
4.3. Комплекс АТФ – $\text{Ca}^{2+}$ .....	103
4.3.1. Параметри зв'язування в гетеросоціатах АТФ – $\text{Ca}^{2+}$ .....	103
Висновки до розділу 4 .....	108
ВИСНОВКИ.....	109
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	111
ДОДАТОК.....	129

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АТФ – аденозинтрифосфат

АДФ – аденозиндифосфат

АМФ – аденозинмонофосфат

C – концентрація

T – температура

$\lambda_{зб}$  – довжина хвилі збудження

$\lambda_{ем}$  – довжина хвилі емісії

ФЛ – флуоресценція

НОМО – вища зайнята молекулярна орбіталь

LUMO – найнижча незаповнена молекулярна орбіталь

$k_q$  – коефіцієнт швидкості гасіння

Q – концентрація гасника

$F_0$  – інтенсивність флуоресценції флуорофора у відсутності гасника

F – інтенсивність флуоресценції флуорофора у присутності гасника

$\tau_0$  – усереднений час життя флуорофора у відсутності гасника

$K_{SV}$  – константа гасіння Штерна – Фольмера

$K_A$  – константа зв'язування (спорідненості) між флуорофором і гасником

n – число місць зв'язування між іоном металу та лігандом

$k_2$  – фактор просторової орієнтації компонент розчину

$\varepsilon(\lambda)$  – коефіцієнт поглинання  $\varepsilon(\lambda)$  розчинів у воді

## ВСТУП

**Актуальність дослідження.** Аденозин – 5' трифосфат (АТФ) є надзвичайно важливими молекулами, що відповідальні за енергетичне забезпечення клітин живих організмів. Даний нуклетид є важливим як молекула, що виділяє енергію, забезпечуючи функціонування організмів, порушення гідролізних процесів в яких призводить до різноманітних порушень та захворювань. Важливою задачею є модифікація молекул АТФ з метою оптимізації їх властивостей з точки зору забезпечення енергією клітин, процесів переносу атомів через мембрану. Для координації біомолекул, зокрема АТФ, використовуються іони металів. Відомо, що комплекси з іонами металів, в тому числі лікарські препарати характеризуються покращенням їх фармакологічних характеристик. Тому, системи АТФ з іонами металів можливо використовувати для оптимізації переносу лікарських препаратів.

Очевидно, що при утворенні комплексів АТФ змінюється електронна будова цих молекул, тому важливим є проведення комп'ютерного моделювання. Вивчення комплексоутворення молекулярних систем проводиться різними методами, при цьому відсутні кількісні характеристики та механізми гетеросоціації. Такі дослідження, як правило, проводяться з використанням методів гасіння флуоресценції та флуоресценції збудження. Процеси комплексоутворення для різних систем АТФ з металами, з метою встановлення їх впливу на властивості досліджено недостатньо.

*Метою даної роботи* є вивчення процесів комплексоутворення у водних розчинах АТФ з калікс[4]аренами С-107 та АТФ – С-107 з іонами  $\text{Ag}^+$ , а також з іонами  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{Ag}^+$ , визначення параметрів зв'язування та встановлення механізмів їх гетеросоціації.

В роботі досліджувались комплекси АТФ з калікс[4]аренами С-107, калікс[4]аренами С-107 з іонами  $\text{Ag}^+$  та іонами  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$  з різними концентраціями компонент.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконувалась в рамках держбюджетної теми МОН 22БФ051-03 «Радіаційна функціоналізація електропровідності і кон'югації в полімерних системах з наноприсадками».

**Мета і задачі дослідження.** *Метою даної роботи є вивчення процесів комплексоутворення у водних розчинах АТФ з калікс[4]аренами С-107 та АТФ – С-107 з іонами  $\text{Ag}^+$ , а також з іонами  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{Ag}^+$ , визначення параметрів зв'язування та встановлення механізмів їх гетероасоціації.*

Для досягнення поставленої мети було виконано *наступні завдання:*

- приготування водних розчинів АТФ, АТФ з калікс[4]аренами С-107 та АТФ – С-107 з іонами  $\text{Ag}^+$ , а також з іонами  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{Ag}^+$  з різними концентраціями;
- вимірювання спектрів оптичного поглинання для вказаних розчинів;
- вивчення флуоресценції емісії та флуоресценції збудження при різних температурах;
- визначення констант гасіння флуоресценції;
- встановлення параметрів зв'язування між компонентами розчинів;
- використання теорії Фьорстера для встановлення параметрів резонансної безвипромінювальної передачі енергії, визначення механізмів зв'язування вказаних гетероасоціатів;
- проведення квантово-хімічних розрахунків електронного стану молекул медичних препаратів;
- виконання комп'ютерних розрахунків методами молекулярного докінгу та молекулярної динаміки.

**Об'єктом** досліджень є комплекси АТФ з калікс[4]аренами С-107, калікс[4]аренами С-107 з іонами  $\text{Ag}^+$  та іонами  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ .

**Предметом** досліджень є вивчення процесів утворення комплексів АТФ з АТФ з калікс[4]аренами С-107, калікс[4]аренами С-107 з іонами  $\text{Ag}^+$  та іонами  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ , визначення параметрів зв'язування та встановлення механізмів гетероасоціації.

**Методи дослідження:** дослідження виконано за допомогою методів оптичного поглинання, спектрофлуометрії збудження і емісії водних розчинів комплексів АТФ з калікс[4]аренами С-107, калікс[4]аренами С-107 з іонами  $\text{Ag}^+$  та іонами  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$  з різними концентраціями компонент, проведення комп'ютерного моделювання методами квантової хімії, молекулярного докінгу та молекулярної динаміки вказаних комплексів, проведення досліджень резонансної безвипромінювальної передачі енергії з використанням теорії Фьорстера.

**Наукова новизна отриманих результатів:**

- вперше спектральними методами оптичного поглинання та гасіння флуоресценції у водних розчинах АТФ з калікс[4]аренами С-107 та АТФ – С-107 з іонами  $\text{Ag}^+$  показано, що має місце комплексоутворення з помітним падінням інтенсивності флуоресценції в широкому інтервалі концентрацій калікс[4]аренів;

- вперше методами квантової хімії, молекулярного докінгу та молекулярної динаміки для систем АТФ – С-107 показано, що утворення комплексів можливе внаслідок розміщення АТФ на вершині калікс[4]арену та вздовж його стінки за рахунок  $\pi$ - $\pi$  стекової взаємодії, яка супроводжується звуженням енергетичної щілини. При цьому встановлено, що найбільш рухомим є фосфатних «хвіст» АТФ та  $\text{NH}_3$ -групи каліксарену;

- вперше методом Штерна – Фольмера проведено порівняння утворення комплексів АТФ з важливими біологічно активними іонами  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  і  $\text{Ca}^{2+}$  та визначено механізми гетероасоціації;

- вперше показано, що найбільшою є величина константи зв'язування для статичного комплексу АТФ- $\text{Mg}^{2+}$  в порівнянні з системою АТФ- $\text{Ca}^{2+}$  при збереженні числа місць зв'язування  $n \approx 1$  та електростатичної взаємодії;

- вперше методом квантово-хімічного моделювання показано, що комплексоутворення АТФ з іонами  $\text{Mg}^{2+}$  та  $\text{Ag}^+$  приводить до перебудови електронних рівнів, перерозподілу зарядів, зміни дипольного моменту та величини енергетичної щілини. На відміну від комплексу АТФ- $\text{Mg}^{2+}$  вплив

іона  $\text{Ag}^+$  в комплексі АТФ- $\text{Ag}^+$  є більш істотним і супроводжується помітними змінами заряду атомів Нітрогену 6 і Нітрогену 4 індольного циклу.

**Практичне значення одержаних результатів.** Одержані в роботі результати характеристик комплексів АТФ з калікс[4]аренами можуть бути використані як модулятори АТФ-гідролізних систем, а з іонами металамів - для оптимізації цільової доставки фармакологічних інгредієнтів.

**Особистий внесок здобувача.** Авторка приймала участь в постановці мети та завдань досліджень, аналізі літературних джерел, приготуванні водних розчинів, обробці та узагальненні одержаних експериментальних результатів, написанні статей та тез доповідей. Експериментальну частину досліджень виконано в повному обсязі.

**Апробація результатів дисертації.** Результати роботи було представлено на наукових конференціях: X International Conference “Medical Physics – the Current Status, Problems, the Way of Development. Innovation Technologies” (Київ, Україна 2021); International research and practice conference “nanotechnology and nanomaterials” (NANO-2023), (Львів, Україна 2023).

**Публікації.** Опубліковано 4 наукові статті у наукометричній базі Scopus, з них 3 статті (Q2, Q3, Q4, відповідно), 1 публікація в матеріалах міжнародної конференції, 1 теза доповідей конференцій.

Дисертація складається із вступу, **чотирьох розділів**, висновків, списку використаних джерел; на 130 сторінках містить 59 рисунків, 11 таблиць, список використаних джерел з 150 найменувань.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1. Молекулярна структура та властивості АТФ

Аденозин – 5' – трифосфат (АТФ) належить до найважливіших нуклеозидів, які забезпечують енергією всі функціональні процеси в живих клітинах. Хімічна формула:  $C_{10}H_{16}N_5O_{13}P_3$ . АТФ є молекулою аденозину (нуклеозиду, що складається з азотистої основи (аденіну) та п'ятивуглецевої цукрової рибози), що зв'язана з трьома залишками фосфатної кислоти, тобто фосфатними групами [1]. Структурну формулу АТФ наведено на Рис. 1.1.

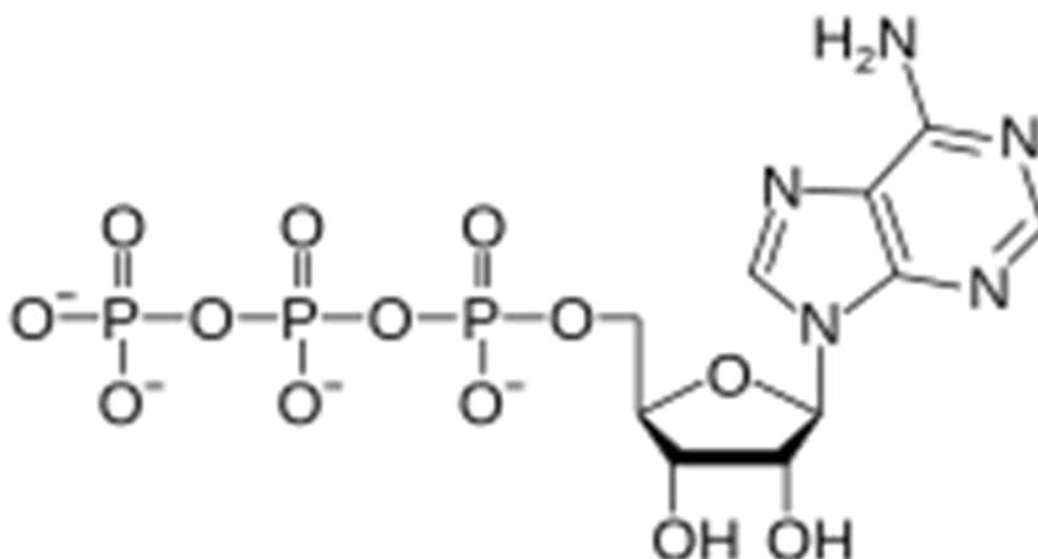


Рис. 1.1. Структурна формула АТФ [1].

АТФ – є термодинамічно нестійкою молекулою. Внаслідок її гідролізу відбувається розрив зв'язків внаслідок чого утворюються аденозиндифосфат (АДФ), або аденозинмонофосфат (АМФ). АДФ і АМФ містять дві і одну фосфатну групу, відповідно, а решта структур однакові. З іншого боку, АТР, ГТР, СТР, УТР і ТТР складаються з тих самих трифосфатів та групи цукрової рибози як ядро, але різних основних фрагментів: аденіну, гуаніну, цитозину, урацилу і тиміну відповідно.

Внаслідок метаболічних процесів відбувається виділення енергії, що є важливим для всіх клітинних реакцій [2]. АТФ доставляє енергію всередину клітини для руху м'язів), перенесення необхідних речовин через мембрани та стимулювання проходження метаболічних реакцій [3-4].

Порушення концентрації АТФ як наслідок патологічних змін у гідролізі викликає появу різних захворювань серцево-судинної системи, Паркінсона та інших [5]. Можливими є різні методи впливу на біологічну активність таких молекул. Серед них важливим є використання іонів металів, здатних до координації протеїнів, нуклеозидів, нуклеотидів, нуклеїнових кислот, ДНК [6-8].

Відомо, що біологічні комплекси з іонами металів в тому числі ліки, часто характеризуються підвищенням їх фармакологічних властивостей. Враховуючи унікальні антибактеріальні властивості срібла, їх іони розглядають як найбільш важливими для координації багатьох біомолекул, в тому числі АТФ. Іони срібла за своєю фізико-хімічною поведінкою відносять до кислот Льюїса, що переважно зв'язуються з пуриновими фрагментами нуклеотидів. При цьому координація іоном срібла  $Ag^+$  АТФ реалізується з використанням розчинів, а також при застосуванні спектроскопічних методів [9].

Відомо, що енергія в АТФ зосереджена в двох кінцевих фосфоангідридних зв'язках і виділяється в процесі гідролізу з утворенням АДФ та АМФ [10]. У фізіологічному розчині внаслідок депротонування виникає чотири атома, що формує навколо трифосфатного хвоста електростатичне поле. Складова АТФ аденін характеризується наявністю кількох атомів заміщення N в гетероциклах. Присутність таких атомів з неподільними електронними парами створює передумови для координації АТФ різними іонами подібно до  $Ag^+$  [11]. Під'єднання різних іонів до АТФ викликає зміну конформації, а також перерозподіл зарядів ангідридних зв'язках P – O – P і як наслідок здатність до гідролізу та виділення енергії [12-16].

## 1.2. Властивості розчинів АТФ з каліксаренами

У фармації, медицині та дієтології є кілька макроциклічних молекул, які використовувалися для покращення розчинності діючої речовини лікарських засобів, їх стабільності та біодоступності. Серед таких молекул особливе місце займають каліксарени [17].

Каліксарени - це циклічні олігомери, утворені з паразаміщених фенолів та формальдегідів, низькомолекулярні малотоксичні надмолекулярні сполуки здатні утворювати комплекси «господар-гість» з іонами металів та органічними сполуками. Потенційно дані сполуки можна використовувати як стабілізатори органічних полімерів, мікрочипи ДНК тощо. Знаючи ефект деяких особливостей будови (гідрофобна «чаша» з замісниками на верхньому та нижньому обідках) на специфічні біохімічні властивості (ліпофільність, низька токсичність та імуногенність), можна синтезувати сполуки з новими властивостями [18].

На Рис.1.2. наведено структурні формули калікс[4]аренів.

Кількість одиниць ароматичних речовин може бути між 4 і 20, хоча каліксарени 4, 5, 6, 7 і 8 є найбільш поширеними. Як показано на Рис 1.2. циклічна структура калікс[n]аренів подібна до інших полігідроксильованих макроциклів, а порожнина макроциклу буде залежати від кількості ароматичних одиниць у системі. Калікс[4]арени можуть приймати кілька різних конформерів, включаючи конус, частковий конус, 1,2-альтернат, і 1,3-альтернат. У конформації жорсткого конуса всі фенольні групи –ОН утворюють сильні водневі зв'язки, які стабілізують структуру. Крім того, дані сполуки здатні утворювати комплекси з біологічними молекулами, такими як антибіотики, білки, нуклеїнові кислоти, антибактеріальні препарати та мають протівірусну, антитромботичну, антибактерицидну, протитуберкульозну та протипухлинну дію [17].

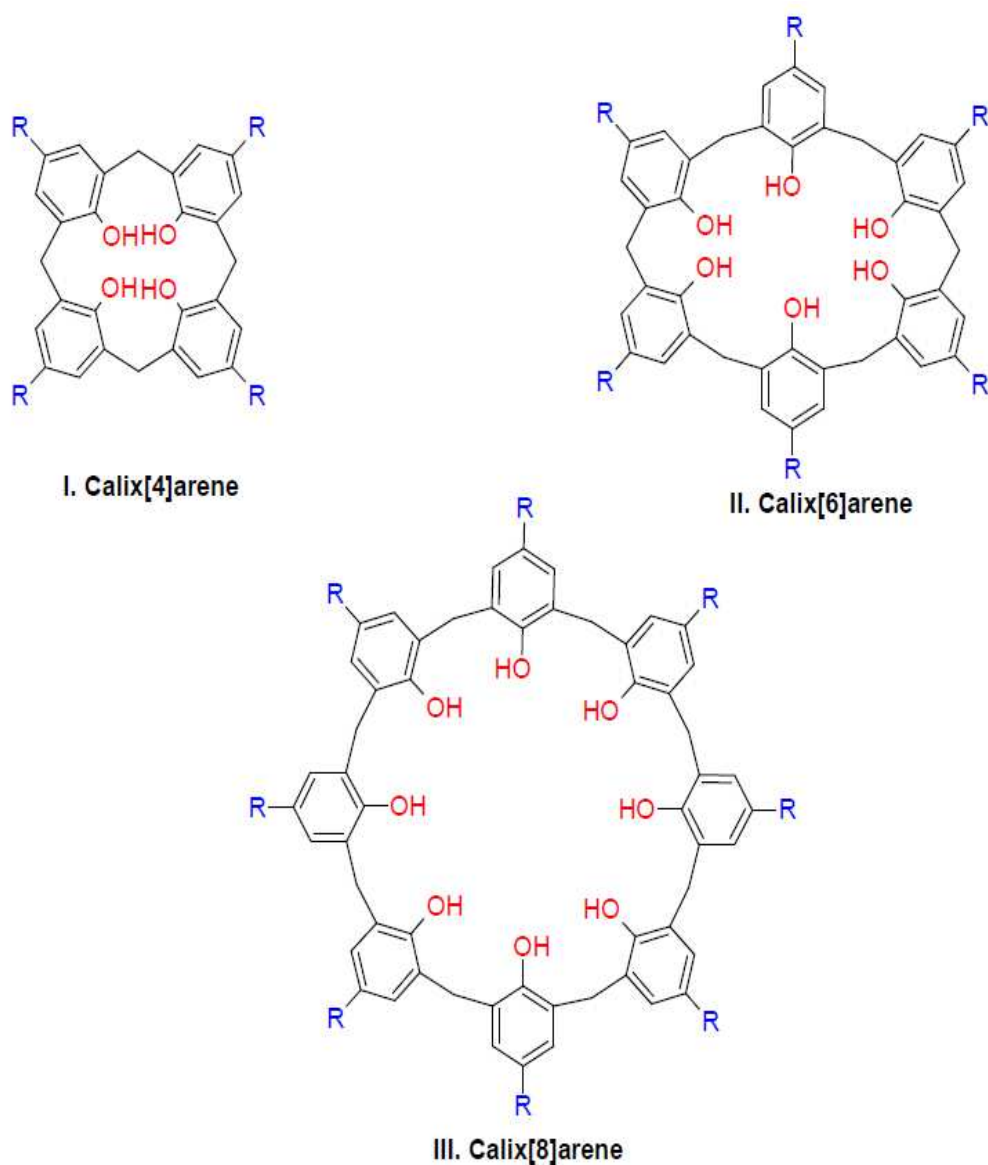


Рис. 1.2. Структурні формули калікс[4]аренів [17].

Як відомо, каліксарени можуть утворювати супрамолекулярні комплекси з АТФ. Каліксарен С-107 здатен найефективніше стимулювати гідроліз АТФ [19,20]. Кінетична крива гідролізу АТФ, що індукується каліксареном С-107 має монотонну поведінку з виходом на плато характеризується монотонним перебігом, який має тенденцію до виходу на плато з часом [20].

Залежність реакції гідролізу АТР каліксареном С-107 показано на Рис. 1.3.

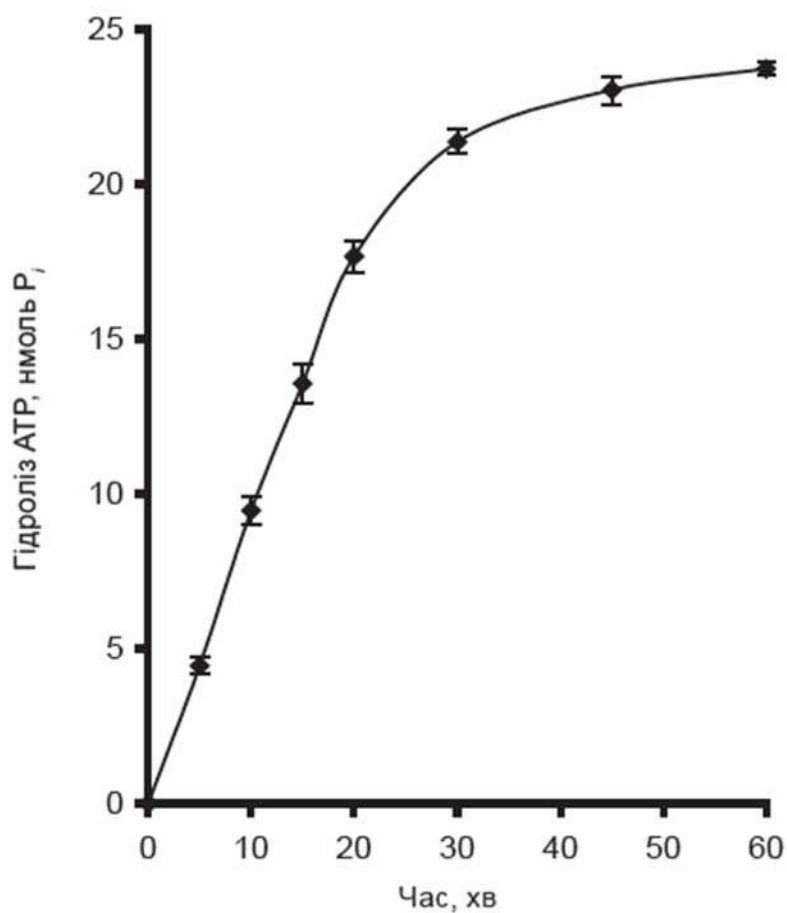


Рис. 1.3. Реакція гідролізу АТР каліксареном С-107 [20].

Кінетика реакції гідролізу є складною і не підпорядковується хімічним процесам нульового та першого порядку. Кінетику реакції гідролізу АТФ з каліксареном можна описати за допомогою емпіричного рівняння [20]:

$$\ln[p/(p_{max} - p)] = -n \cdot \ln\tau + n \cdot \ln t, \quad (1.1)$$

де  $p_{max}$  і  $p$  – максимальна і миттєва кількість продукту реакції,  $\tau$  – характеристичний час (напівнасичення) реакції,  $n = d\ln[p/(p_{max} - p)]/d\ln t$  – логарифмічний декремент крутизни кінетичної кривої (відхилення від гіперболи, якщо  $n = 1$ ).

### 1.3. Структура молекулярних комплексів з АТФ

Комплекси каліксаренів з іонами металів наразі широко досліджуються, оскільки мають значний потенціал для застосування в конструюванні різноманітних датчиків та для виявлення і визначення токсичних іонів металів з наступним їх розділенням з захисту навколишнього середовища [21].

При дослідженні комплексів каліксарену з міддю та з іонами цинку виявлено, що каліксарен, що містить чотири імінохінолінові одиниці, діє як флуоресцентний хемосенсор; він показує сильну флуоресценцію в присутності іонів  $\text{Cu}^{2+}$ . Для порівняння, комплекс, в якому каліксарен містить лише дві імінохінолінові одиниці, має слабшу інтенсивність флуоресценції, дивись Рис.1.4.

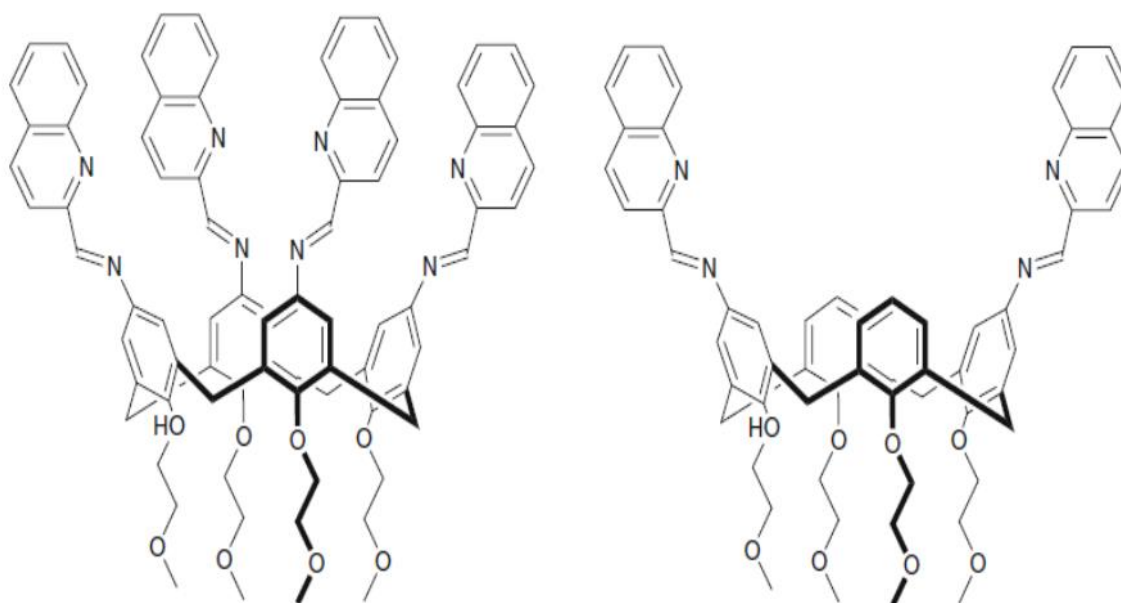


Рис.1.4. Комплекси каліксаренів з 2 та 4 імінохіноліновими одиницями [21].

Відомо, що активація диоксигену в металевому центрі для функціональності зв'язку С–Н відіграє вирішальну роль як в біології, так і в хімії. У випадку ферментів міді, процес активації пари  $\text{Cu(II)/Cu(I)}$  відбувається в динуклеарному або в мононуклеарному центрі.

Основними джерелами продукції АТФ в клітинах є гліколіз і мітохондрії фосфорилування на окисному або субстратному рівні [22, 23]. Зважаючи на те, що молекула АТФ містить ароматичну структуру, це впливає на вигляд спектру поглинання максимум якого становить 260 нм, Рис.1.5.

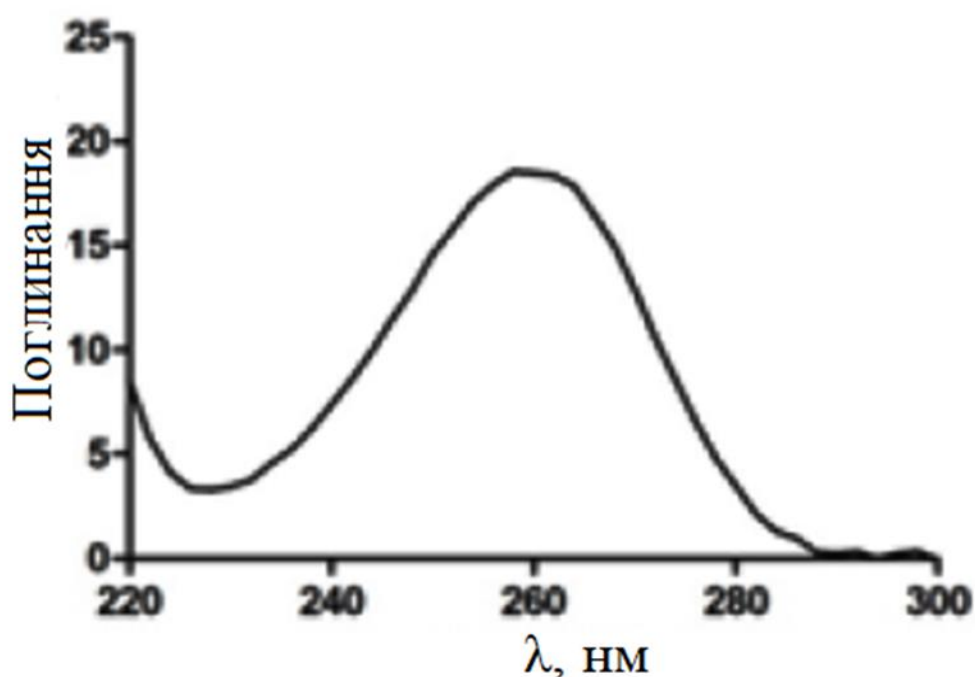


Рис.1.5. Спектр поглинання розчину АТФ (40 μM) [23].

Пік збудження біля 254 нм відповідає поглинанню ароматичного кільця молекули.

У роботі [14] досліджено ряд із 26 3-гідроксихромонів, трьох біс-флавонолів і чотирьох 3-гідроксихінолонів для оцінки їх флуоресцентної відповіді на взаємодію з АТФ у буфері. Схематичне зображення даного процесу наведено на Рис. 1.6. Барвники відрізнялися загальним зарядом, розміром і кількістю їх ароматичних одиниць, а також положенням або електронодонорною здатністю їх замісників. Вказано, що всі вони утворюють комплекси з АТФ зі стехіометрією 1:1 і 1:2, про що свідчить їх яскрава флуоресценція та смуга збудження з червоним зміщенням 3000-6000  $\text{cm}^{-1}$ .

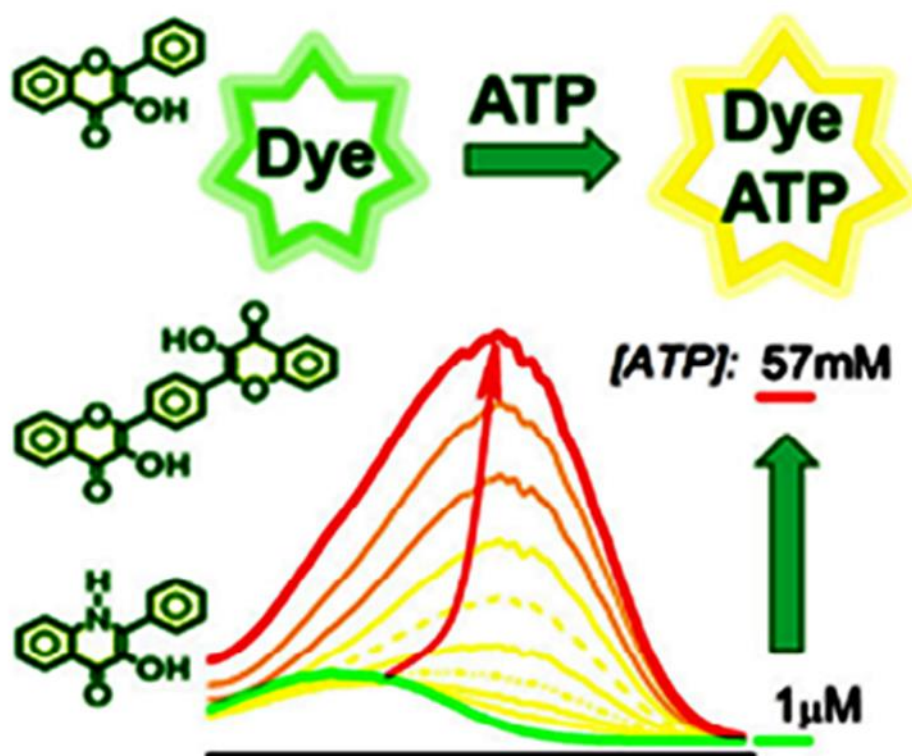


Рис.1.6. Схема утворення флуоресцентного комплексу АТФ-барвник [14].

Ці флуоресцентні комплекси дозволяють виявити концентрації АТФ понад 3 порядки величини, тоді як більшість інших відомих зондів охоплюють не більше двох порядків. Загалом барвники дозволяють виявити АТФ від 0,001 до 57 мМ. Крім того, більшість комплексів барвник-АТФ можна збуджувати у видимій частині спектра, а контролювати – у червоній, Рис.1.6.

Видно, що за спектрами збудження і емісії є можливість вимірювання концентрації АТФ в розчинах за збільшенням інтенсивності флуоресценції, або за коефіцієнтом флуоресценції найменші за розміром барвники з серії 1a-d і 2a-e є найкращими кандидатами, оскільки вони є найбільш чутливими до АТФ (Рис. 1.6А), Більшість інших барвників придатні для раціометричного визначення АТФ, маючи великий (до  $5500\text{ cm}^{-1}$ ) зсув смуги збудження вільного та зв'язаного барвника.

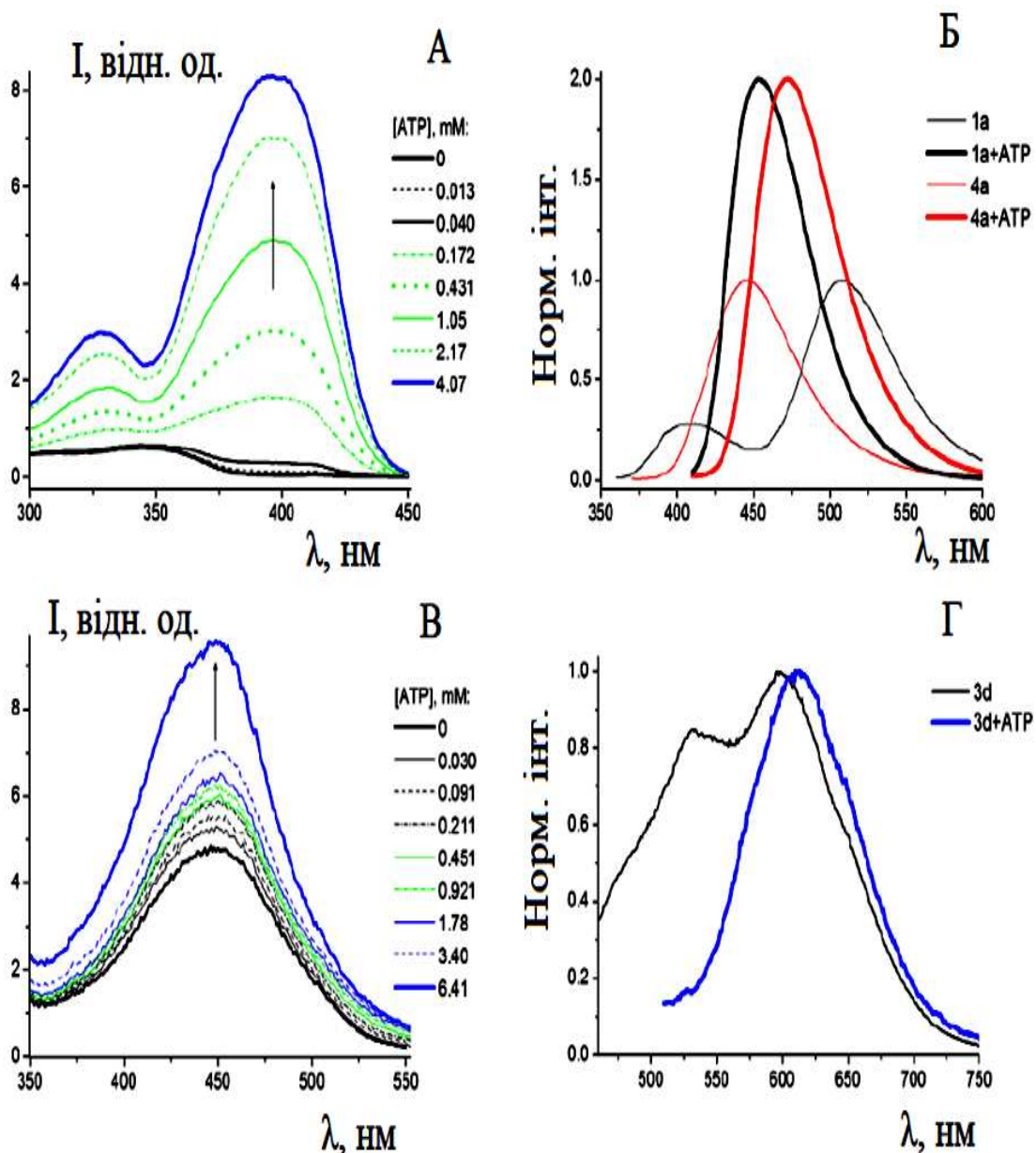


Рис.1.6. Спектр збудження (А, В) і емісії (Б, Г) барвників у присутності АТФ. (А) Спектри збудження барвника 1а з підвищенням концентрації АТФ.  $\lambda_{\text{ем}}=460$  нм. (Б) Спектри емісії барвників 1а і 4а за відсутності та присутності АТФ. Для 1а:  $\lambda_{36} = 360$  нм (вільний барвник) і 400 нм у присутності АТФ ( $C_{\text{АТФ}} = 4$  мМ). Для 4а:  $\lambda_{36} = 360$  нм (вільний барвник) і 415 нм ( $C_{\text{АТФ}} = 7$  мМ). (В) Спектри збудження барвника 3d зі збільшенням концентрації АТФ.  $\lambda_{\text{ем}} = 600$  нм. (Г) Спектри емісії 3d за відсутності та присутності АТФ.  $\lambda_{\text{ем}} = 450$  нм для вільного барвника та 488 нм для зв'язаного АТФ ( $C_{\text{АТФ}} = 6,4$  мМ). [14].

Припускалося, що АТФ у комплексі з барвником стабілізується стекінг- і електростатичними взаємодіями [24-26]. Між барвником і АТФ спостерігалися комплекси 1:1 і 1:2, найбільш флуоресцентним був комплекс 1:2.

Існує великий попит на розробку молекулярних зондів, необхідних для моніторингу та візуалізації АТФ у клітинах і тканинах, а відтак дослідження комплексів АТФ з іонами різноманітних металів. Зв'язування АТФ з іонами металів відбувається через трифосфатні залишки АТФ (Рис.1.7.) [1].

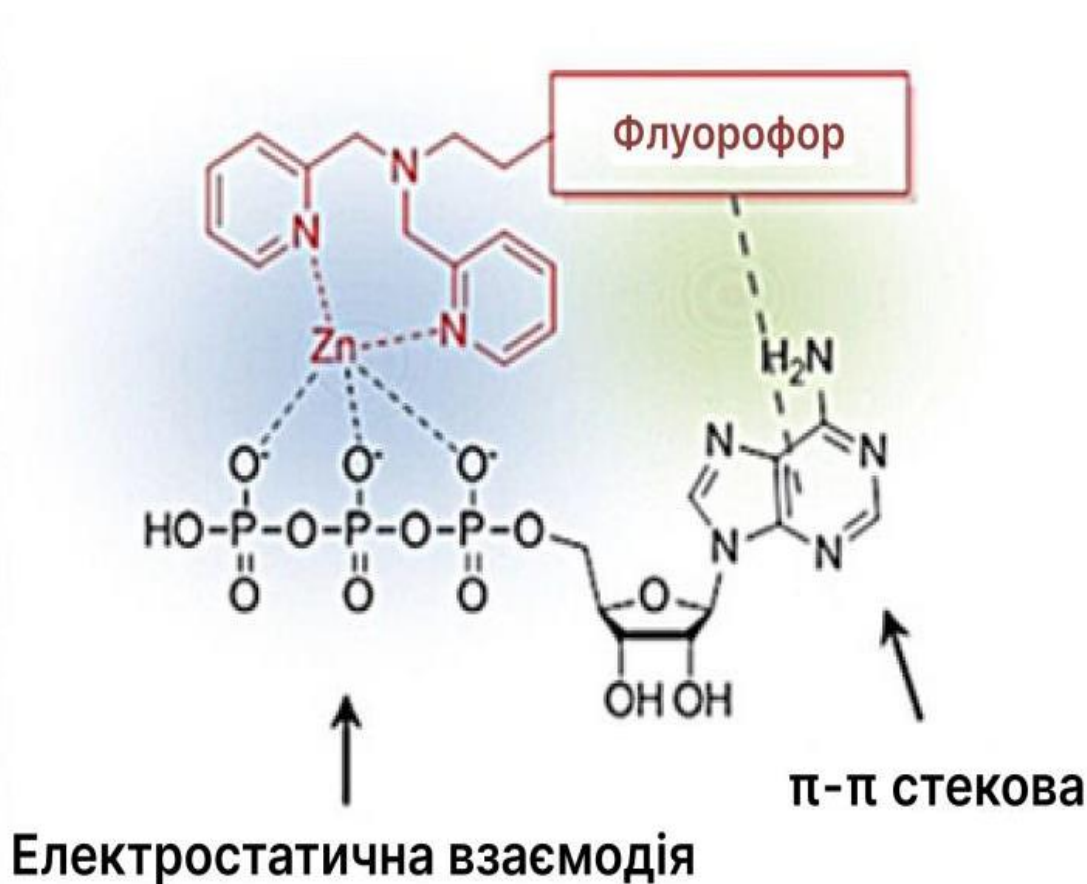


Рис. 1.7. Зв'язування АТФ з іонами металів [1].

Взаємодія іону з аденіном і фосфатним залишком сприяє перебудові ІЧ-спектрів в комплексі АТФ-Тб. Характерними в спектрі є піки біля  $966\text{ см}^{-1}$  і  $908\text{ см}^{-1}$ , характерні для Р-ОН зв'язку у АТФ-Тб комплексі, Рис.1.8.

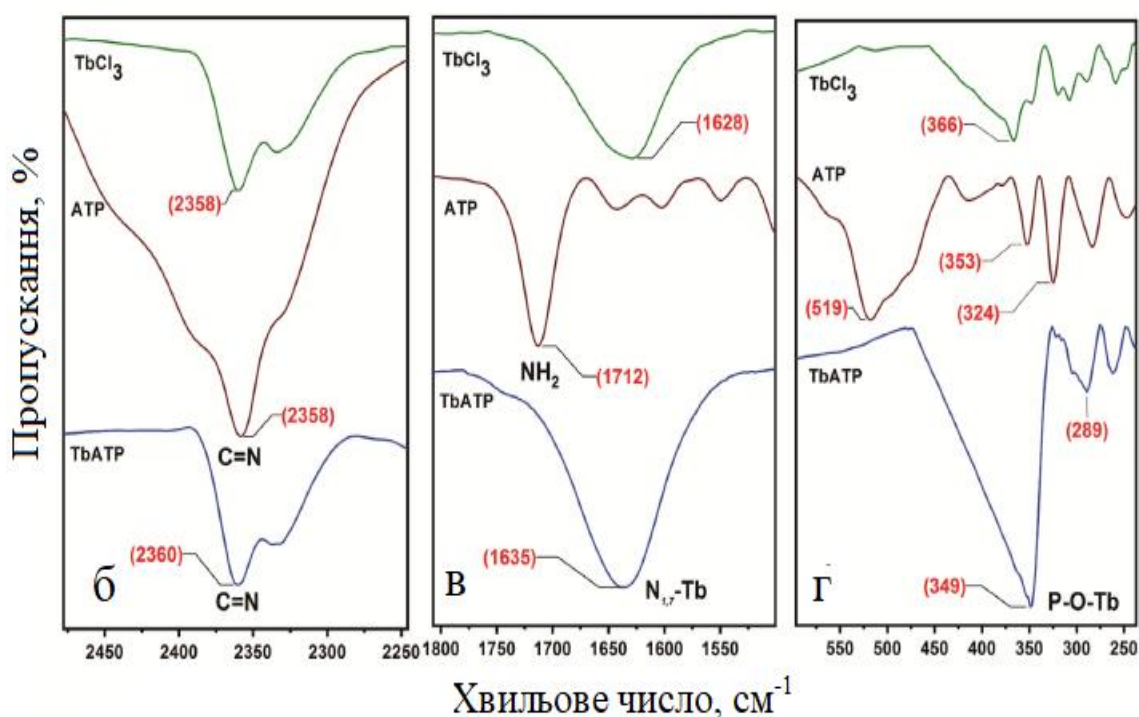
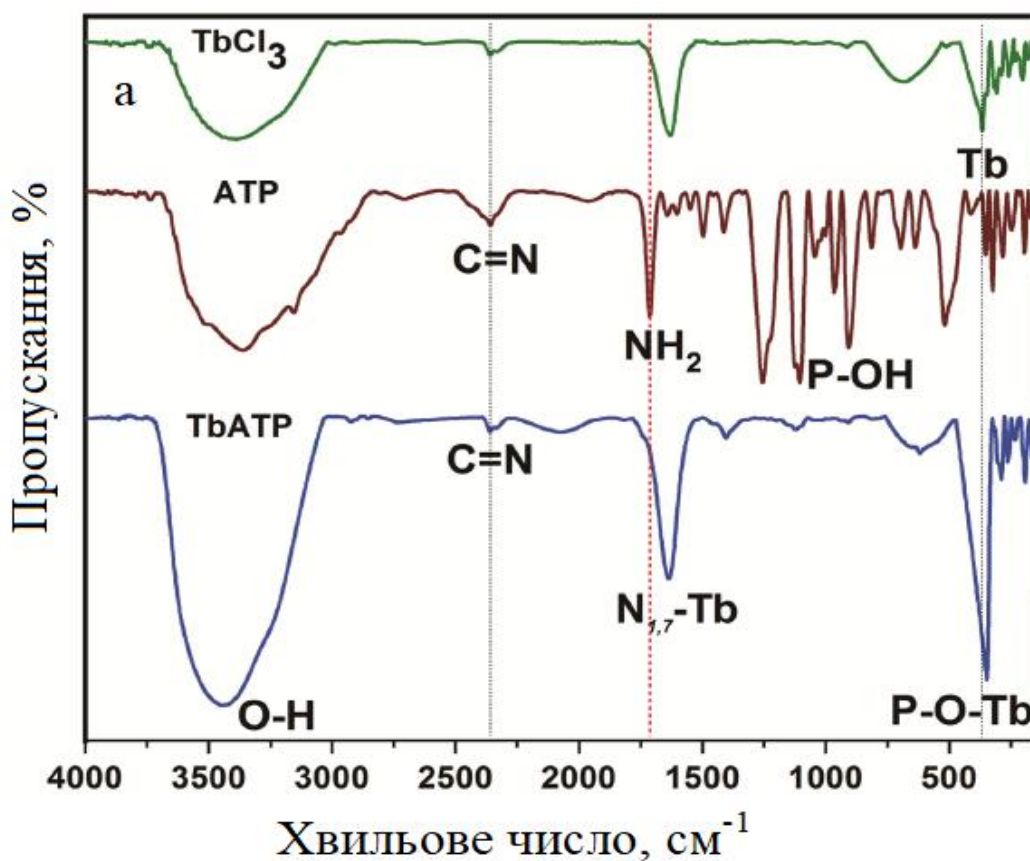


Рис. 1.8. ІЧ-спектр TbCl<sub>3</sub>, ліганду АТФ і комплексу Тб-АТФ, (а) ІЧ- спектр в діапазоні хвильових чисел 4000–200 см<sup>-1</sup> (б) ІЧ-спектр в діапазоні хвильових чисел = 2450–2250 см<sup>-1</sup> (в) ІЧ-спектр в діапазоні хвильових чисел = 1800–1500 см<sup>-1</sup> (г) ІЧ- спектр в діапазоні хвильових чисел = 600–200 см<sup>-1</sup> [28]

Широка смуга, що спостерігається біля  $3444\text{ см}^{-1}$ , може бути пов'язана з деформаційними коливаннями групи  $-\text{OH}$ . Пік на частоті  $2358\text{ см}^{-1}$  в ліганді АТФ дещо зміщується до  $2360\text{ см}^{-1}$ , що вказує на наявність зв'язку  $\text{C} = \text{NH}^+$ . У ліганді АТФ є пік обертопу штаму  $\text{C}-\text{H}$   $1712\text{ см}^{-1}$ , а саме коливання аденіну, який змістився до  $1635\text{ см}^{-1}$  в комплексі АТФ-Ть. Пік на ліганді АТФ  $1643\text{ см}^{-1}$  показує наявність зв'язку  $\text{C} = \text{N}$ , який змістився до  $1635\text{ см}^{-1}$  з більшою інтенсивністю в комплексі АТФ-Ть, що вказує на координацію атомів Нітрогену N1 і N7 як донорів електронів у металі тербію. Пік біля  $1712\text{ см}^{-1}$  в ліганді АТР показує амінну групу  $\text{NH}_2$ , що зустрічається в області  $1660\text{--}1590\text{ см}^{-1}$ , але зміщується в області  $1635\text{ см}^{-1}$  для комплексу АТР-Ть. Дві сильні смуги в областях  $1124\text{ см}^{-1}$  і  $1255\text{ см}^{-1}$  вказують на наявність груп  $\text{P} = \text{O}$  в ліганді АТФ. Однак цей пік не спостерігався в металі тербію, тоді як у комплексі АТР-Ть він зазнав зсуву до частоти  $1120\text{ см}^{-1}$  з утворенням піку слабкої інтенсивності. Спектральні зміни коливань фосфатної групи вказують на пряму взаємодію металу Ть з фосфатною групою. [27,28].

Дуже важливе значення має формування комплексів АТФ з іонами  $\text{Ag}$ , вони характеризуються низькою токсичністю та антибактеріальними властивостями. Спектр люмінесценції комплексу  $\text{Ag}/\text{Ado}$  в твердому стані показує три смуги: дві високої інтенсивності біля  $474$  і  $498\text{ нм}$  та низької інтенсивності біля  $600\text{ нм}$ . Спектри люмінесценції водних розчинів також показують три смуги (Рис.1.9); смуга  $452\text{ нм}$ , асиметрична смуга при  $506\text{ нм}$  і смуга низької інтенсивності при  $610\text{ нм}$ , інтенсивність яких змінюються зі збільшенням кількості іонів  $\text{Ag}^+$ . Найбільша інтенсивність люмінесценції була отримана в системі з  $\text{Ado}$  і  $\text{Ag}^+$  в молярному співвідношенні 1:1 (концентрації аденозину і іонів срібла становили  $1 \cdot 10^4\text{ М}$ ). Подальше збільшення концентрації іонів срібла не спричинили істотних змін інтенсивності. Таким чином, спектри люмінесценції приписуються тільки пуриновому кільцю аденозину, тобто іони  $\text{Ag}^+$  координуються до донорних атомів пуринових основ [29]. Утворення комплексу  $\text{Ado} / \text{Ag}^+$  також підтверджується зсувами в спектрах поглинання та ЯМР-спектрах. [30-32].

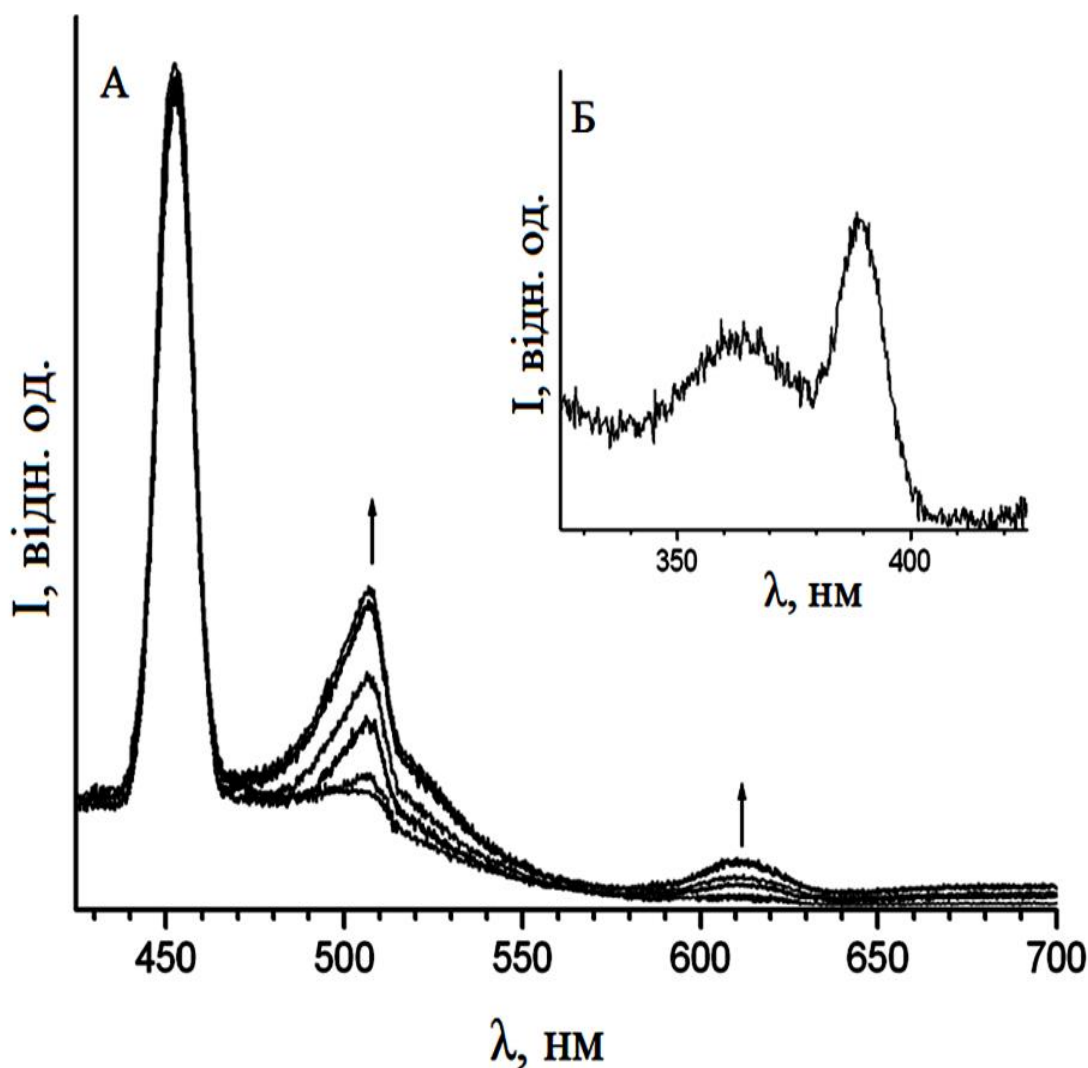


Рис.1.9. Спектри люмінесценції аденозину за різних концентрацій  $\text{Ag}^+$  (А) і спектр збудження аденозину (Б);  $C_{\text{Ado}}=1 \cdot 10^{-4}$  М;  $[\text{Ag}^+]=0, 2,5 \cdot 10^{-5}, 5 \cdot 10^{-5}, 7,5 \cdot 10^{-5}, 1 \cdot 10^{-4}$  і  $1,2 \cdot 10^{-4}$  М [29].

Складну електрохімічну поведінку АМФ і АТФ на срібному сітчастому електроді досліджували за допомогою УФ-спектроскопічного методу [33].

На Рис. 1.10. зображено спектри поглинання АМФ (0,4 мМ) і АТФ (0,3 мМ) на срібному сітчастому електроді 0,2 М  $\text{CH}_3\text{COONa}-\text{CH}_3\text{COOH}$  за постійного позитивного потенціалу (500 мВ) від вмісту  $\text{Ag}/\text{AgCl}$ .

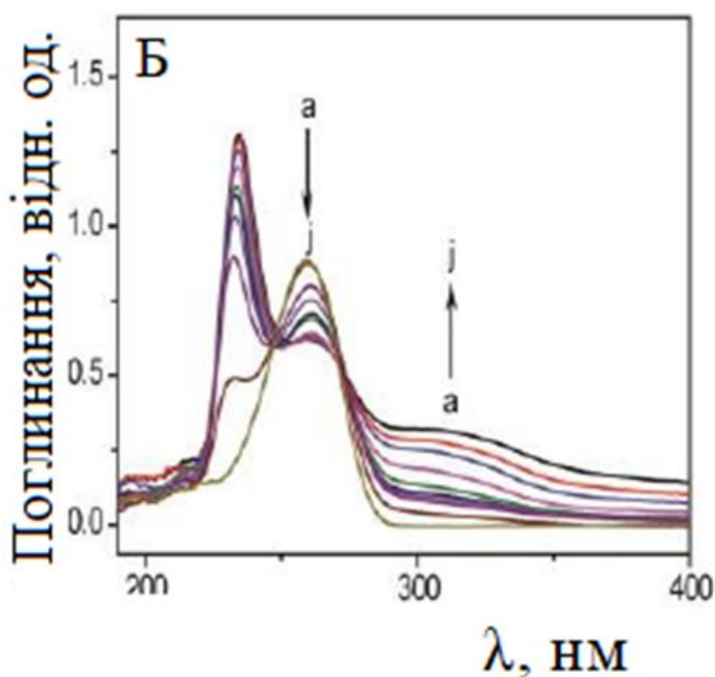
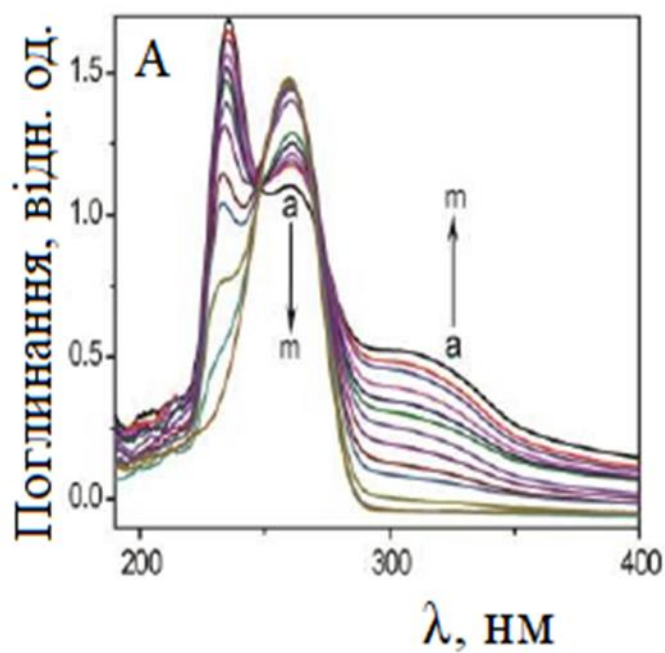


Рис.1.10. Спектроелектрохімічні УФ- спектри А) 0,4 mM АМФ і Б) 0,3 mM АТФ на срібному сітчастому електроді 0,2 М  $\text{CH}_3\text{COONa}$ -  $\text{CH}_3\text{COOH}$  ( $\text{pH}=6,0$ ) при 500 мВ з вмістом  $\text{Ag}/\text{AgCl}$  ( $T=25\text{ }^\circ\text{C}$ ) [33].

Чітко видно дві ізобестичні точки розташовані при 247 і 271 нм (Рис.1.10. А.) та 248 і 272 нм (Рис.1.10.В) для реакції між АМФ і срібною

сіткою та АТФ і срібною сіткою, відповідно. Коли потенціал дорівнює 0 В, немає очевидних змін у формі, положенні та симетрії пік поглинання порівняно з УФ-спектром срібної сітки в ацетатному буфері, що вказує на відсутність реакції. Проте застосований позитивний потенціал (500 мВ) генерує новий пік приблизно на 235 нм, який виникає від окислення срібної сітки, а нова широка смуга близько 310 нм означає утворення комплексу  $\text{Ag}^+$ -АМФ (або  $\text{Ag}^+$ -АТФ). Тим не менш, спостерігається підсилення інтенсивності піку поглинання з центром біля 310 нм. Зростання інтенсивності цього піку в основному зумовлене збільшенням  $\text{Ag}^+$  з утворенням комплексу  $\text{Ag}^+$ -аденіннуклеотид. Таким чином, іон срібла, координований з АМФ або АТФ через свою фосфатну групу. Процес реакції є складним та оборотним. Крім того, різноманітні сайти зв'язування пуринових фрагментів, а саме N-1, N-3 і N-7, можуть бути потенційними координаційними сайтами для утворення комплексу  $\text{Ag}^+$ -АТФ або  $\text{Ag}^+$ -АМФ, коли АМФ або АТФ реагують з  $\text{AgNO}_3$  у воді [33].

Коли  $\text{Mg}^{2+}$  додають до розчину АТФ, емісія зменшується. Найкращою відповідністю експериментальним результатам є експоненціальне спадання (Рис. 1.11.).

Значення  $R^2$  для кривої становило 0,9919. Перша частина асимптотичної кривої спадає швидше, ніж друга частина. Крива швидко спадає за концентрації  $\text{Mg}^{2+}$  від 0 до 45,32 мМ. Після 45,32 мМ крива повільно спадає. Якщо АТФ (20  $\mu\text{M}$ ) і АТФ (20  $\mu\text{M}$ ) плюс  $\text{Mg}^{2+}$  (40  $\mu\text{M}$ ) після взаємодії світла 655 і 830 нм, то АТФ флуоресціює лише після збудження світлом 260 нм. Після 655 або 830 нм не було емісії але це опромінення вплинуло на виміряну флуоресценцію після 260 нм збудження в розчині  $\text{Mg}^{2+}$  АТФ [34].

Також показано, що емісія, яка спостерігається в молекулах аденозин-фосфату (325–500 нм), значно відрізняється за інтенсивністю та діапазоном, ніж флуоресценція в аденіні (300–425 нм). Кількість фосфатів у молекулах здатна зміщувати емісію та змінювати її інтенсивність.

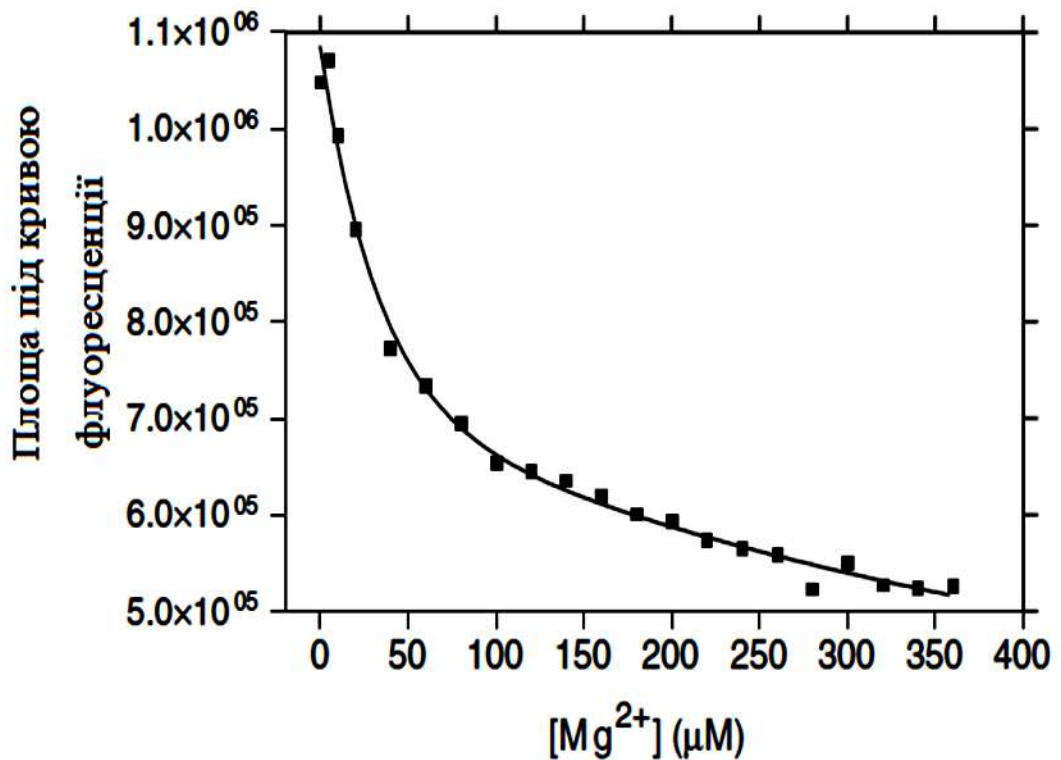


Рис. 1.11. Флуоресценція АТФ за різних концентрацій  $Mg^{2+}$ . Сигнал зменшується експоненціально. Спадання відбувається швидко за низьких концентрацій  $Mg^{2+}$  і повільно за вищих концентрацій [34].

Іон магнію зв'язує два атоми кисню АТФ у фосфатній групі з утворенням комплексу АТФ  $Mg^{2+}$ , який є фактичним субстратом для всіх АТФ-азних реакцій [35-37].

Для функціонування гладеньком'язових клітин ключовим є контроль кальцієвого балансу.  $Ca^{2+}$  є фундаментальною складовою вказаних клітин, оскільки відповідає за процеси розслаблення/скорочення. Кальцієвий баланс забезпечується за допомогою об'єднання АТФ (як ключового протеїну) в комплекс  $Ca^{2+}, Mg^{2+}$ -АТФаза, як  $Ca^{2+}$  помпу плазматичної мембрани для контролю рівня кальцію в клітинах [38-39]. Схема циклу  $Mg^{2+}, ATP$ -  $Ca^{2+}$ - помпи та залежність концентрації  $Ca^{2+}$  в клітинах міометрія від концентрації калікс[4]- арену С-90 показано на Рис.1.12 -1.13.

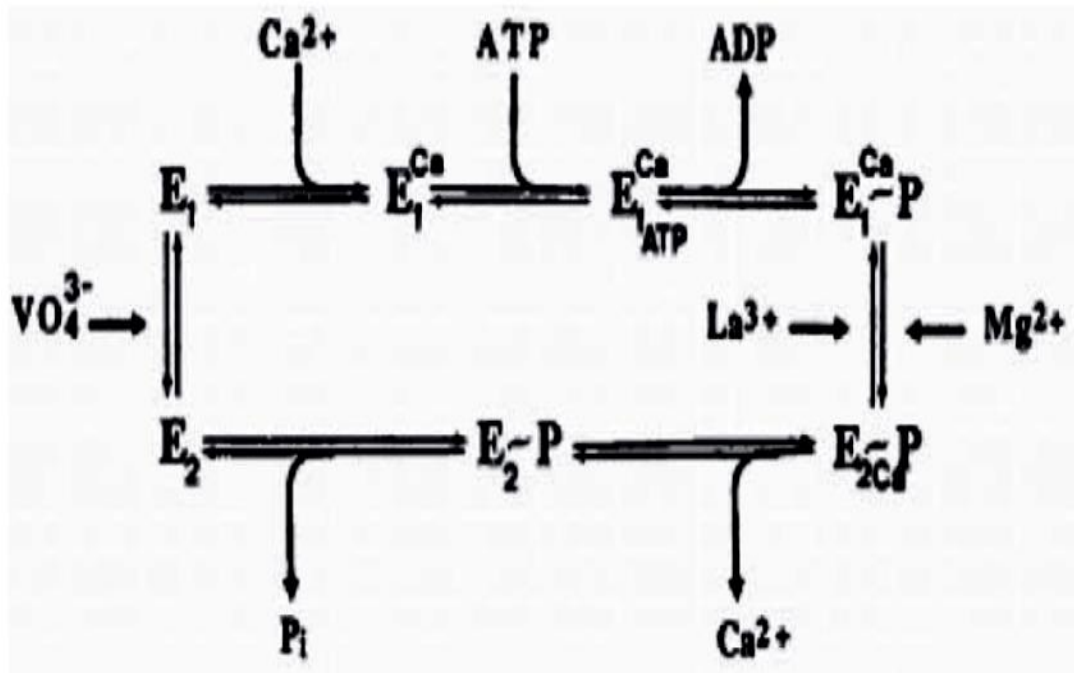


Рис 1.12. Схема циклу Mg<sup>2+</sup>,ATP- Ca<sup>2+</sup>-помпи [38].

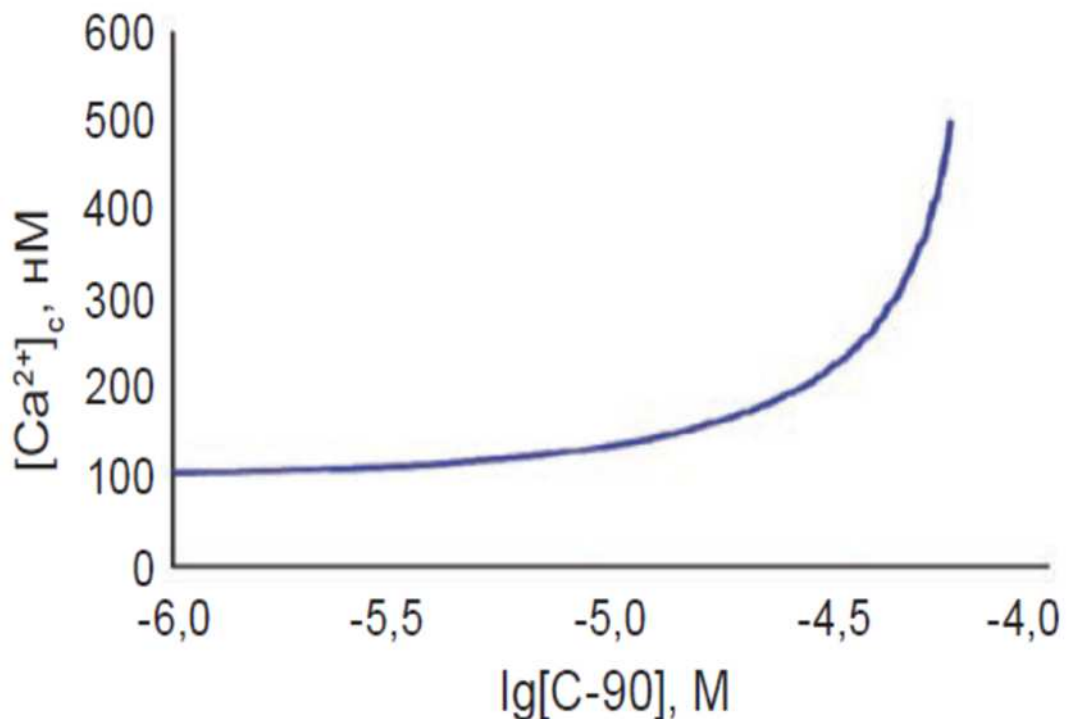


Рис. 1.13. Залежність рівноважної концентрації Ca<sup>2+</sup> у клітинах міометрія від концентрації калікс[4]-арену С-90 (10,5 = 20 мкМ) [38].

Вважається, що структурні зміни в різних конформаціях Ca<sup>2+</sup>-помпи визначають різну спорідненість до Ca<sup>2+</sup> та, відповідно, після гідролізу в

позаклітинному середовищі відбувається вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$ [40-43]. Очевидно, що криві для різних тканин мають різні значення для контролю та зміни  $\text{Ca}^{2+}$ [44-46].

Як зазначалося, останнім часом велика увага приділяється приділяється каліксаренам, як сполукам з малою токсичністю, Рис.1.12.

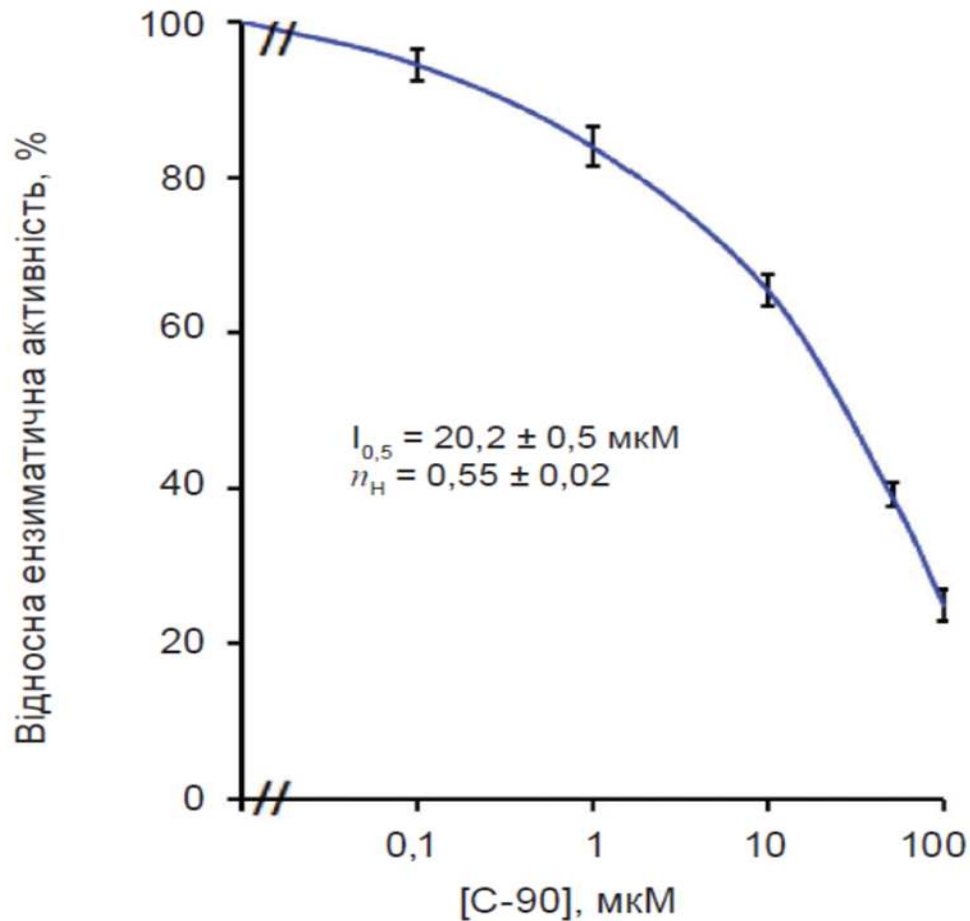


Рис. 1.14. Концентраційна залежність калікс[4]арену С-90 на відносну ензиматичну активність  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФ в клітинах міометрія ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ) [39].

Вони показують мембранотропну дію, добре проникають крізь помпи та є активаторами і інгібіторами ензиматичних, транспортних і рецепторних мембранозв'язаних протеїнів, вони гальмують адгезію клітин, загальмовують процеси росту пухлин і тд. Таким чином, калікс[4]арен С-90 є перспективним інгібітором для  $\text{Mg}^{2+}$ , АТФ-  $\text{Ca}^{2+}$ -помпи [47–50].

#### 1.4. Комп'ютерне моделювання комплексів АТФ з металами

Як зазначалося [17], чаша каліксаренів має змінний розмір і достатньо велика, щоб вмістити аніони, катіони або нейтральні молекули, включаючи біологічно важливі молекули. Це, разом із їхньою здатністю захоплювати молекули «гостя» за допомогою нековалентних взаємодій представляє широкий інтерес, Рис. 1.15.

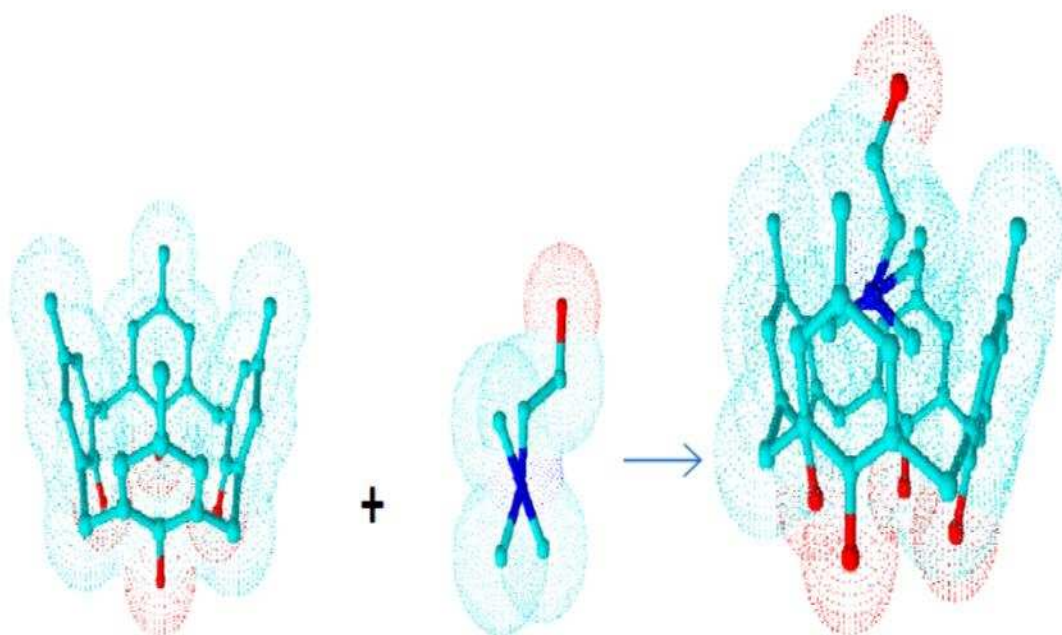


Рис. 1.15. Тривимірне зображення процесу комплексоутворення калікс[4]аренів [17].

Також каліксарени є універсальними лігандами, що добре підтримують кластери. Повідомлялося [51], що *p-t*-бутилтіакалікс[4]арен підтримує  $\text{CaMn}_2$  і  $\text{Ca}_2\text{Mn}_2$  кластери, тоді як *p-t*-бутилкалікс[4]арен, *p-t*-бутилсульфінілкалікс[4]арену та *p-t*-бутилсульфонілкалікс[4]арен за тих самих умов утворювали лише гомометалічні комплекси марганцю. Структури комплексів Ca-Mn наведено на Рис.1-16-1.17.

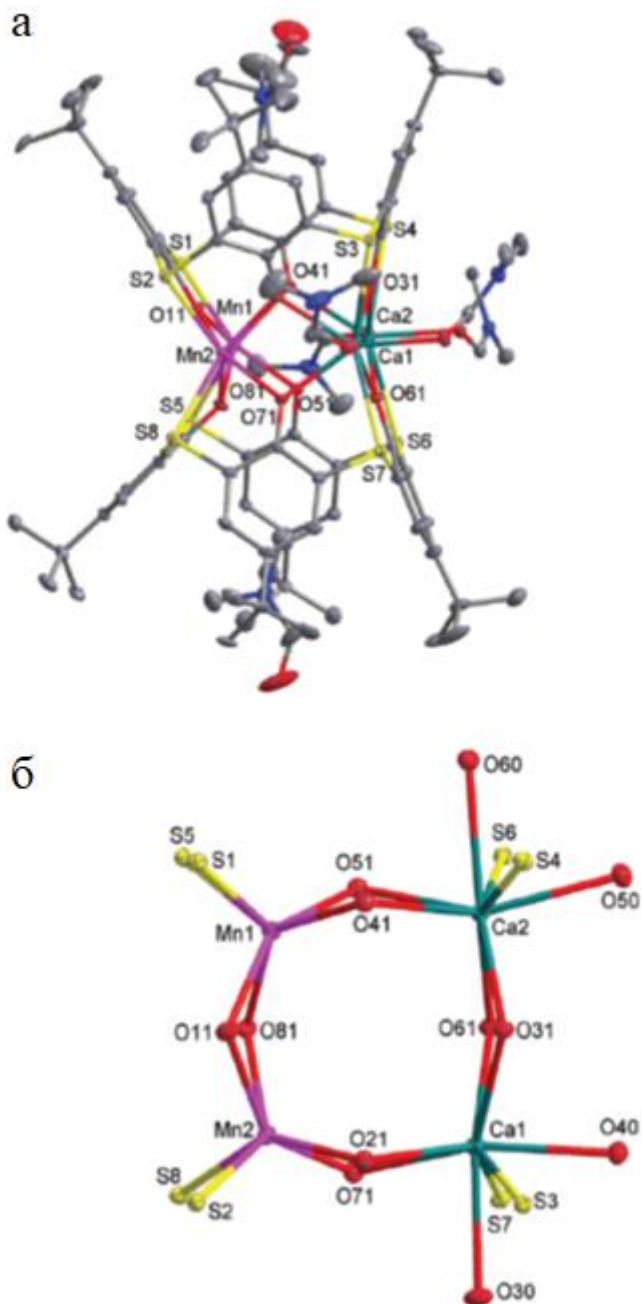


Рис. 1.16 (а) Зображення структури комплексу  $[\text{Mn}_2(\text{Ca}\cdot 2\text{dmf})_2(\text{LS})_2] \cdot 3\text{dmf}$ . Молекули  $\text{dmf}$  входять до складу чаші каліксарену. Атоми Гідрогену були опущені. Еліпсоїди нарисовані з 30% ймовірністю. (б) Ядро комплексу [51].

Комплекс типу «сендвіч», з двома каліксареновими лігандами, розташованими по обидва боки від площини, визначеної трьома металевими центрами.

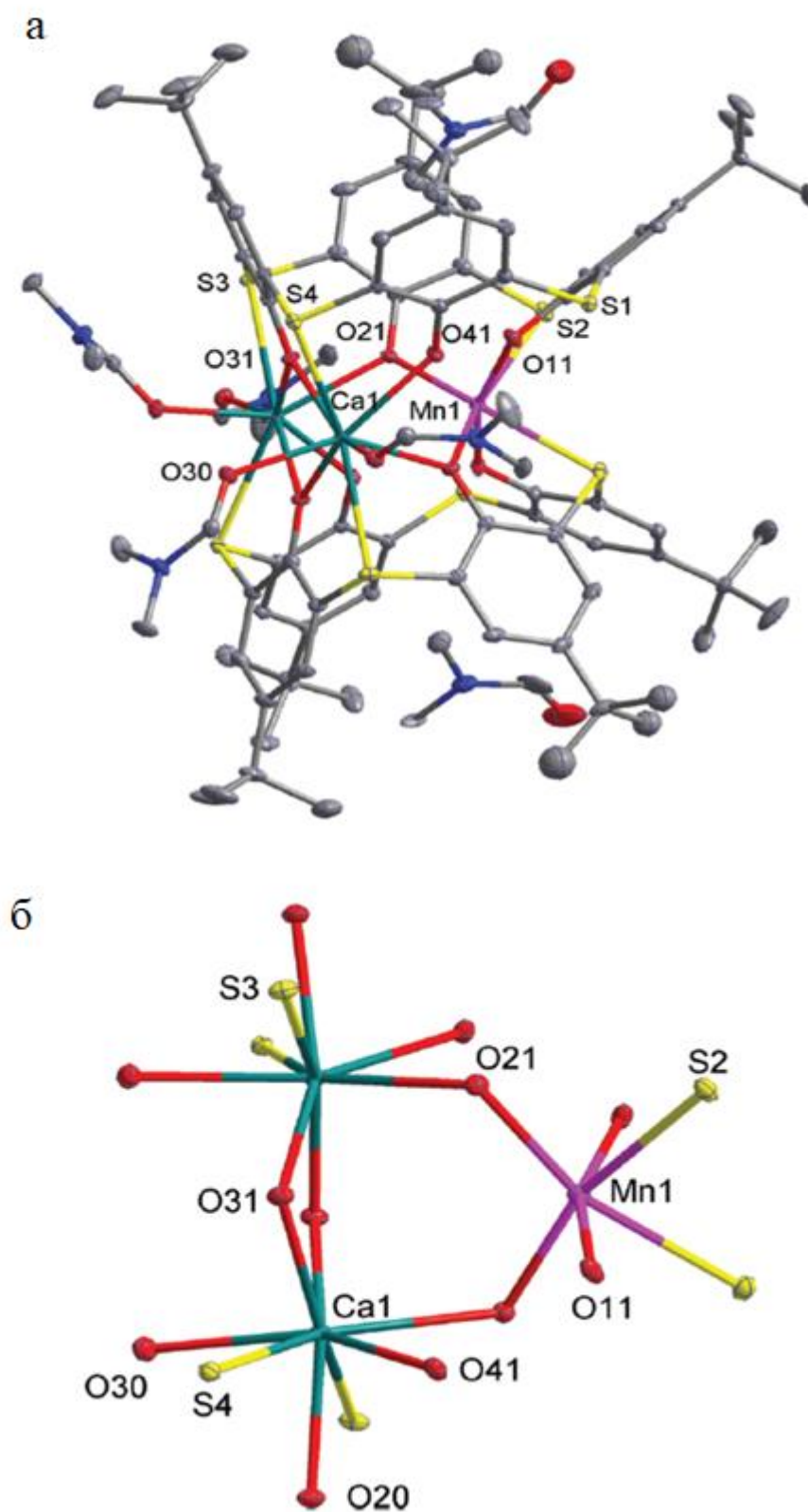


Рис. 1.17 (а) Зображення структури комплексу  $[\text{Mn}-(\text{Ca}\cdot 2\text{dmf})_2(\text{HLS})_2]$ , молекули  $2\cdot\text{dmf}$  входять до складу чаші каліксарену. Атоми Гідрогену були опущені. Еліпсоїди нарисовані з 30% ймовірністю. (б) Ядро комплексу [51].

Середовища двох атомів кальцію досить схожі. Імовірно, два каліксаренові ліганди не копланарні через різні радіуси металевих центрів, з кутом між двома площинами S4, що становить  $14,29(2)^\circ$  [51]. Отримана структура схожа на раніше зареєстрований комплекс Mn/Gd  $[\text{Mn}_2(\text{Gd}(\text{CH}_3\text{OH})_2)(\mu_4\text{-OH})(\text{LS})_2]$  [52].

Авторами [8] підтверджено координацію в комплексі Ag(Nuc). теоретичними розрахунками за програмою GAUSSIAN (DFT/B3LYP: рівень lanL2DZ). Отриману структуру розчину представлено на Рис. 1.18.

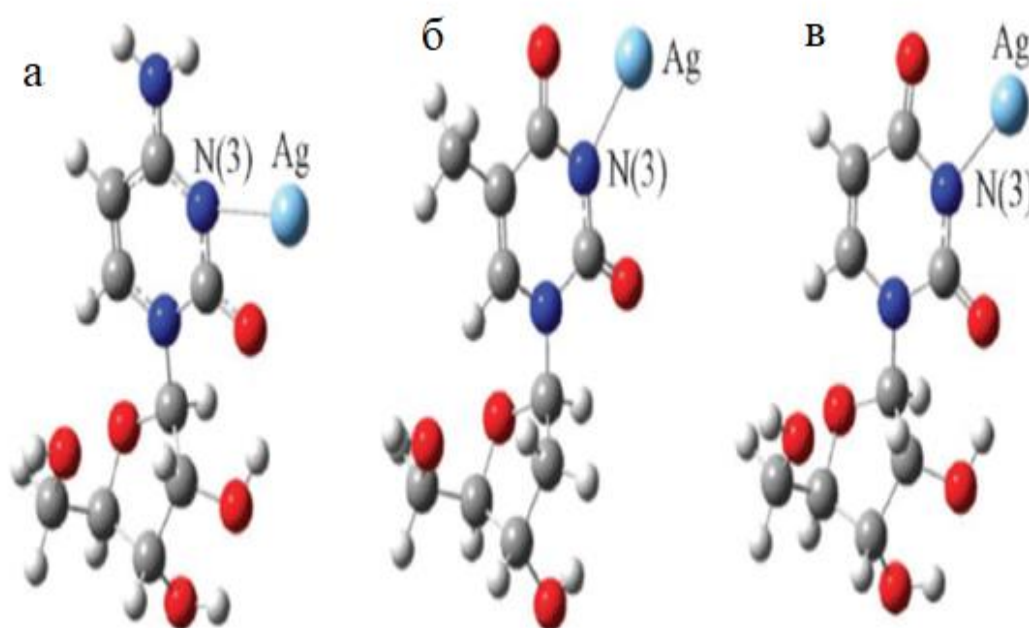


Рис. 1.18 Оптимізовані структури комплексів ML з піримідиновими нуклеозидами (довжини зв'язку  $\text{N}(3)\text{-Ag}^+$  для різних комплексів дорівнюють вказано під кожною структурою: (a) Ag(Cyd); (b) Ag(Thd); (c) Ag(Urd) [8].

Розрахунки методом DFT для комплексу Ag(Ado) вказують на те, що лише з N(7) в системі формується координація (Рис. 1.19).

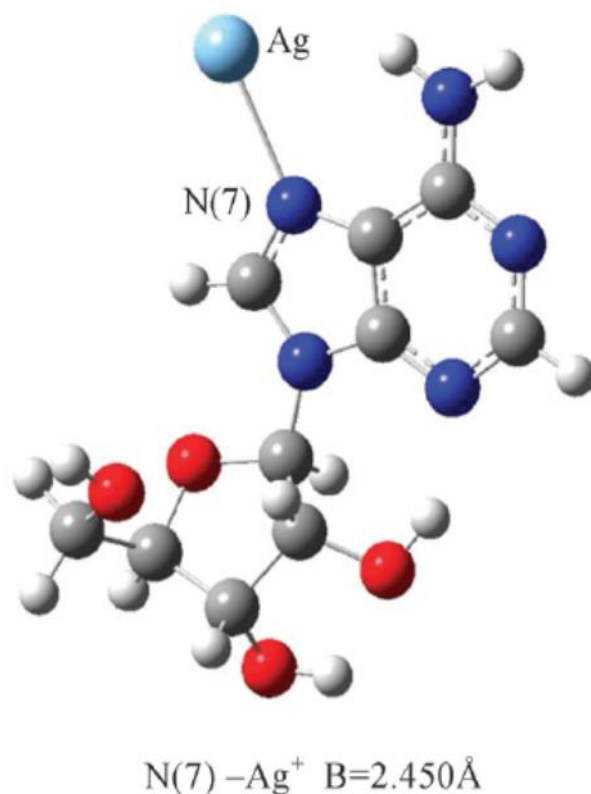


Рис. 1.19. Оптимізована структура комплексу ML з координацією через атом N(7) (довжина зв'язку N(7)–Ag<sup>+</sup> вказана внизу) [8].

В [28] експериментально та теоретично вивчено енергетичну структуру комплексу АТР-Тб, Рис.1.20.

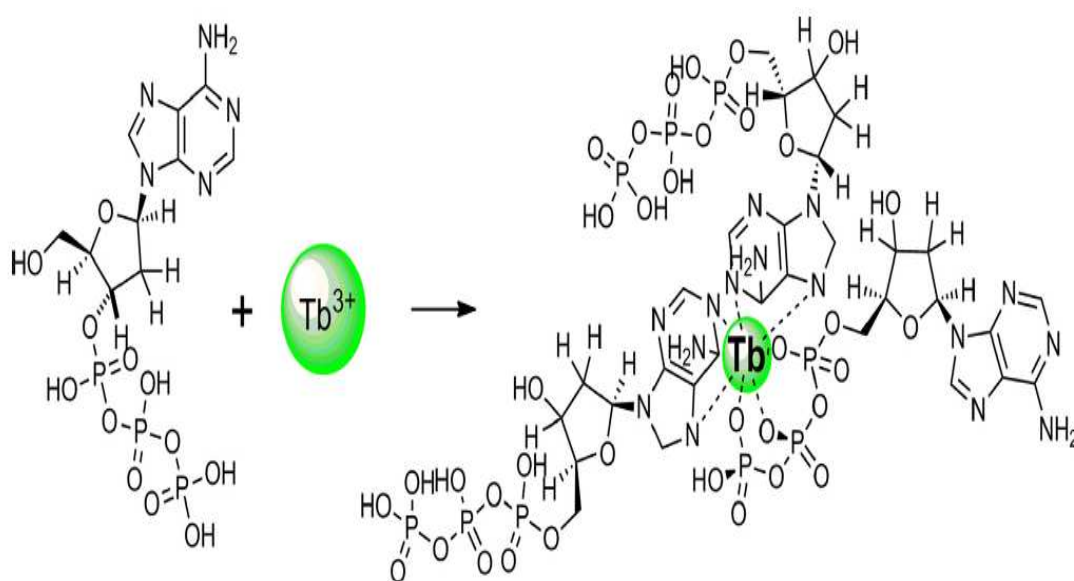


Рис.1.20. Схема формування комплексу АТР-Тб [28].

Різниця енергій (енергетична щілина  $E_{gap}$ ) між найнижчою незаповненою молекулярною орбіталлю (LUMO) і найвищою заповненою молекулярною орбіталлю (HOMO) розраховувалася за допомогою програмного забезпечення Chemdraw ultra версії 12. Провідність металевих комплексів перевірялася за енергетичними зонами, Рис.1.21.

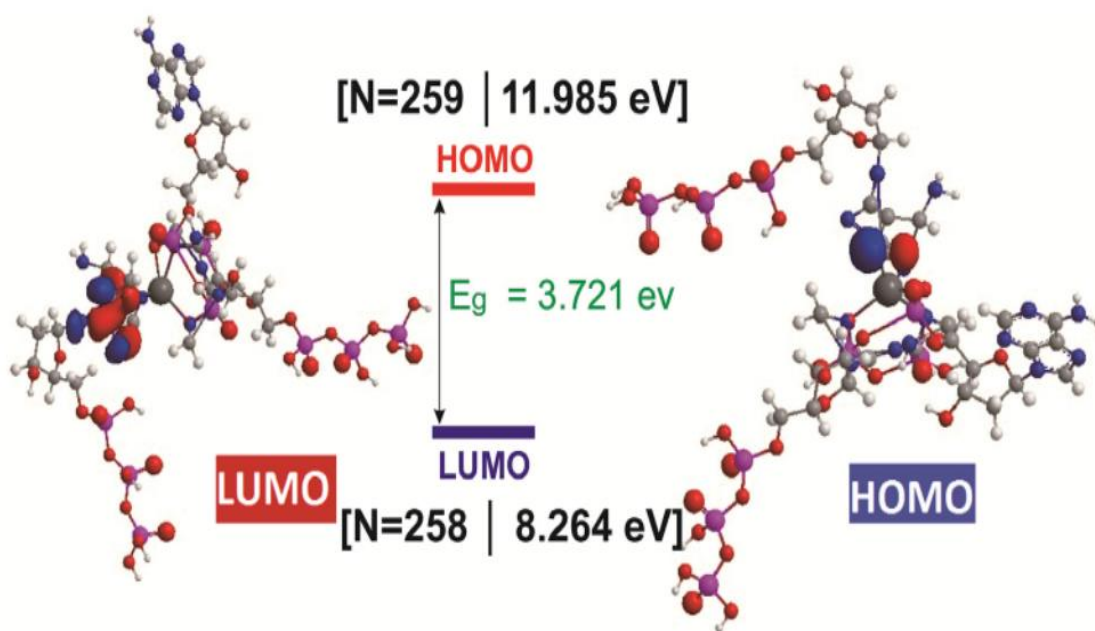


Рис.1.21. Орбітальні енергії (eV) комплексу АТР-Тб [28].

Розрахунок ширини забороненої зони згідно рівняння (1.2.):

$$E_{gap} = E_{LUMO} - E_{HOMO} \quad (1.2)$$

З додаванням певних концентрацій тербію відбувається зменшення значення енергії забороненої зони з 4,53 до 4,2 eV, згідно з обчисленнями значень енергії HOMO-LUMO. Електронні та фізичні характеристики комплексу АТР-Тб можна легко контролювати шляхом вибору відповідного молярного співвідношення [28, 53-55].

В розділі 1 наведено літературний огляд АТФ, каліксаренів та їх комплексів з іонами металів. Представлено структуру, властивості, компютерне моделювання вказаних комплексів. Обгрунтовано важливість застосування розглянутих систем.

## РОЗДІЛ 2

### МЕТОДИКА ЕКСПЕРИМЕНТУ

#### 2.1. Матеріали та приготування розчинів

1. **Калікс[4]арен С-107** (5,17-ди(фосфоно-2-піридилметил)аміно-11,23-ди трет-бутил-26,28-дигідрокси-25,27-дипропоксикалікс[4]арен) порошок синтезований у відділі хімії фосфоранів Інституту органічної хімії НАН України (Veklich et al. 2006). Водні розчини АТФ (“Sigma”, США) з постійно концентрацією  $1 \times 10^{-4}$  М, готувалися на бідистильованій воді, яка мала питому електропровідність не більше 1,5 мкСм/см, рН=6,5. Калікс[4]арен С-107 розчиняли в ДМСО (“Sigma”, США), який потім розводили водою до концентрації калікс[4]арену  $1 \times 10^{-4}$  М. Концентрація АТФ у водних розчинах системи АТФ - С-107 була постійною ( $1 \times 10^{-4}$  М), а концентрація калікс[4]арену С-107 становила  $1 \times 10^{-5}$  М,  $3 \times 10^{-5}$  М,  $5 \times 10^{-5}$  М,  $7 \times 10^{-5}$  М,  $1 \times 10^{-4}$  М,  $5 \times 10^{-5}$  М.

2. **Порошок калікс[4]арену С-107** (5,17-ді(фосфоно-2-піридилметил)аміно-11,23-ди-трет-бутил-26,28-дигідрокси-25,27-дипропоксикалікс[4]арен) (синтезований у відділі хімії фосфору Інституту органічної хімії НАН України (Веклич та ін. 2006).

Речовину калікс[4]арен С-107 розчиняли в ДМСО (Sigma, США) (з концентрацією (5%)), який розбавляли водою до концентрації калікс[4]арену  $1 \times 10^{-4}$  М при рН 7,4 та рН 6,5.

Концентрація молекул АТФ (порошок Sigma Aldrich/Merck) становила  $1 \times 10^{-4}$  М та  $3 \times 10^{-4}$ . Використовували двічі дистильовану воду з питомою електропровідністю не більше 1,5 мкСм/см, рН 6,5.

3. **Комплекси АТФ - AgNO<sub>3</sub>**. АТФ (порошок Sigma Aldrich/Merck). Концентрація молекул АТФ становила  $1 \times 10^{-4}$  М та  $3 \times 10^{-4}$ . Використовувалася двічі дистильована вода з питомою електропровідністю не більше 1,5 мкСм/см, рН 6,5. Концентрація солі AgNO<sub>3</sub> у комплексах змінювалася від  $1 \times 10^{-4}$  М до  $1 \times 10^{-3}$  М, рН 5,8. Дослідження комплексів

АТФ -  $\text{AgNO}_3$  проводилося як при постійних температурах ( $20^\circ\text{C}$ ), так і при змінних ( $20^\circ\text{C}$ ,  $30^\circ\text{C}$ ,  $40^\circ\text{C}$ ).

4. *Комплекси АТФ- $\text{MgCl}_2$  та  $\text{CaCl}_2$ .* АТФ Порошок (порошок Sigma Aldrich/Merck). Концентрація молекул АТФ становила  $1 \times 10^{-4}$  М та  $3 \times 10^{-4}$ . Використовувалася двічі дистильована вода з питомою електропровідністю не більше  $1,5$  мкСм/см, рН 6,5. Концентрація  $\text{Mg}^{2+}$  у комплексах змінювалася від  $1 \times 10^{-4}$  М до  $1 \times 10^{-3}$  М, рН 5,8. Концентрація  $\text{CaCl}_2$  у комплексах змінювалася від  $1 \times 10^{-4}$  М до  $1 \times 10^{-3}$  М, рН 5,8.

Дослідження комплексів АТФ -  $\text{MgCl}_2$  та  $\text{CaCl}_2$  проводилося як при постійних температурах ( $20^\circ\text{C}$ ), так і при змінних ( $20^\circ\text{C}$ ,  $30^\circ\text{C}$ ,  $40^\circ\text{C}$ ).

## 2.2. Методи спектральних досліджень розчинів

### 2.2.1. Оптичне поглинання

Спектри оптичної густини вимірювалися за допомогою спектрофотометра UV-1900 (UV/Vis) виробництва Масу (Шанхай, Китай), Рис.2.1.



Рис. 2.1. Спектрофотометр UV-1900 (UV/Vis) [56].

Технічні характеристики приладу наведено в Таблиці 2.1.

Таблиця 2.1.

*Характеристики спектрофотометра UV-1900 (UV/Vis).*

Діапазон довжин хвиль	190~1100 нм
Ширина смуги	1.8 нм (UV-1800) 1.0 нм (UV-1800A) 0,5 нм / 1 нм / 2 нм / 4 нм (UV-1800S)
Точність довжини хвилі	±0,3нм
Повторюваність довжини хвилі	≤0.1нм
Фотометрична точність	±0,3% τ (0-100%τ) ±0,002A(0~0.5A) ±0,003A(0.5A~1A)
Фотометрична повторюваність	±0,15% τ (0-100%τ) ±0,001A(0~0.5A) ±0,0015A(0.5A~1A)
Розсіяне світло	≤0,03% τ (220 нм NaI,340нм NaNO <sub>2</sub> )

### 2.2.2. Флуоресценція гасіння та збудження

Для отримання спектрів емісії флуоресценції та флуоресценції збудження використовувався флуориметр QuantaMaster 40 Intensity Based Spectrofluorometer виробництва PTI (HORIBA Scientific, Канада), Рис. 2.2. [57-58]. Вимірювання проводилися за змінни температур 295 К, 300 К. Емісія флуоресценції досліджувалась у діапазоні хвиль від 320 нм до 550 нм. За довжину хвилі збудження обрано значення  $\lambda_{36}$ =260 нм. 272, 280, 340 нм.

1. Ксенонова лампа
2. Змінні щілини
3. Монохроматор збудження
4. Решітка
5. Відсік для зразка
6. Корекція збудження
7. Монохроматор емісії
8. Корекція емісії
9. Детектор
10. Подвійна емісія
11. Підвищення фосфоресценції
12. Підвищення NIR
13. Підвищення часу життя

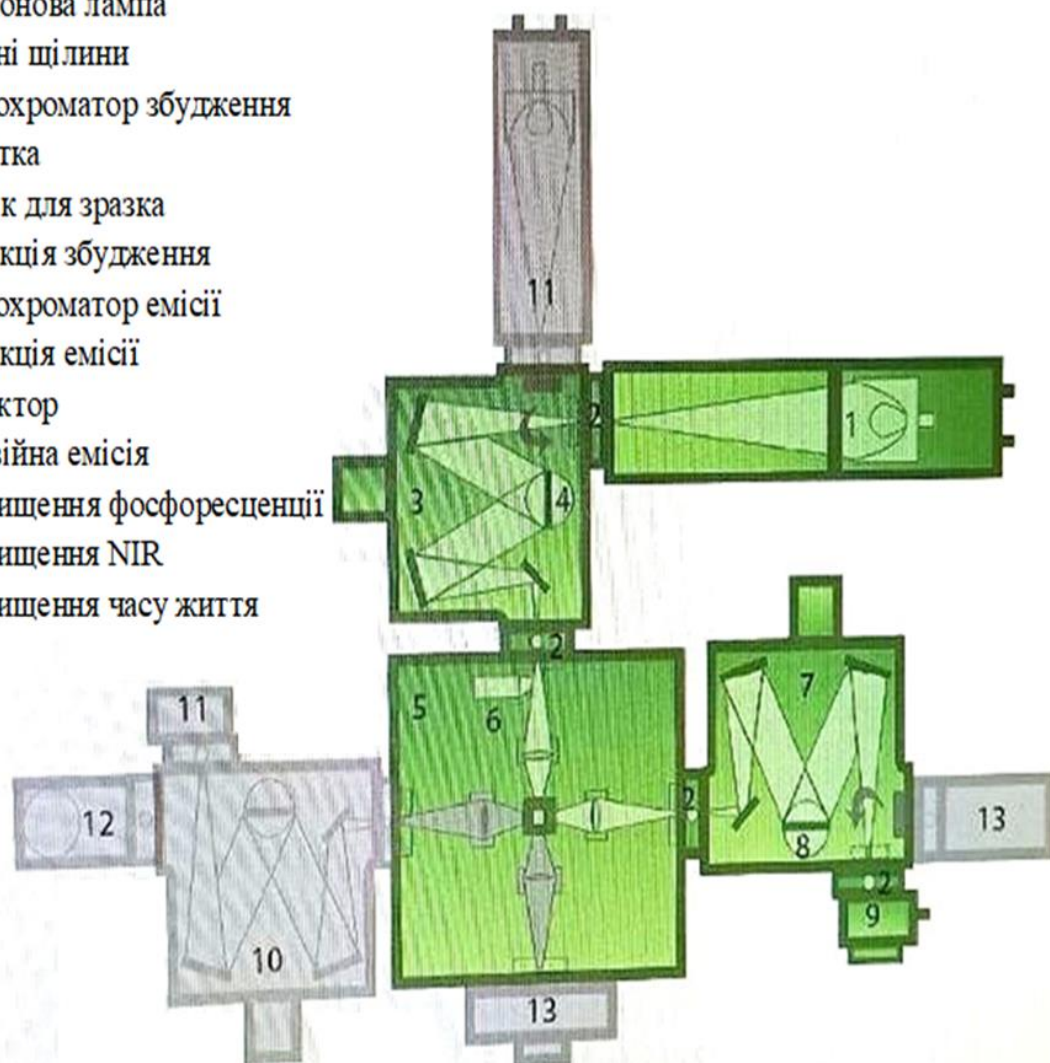


Рис.2.2. Блок-схема флуориметра QuantaMaster 40 [58].

Технічні характеристики приладу наведено в Таблиці 2.2.

*Характеристики флуориметра QuantaMaster 40.*

Діапазон довжин хвиль	180~680 нм
Точність довжини хвилі	$\pm 0,25$ нм
Шв. сканування	$\sim 50000$ т. /с
Джерело світла	Ксенонова лампа

Електропровідність води реєструвалася за допомогою кондуктометра ОК-102/1 (Угорщина).

### 2.3. Методи визначення параметрів комплексоутворення

**Теорія Штерна-Фольмера** для визначення константи гасіння. та Згідно з теорією Штерна–Фольмера гасіння флуоресценції ФЛ припускається, що молекула знаходиться в стані рівноваги взаємодіючих молекул, що супроводжується утворенням комплексів. Гасіння можна пояснити статичним механізмом передачі енергії від донорної молекули до акцепторної. Зростання концентрації акцепторів призводить до лінійного зростання флуоресценції гасіння відповідно до рівняння Штерна–Фольмера, з якого визначалися коефіцієнт швидкості гасіння ФЛ  $k_q$  та константа гасіння Штерна – Фольмера  $K_{SV}$  [59, 60] для розчинів у воді АТФ -  $AgNO_3$ , АТФ -  $MgCl_2$  та АТФ -  $CaCl_2$  за різних температур.

**Теорія Хілла** для встановлення параметрів комплексоутворення. Молекулярна взаємодія може бути визначена через встановлення параметрів зв'язування, якими є рівноважна константа зв'язування  $K_A$  і кількість місць зв'язування  $n$  між іоном металу та лігандом. Відповідно до Теорія Хілла, відносна зміна інтенсивності ФЛ в молекулярній системі в присутності ліганду в розчині макромолекули визначається лінійною залежністю, з якої параметри  $K_A$  і  $n$  можна знайти шляхом підгонки експериментальних даних за допомогою апроксимації лінійної кривої [61, 62].

**Теорія Фьорстера.** Згідно теорії Фьорстера резонансне безвипромінювальне перенесення енергії залежить від відстані  $r$  між донором і акцептором та критичної відстані  $R_0$ . В даній теорії встановлено зв'язок між ступенем перенесення енергії та параметрами  $r$  і  $R_0$  [63, 64]. З площі перекриття спектрів ФЛ АТФ і  $\varepsilon(\lambda)$   $AgNO_3$  в області смуги флуоресценції було визначено інтеграл перекриття.

**Теорія Вант-Гоффа** для встановлення механізмів комплексоутворення. Очікується, що при формуванні комплексів АТФ з іонами металів виникнуть водневі зв'язки, сили Ван-дер-Ваальса, гідрофобні та електростатичні взаємодії. Можливі взаємодії було оцінено за зміною термодинамічних параметрів вільної енергії Гіббса  $\Delta G$ , ентальпії  $\Delta H$ , ентропії  $\Delta S$ . Ці зміни у відповідності до теорії Вант-Гоффа пов'язані з константами зв'язування  $K_A$  за різних температур [65].

## 2.4. Комп'ютерне моделювання

Дослідження комплексоутворення молекул каліксарену та АТФ виконувалось за допомогою моделювання методом молекулярного докінгу та динаміки для отримання грубої оцінки можливих конфігурацій даних комплексів, їх енергії зв'язування та стійкості у водному розчиннику. В рамках моделювання враховуються лише слабкі сили взаємодії молекул у комплексах: електростатичні, ван-дер-Ваальсівські, водневі зв'язки, гідрофобна взаємодія. Моделювання проводилось у програмних пакетах AutoDock 4.2 з напівемпіричною скорінг-функцією та Desmond з полем сил OPLSe. Формування комплексів молекул АТФ з каліксаренами визначалося за допомогою квантово-хімічних розрахунків методом функціоналу густини, Gaussian 09, DFT (B3LYP, 3-21G).

Квантово-хімічні розрахунки АТФ з іоном  $Ag^+$ , комплексу АТФ з іоном  $Mg^{2+}$  проводилися методом DFT з функціоналом B3LYP і базисом 3-31G у програмі Gaussian-09.

*Висновки до розділу 2*

- Для дослідження молекул АТФ і калікс[4]аренів C-107, а також комплексів АТФ з іонами металів  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$   $\text{Mg}^{2+}$  використано методи оптичного поглинання, емісії флуоресценції та флуоресценції збудження. Визначено параметри комплексоутворення: коефіцієнт швидкості гасіння ФЛ  $k_q$ , константа гасіння Штерна – Фольмера  $K_{SV}$ , кількість місць зв'язування  $n$ , з площі перекриття спектрів ФЛ АТФ і  $\epsilon(\lambda)$   $\text{AgNO}_3$  в області смуги флуоресценції було визначено інтеграл перекриття. За зміною термодинамічних параметрів вільної енергії Гіббса  $\Delta G$ , ентальпії  $\Delta H$ , ентропії  $\Delta S$  оцінено тип взаємодії.

- Дослідження комплексоутворення молекул каліксарену та АТФ виконувалось за допомогою моделювання методом молекулярного докінгу та динаміки. Квантово-хімічні розрахунки АТФ з іонами металів проводилися у програмі Gaussian-09, методом DFT з функціоналом B3LYP і базисом 3-31G.

## РОЗДІЛ 3

### КОМПЛЕКСОУТВОРЕННЯ В РОЗЧИНАХ АТФ З КАЛІКС[4]АРЕНОМ С-107 ТА ІОНАМИ $Ag^+$

#### 3.1. Комплекс АТФ з калікс[4]ареном С-107

Аденозинтрифосфат (АТФ) належить до одних з найважливіших нуклеотидних молекул живих організмів, яка виконує різноманітні функції по забезпеченню їх діяльності. Особливою функцією цих молекул є передача клітинам та тканинам енергії, що вивільняється цим нуклеотидом при гідролізі АТФ, який супроводжується дефосфорюванням [11,66-68]. Вплив на гідроліз АТФ має важливе значення і досягається створенням різноманітних комплексів між субстратом і різноманітними рецепторами (лігандами) з врахуванням молекулярної структури нуклеотиду. Особливе місце в даній структурі займає аденін, в якому присутні атоми нітрогену, здатні передавати електрони, наприклад, до катіонів срібла  $Ag^+$ , створюючи комплекси АТФ -  $Ag^+$  внаслідок зв'язування іона металу з N7 або N9. Більш складними є комплексами мультизарядних іонів, оскільки їх під'єднання до АТФ також пов'язано з присутністю аніонів в трифосфатній частині АТФ. Крім електростатичної взаємодії можливим є встановлення гідروفобної,  $\pi$ - $\pi$  – стекової взаємодії та водневих зв'язків, що супроводжується комплексоутворенням АТФ з більш складними молекулярними системами, які часто використовуються для візуалізації присутності АТФ [69-72].

Такі комплекси використовують не лише як молекулярні зонди, оскільки вони відіграють важливу роль в біологічних процесах. Важливу роль серед різноманітних рецепторів відіграють калікс[4]арени, чому сприяє його чашеподібна будова. Каліксарени належать до макроциклічних сполук, що складаються з фенольних фрагментів, що сполучені метиленовими містками. Нижній рівень калікс[4]арену включає набір гідроксильних груп.

Показано, що супрамолекулярний комплекс рецептора калікс[4]арену з субстратом АТФ утворюється внаслідок дії водневих зв'язків. Такі

супрамолекулярні системи виступають каталізаторами гідролізу АТФ, тобто виступають модуляторами АТФ – гідролітичних структур.

### 3.1.1. Спектри оптичної густини АТФ та С-107 у воді

На Рис.3.1. наведено спектр оптичної густини розчину АТФ у воді. Видно два максимуми в ультрафіолетовій області. Один максимум знаходиться біля  $\lambda_{\max,1} = 206$  нм, а другий максимум оптичної густини розміщений при  $\lambda_{\max,2} = 259$  нм.

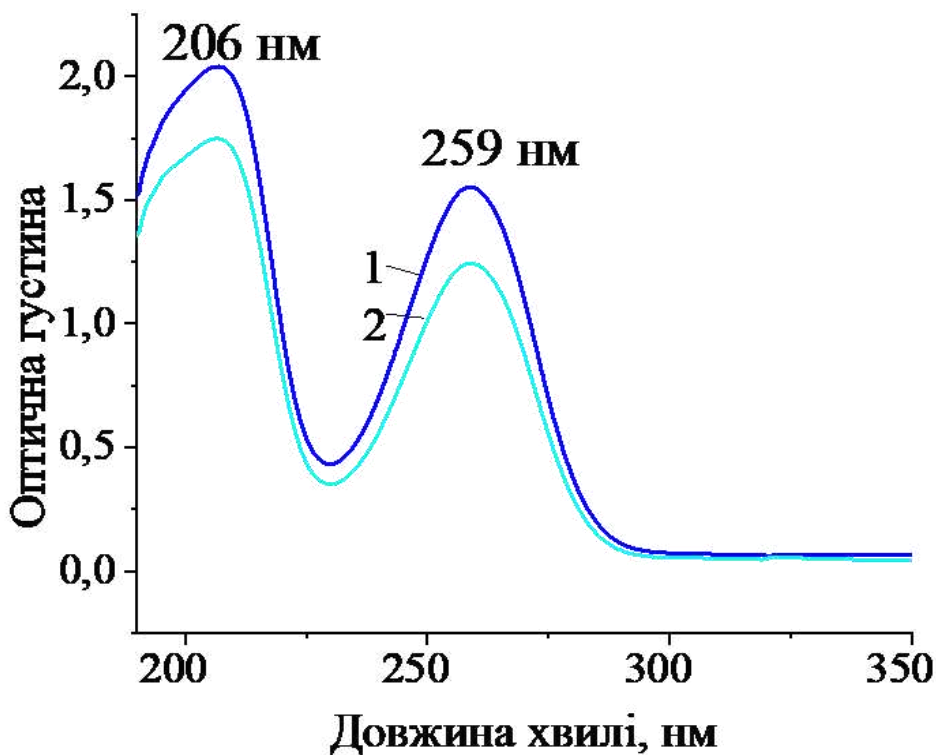


Рис.3.1. Спектри оптичної густини розчину у воді АТФ з концентрацією  $C_{\text{АТФ}} = 1 \times 10^{-4} \text{ М}$  для зразків, отриманих безпосередньо після приготування (1) та після 24 год (2), (рН = 6,5, Т=295К).

Зі збільшенням часу розчинення, оптична густина падає, а форма піків залишається незмінною. Водночас, для обох максимумів має місце достатньо помітне уширення, що свідчить про складну структуру молекулярних

орбіталей. Не виключно, що вона може включати декілька компонент, внаслідок складної будови молекули АТФ з трьох різних груп.

Спектр оптичної густини розчину у воді калікс[4]арену С-107 показано на Рис.3.2.

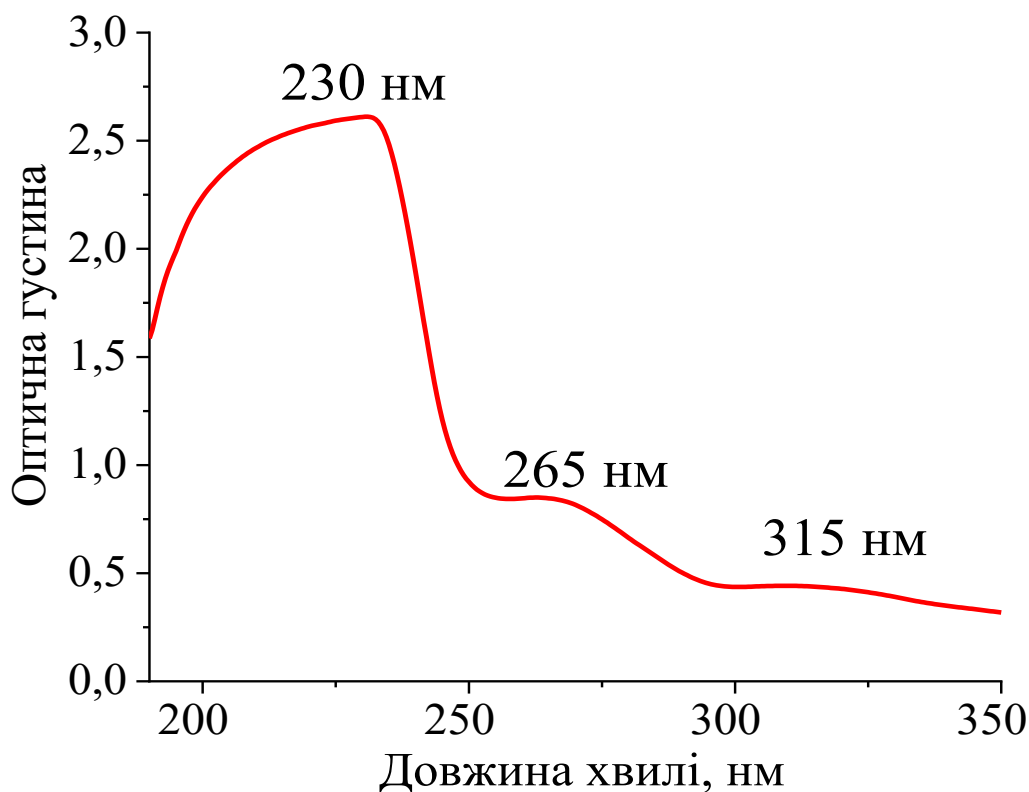


Рис.3.2. Спектр оптичної густини розчину у воді С-107 із концентрацією  $C_{C-107}=1 \times 10^{-4} \text{M}$ , (рН=6,5, Т=295К).

Видно, що крім максимуму оптичної густини біля  $\lambda_{\text{max},C-107}=230 \text{ нм}$  за високої концентрації калікс[4]арену С-107 ( $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ) на кривій оптичної густини також наявні слабкі перегини біля  $\lambda_{\text{max},C-107}=265 \text{ нм}$  та  $\lambda_{\text{max},C-107}=315 \text{ нм}$ . За однакових концентрацій АТФ і С-107 оптична густина в області довжини хвиль  $\lambda > 300 \text{ нм}$  для калікс[4]арену є більшою. З додаванням до розчину у воді АТФ з постійною концентрацією  $C_{\text{АТФ}}=1 \times 10^{-4} \text{M}$  розчинів С-107 з різним вмістом спектри оптичної густини сильно змінюються, Рис.3.3.

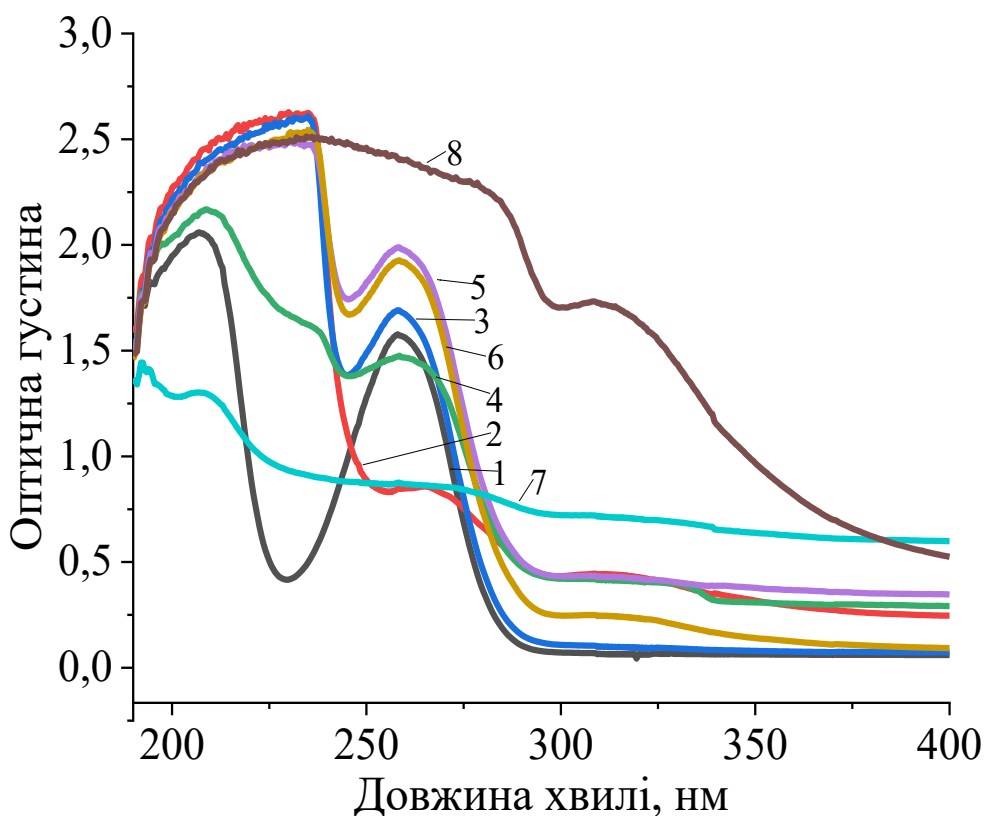


Рис.3.3. Спектри оптичної густини для розчинів у воді АТФ (1) і С-107 (2) з концентраціями  $C_{\text{АТФ}}=C_{\text{С-107}}=1\times 10^{-4}\text{М}$ , сумішей АТФ при постійній концентрації  $1\times 10^{-4}\text{М}$  та С-107 з  $1\times 10^{-5}\text{М}$ (3),  $3\times 10^{-5}\text{М}$ (4),  $5\times 10^{-5}\text{М}$ (5),  $7\times 10^{-5}\text{М}$ (6),  $1\times 10^{-4}\text{М}$  (7),  $5\times 10^{-5}\text{М}$  (8), (рН=6,5, Т=295К).

Додавання калікс[4]арену С-107 в межах концентрацій  $1\times 10^{-5} - 5\times 10^{-4}\text{М}$  істотно впливає на поведінку спектрів оптичної густини. Якщо за меншого вмісту С-107 спектри можна розглядати, як результат накладання спектрів АТФ і С-107, то за більш високих концентрацій калікс[4]арену отримані спектри сильно відрізняються від вихідних спектрів для чистих компонент розчинів. Можна припустити, що така поведінка спектрів зумовлена кількома процесами, які включають комплексоутворення між АТФ і С-107, а також протікання неензиматичних процесів гідролізу в АТФ під впливом каліксарену. За різного вмісту С-107 гетеросоціація і неензиматичний гідроліз можуть відбуватися одночасно, але з різною ефективністю [73].

### 3.1.2. Спектри фотолюмінесценції АТФ та С-107 у воді

За довжин хвиль збудження  $\lambda_{36}=272$  нм та  $\lambda_{36}=260$  нм в спектрі ФЛ емісії розчину у воді АТФ з концентрацією  $C_{\text{АТФ}}=1 \times 10^{-4}$  М отримано широку смугу ФЛ біля  $\lambda_{\text{ем}}=395$  нм, але за меншого значення  $\lambda_{36}=260$  нм, яке відповідає положенню максимуму другої смуги оптичної густини, інтенсивність фотолюмінесценції спадає, Рис. 3.4.

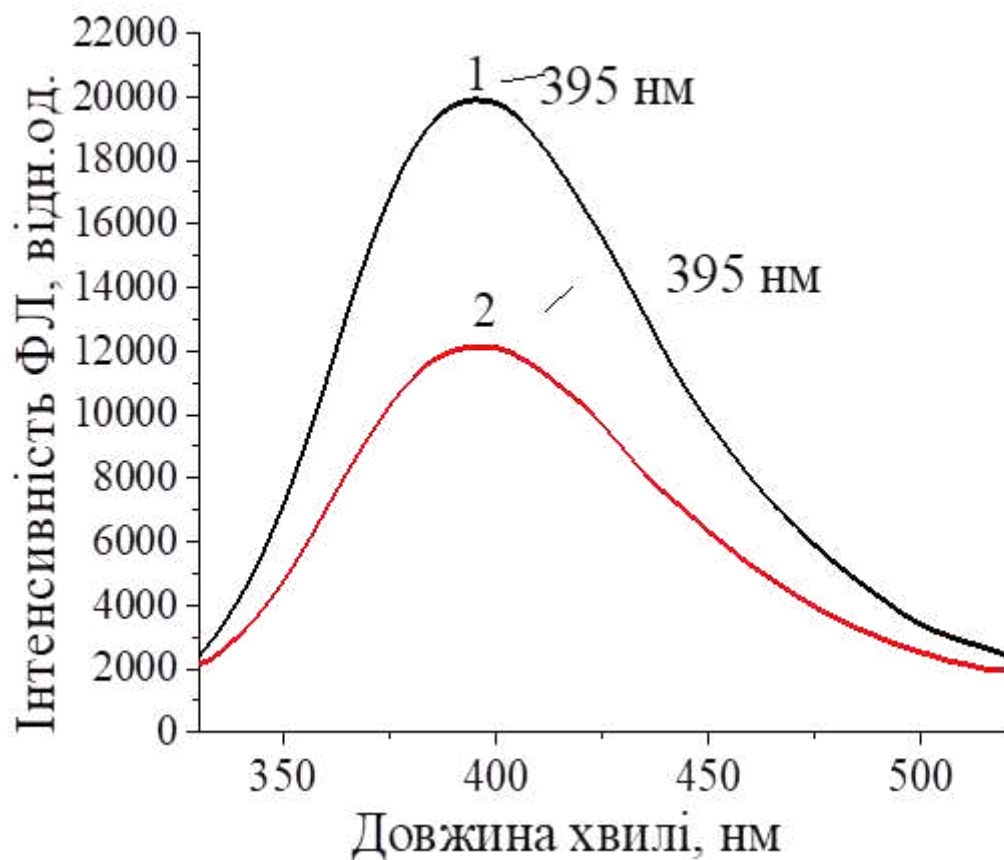


Рис.3.4. Спектри ФЛ емісії розчину у воді АТФ з концентрацією  $C_{\text{АТФ}}=1 \times 10^{-4}$  М при  $\lambda_{36}=272$  нм (1),  $\lambda_{36}=260$  нм (2), (рН=6,5, T=295К).

Порівняно з інтенсивністю ФЛ АТФ, інтенсивність флуоресценції емісії для розчину у воді С-107 за концентрації  $C_{\text{С-107}}=1 \times 10^{-4}$  М при  $\lambda_{36}=280$  нм, що відповідає першому перегину на кривій оптичної густини, є значно меншою, Рис.3.5.

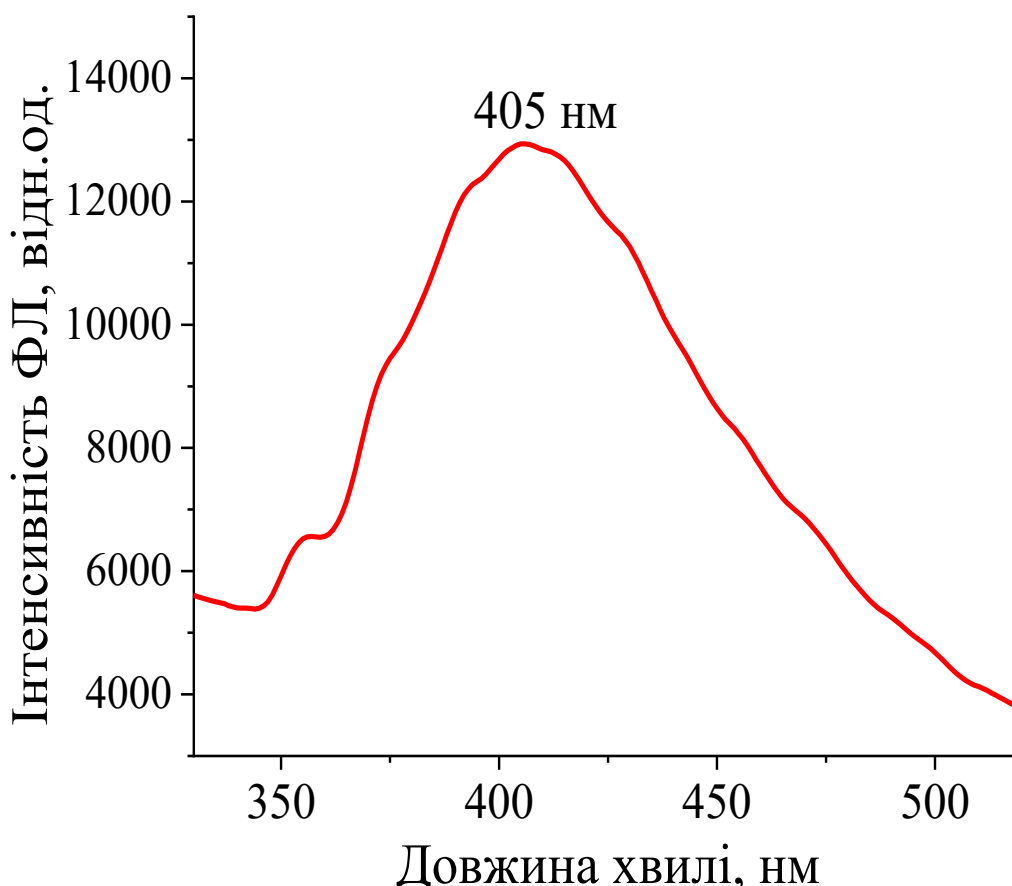


Рис.3.5. Спектр ФЛ емісії розчину у воді С-107 з концентрацією  $C_{C-107}=1 \times 10^{-4} \text{M}$  при  $\lambda_{36}=280 \text{ нм}$ , ( $\text{pH}=6,5$ ,  $T=295\text{K}$ ).

Смуга ФЛ є достатньо широкою з максимумом біля  $\lambda_{\text{ем}}=405 \text{ нм}$ . Наявність смуг оптичного поглинання біля  $\lambda=272 \text{ нм}$  підтверджується спектрами ФЛ збудження отриманого при  $\lambda_{\text{ем}}=395 \text{ нм}$ , Рис.3.6. Спектр ФЛ збудження, отриманий для розчину у воді С-107 при концентрації  $C_{C-107}=1 \times 10^{-4} \text{M}$  при  $\lambda_{\text{ем}}=410 \text{ нм}$  є менш інтенсивним і більш складним, Рис.3.7. В спектрі ФЛ збудження розчину у воді С-107 наявні два максимуми оптичного поглинання біля  $\lambda=278 \text{ нм}$  і  $\lambda=325 \text{ нм}$ , відповідно.

Варто зазначити, що спектри ФЛ збудження і оптичної густини для розчинів у воді чистих АТФ і С-107 не повністю тотожні, що обумовлено складними процесами дезактивації збуджених станів в даних молекулах.

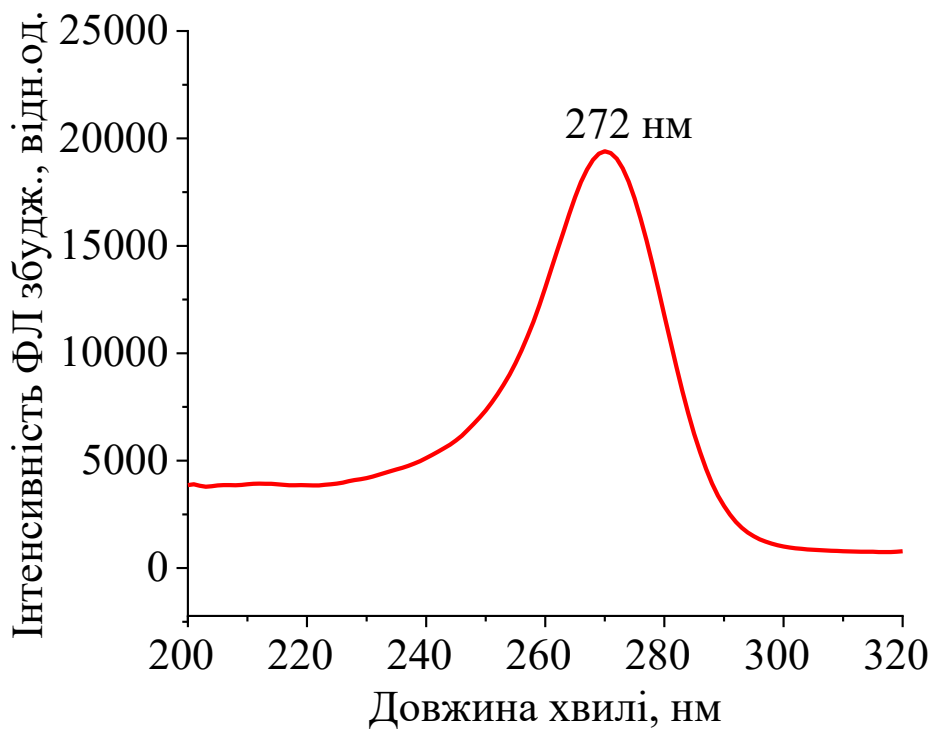


Рис.3.6. Спектр ФЛ збудження розчину у воді АТФ з концентрацією  $C_{\text{АТФ}}=1 \times 10^{-4} \text{М}$ ,  $\lambda_{\text{ем}}=395 \text{ нм}$ , (рН=6,5, Т=295К).

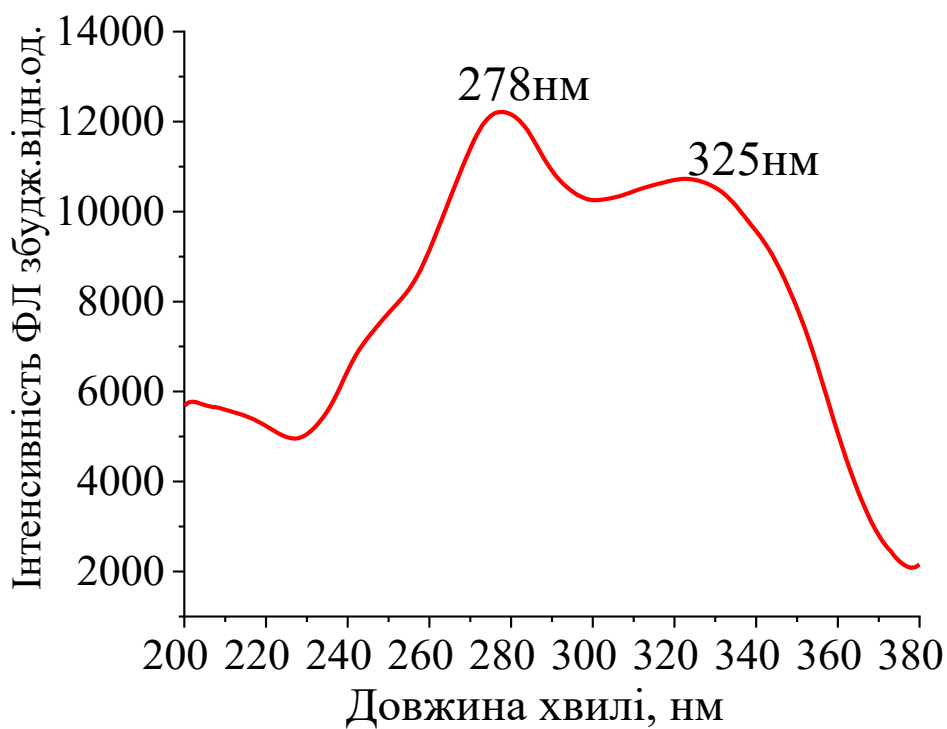


Рис.3.7. Спектр ФЛ збудження розчину у воді С-107 з концентрацією  $C_{\text{С-107}}=1 \times 10^{-4} \text{М}$  при  $\lambda_{\text{ем}}=410 \text{ нм}$ , (рН=6,5, Т=295К).

Процеси дезактивації збудженого стану стають це складнішими в розчинах у воді системи АТФ – С-107 при постійному вмісті АТФ  $C_{\text{АТФ}}=1 \times 10^{-4}\text{М}$  і різному вмісту калікс[4]арену, Рис.3.8.

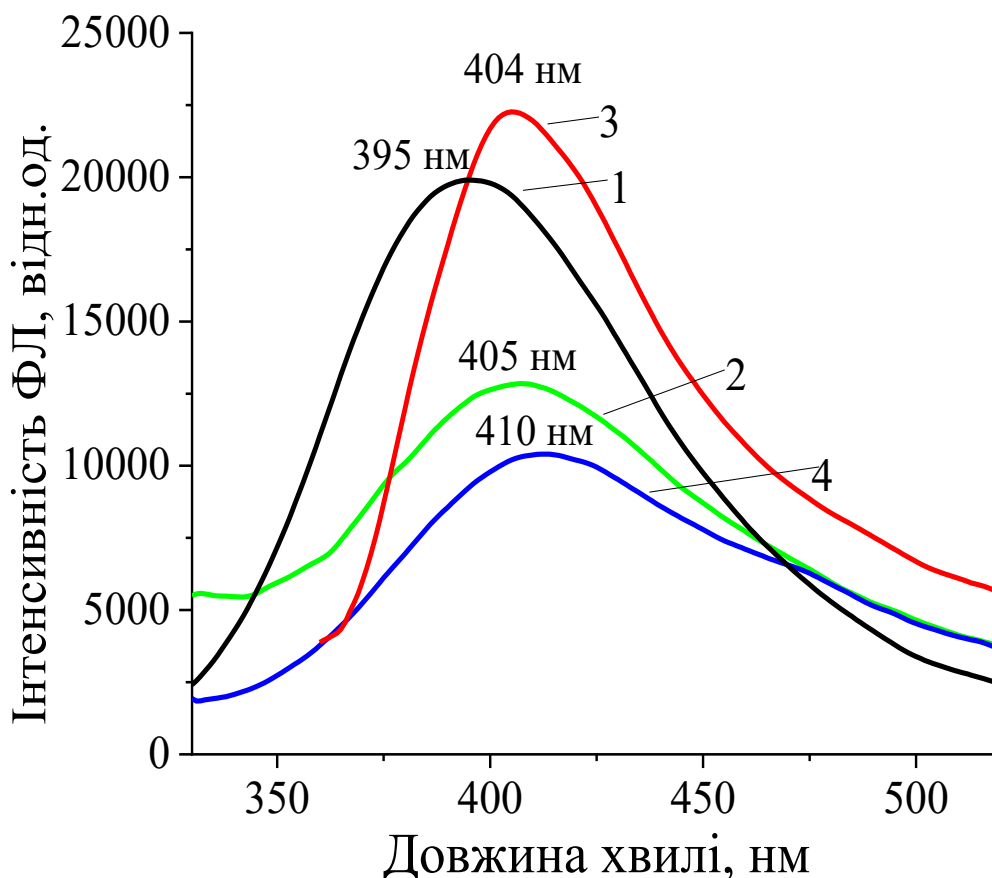


Рис.3.8. Спектри ФЛ емісії розчинів у воді чистих АТФ ( $\lambda_{36}=272\text{нм}$ ) (1), С-107 ( $\lambda_{36}=280\text{нм}$ ) (2), з концентраціями  $C_{\text{АТФ}}=C_{\text{С-107}}=1 \times 10^{-4}\text{М}$  та сумішею АТФ – С-107 з постійним вмістом компонент  $C_{\text{АТФ}}=1 \times 10^{-4}\text{М}$ ,  $C_{\text{С-107}}=5 \times 10^{-4}\text{М}$  за різних довжин хвиль збудження  $\lambda_{36}=272\text{ нм}$  (3),  $\lambda_{36}=340\text{ нм}$  (4), (рН=6,5,  $T=295\text{К}$ ).

Для розчинів у воді чистих АТФ ( $\lambda_{\text{ем}}=395\text{ нм}$ ) і С-107, максимуми ФЛ ( $\lambda_{\text{ем}}=405\text{ нм}$ ) зміщені один відносно одного. Водночас, для розчинів у воді системи АТФ – С-107 з найбільшими значеннями концентрацій  $C_{\text{АТФ}}=1 \times 10^{-4}\text{М}$ ,  $C_{\text{С-107}}=5 \times 10^{-4}\text{М}$  за різних довжин хвиль збудження  $\lambda_{36}=272\text{ нм}$ ,  $\lambda_{36}=340\text{ нм}$  також має місце зміщення, але спостерігається помітне зростання

інтенсивності ФЛ емісії при  $\lambda_{36}=272$  нм ( $\lambda_{em}=405$  нм), що відповідає піку ФЛ збудження розчинів у воді молекул АТФ.

При нагріванні від 295К до 300К відбувається незначне падіння інтенсивності спектру, однак положення максимумів ФЛ емісії залишається незмінним, Рис.3.9.

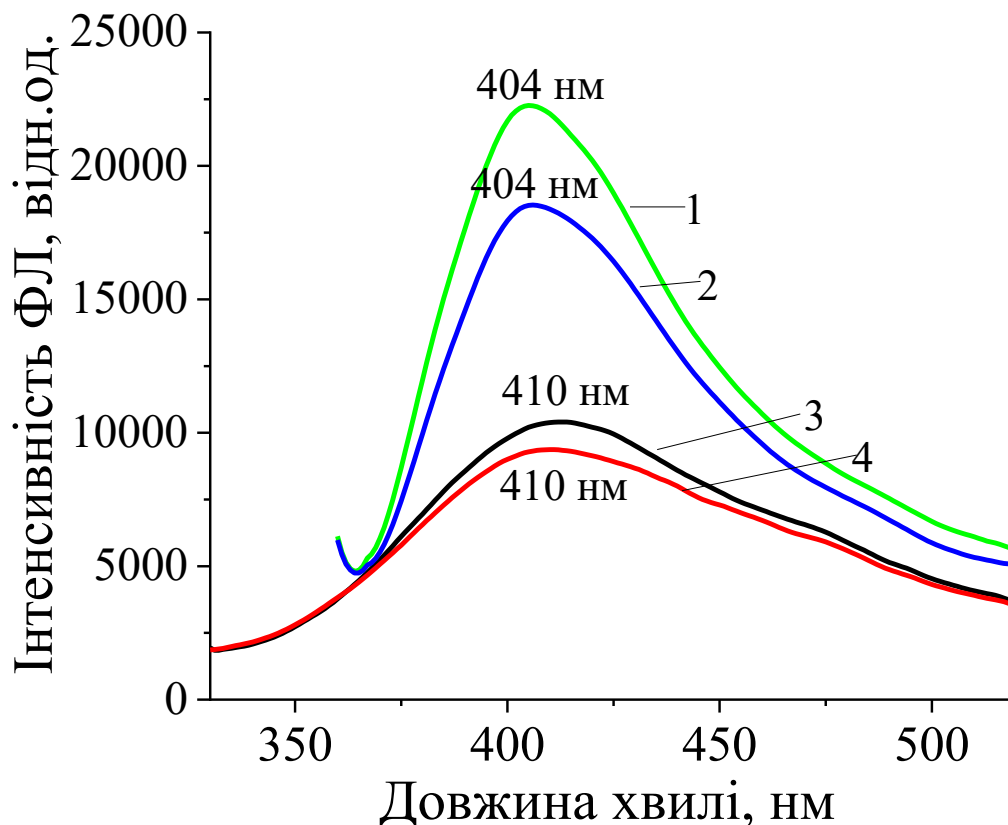


Рис.3.9. Спектри ФЛ емісії розчинів у воді сумішей АТФ – С-107 з концентраціями  $C_{AT\Phi}=1 \times 10^{-4}M$ ,  $C_{C-107}=5 \times 10^{-4}M$  при  $\lambda_{36}=272$  нм,  $T=295K$  (1),  $T=300K$ (2) та  $\lambda_{36}=340$  нм,  $T=295K$ (3),  $T=300K$ (4), ( $pH=6,5$ ).

Спектри ФЛ емісії для довжини хвилі збудження  $\lambda_{36}=272$  нм, характерної для максимуму ФЛ збудження АТФ наведено на Рис.3.10.

Можна відмітити, що за менших концентрацій калікс[4]арену С-107 має місце гасіння ФЛ із помітним зміщенням піків ФЛ в порівнянні з положенням максимуму ФЛ молекул АТФ ( $\lambda_{em}=395$  нм). З ростом концентрації молекул С-107 піки ФЛ сумішей АТФ – С-107 з вмістом

калікс[4]арену  $5 \times 10^{-5} \text{M}$ ,  $7 \times 10^{-5} \text{M}$  зміщуються до  $\lambda_{\text{ем}}=395 \text{ нм}$ . З подальшим підвищенням вмісту  $\text{C}_{\text{C-107}}$  до значень  $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ,  $5 \times 10^{-4} \text{M}$  максимуми ФЛ сумішей АТФ – С-107 не лише співпадають з положенням смуги ФЛ АТФ, а спостерігається гасіння ФЛ, яке зростає з вмістом калікс[4]арену, що є ознакою комплексоутворення між молекулами АТФ – С-107. Видно, що умова гетероасоціації має місце за певного вмісту молекул калікс[4]арену [74].

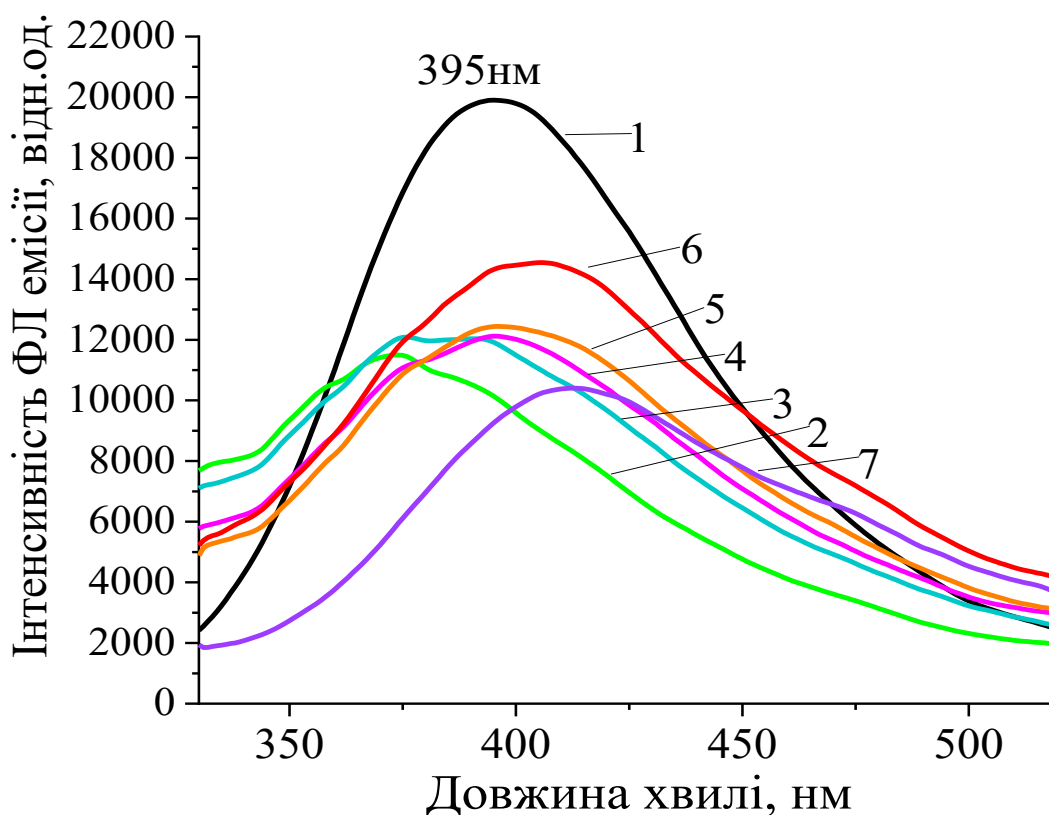


Рис.3.10. Спектри ФЛ емісії розчинів у воді сумішей АТФ – С-107 з постійною концентрацією  $\text{C}_{\text{АТФ}}=10^{-4} \text{M}$  і вмістом каліксарену 0 (1),  $1 \times 10^{-5}$  (2),  $3 \times 10^{-5}$  (3),  $5 \times 10^{-5}$  (4),  $7 \times 10^{-5}$  (5),  $1 \times 10^{-4}$  (6),  $5 \times 10^{-4}$  (7) при  $\lambda_{\text{зб}}=272 \text{ нм}$ , (рН=6,5,  $T=295 \text{K}$ ).

Із зміною концентрації С-107 також відбувається перебудова спектрів ФЛ збудження, яка особливо проявляється для системи АТФ – С-107 з вмістом  $\text{C}_{\text{C-107}}=5 \times 10^{-4} \text{M}$ , Рис.3.11.

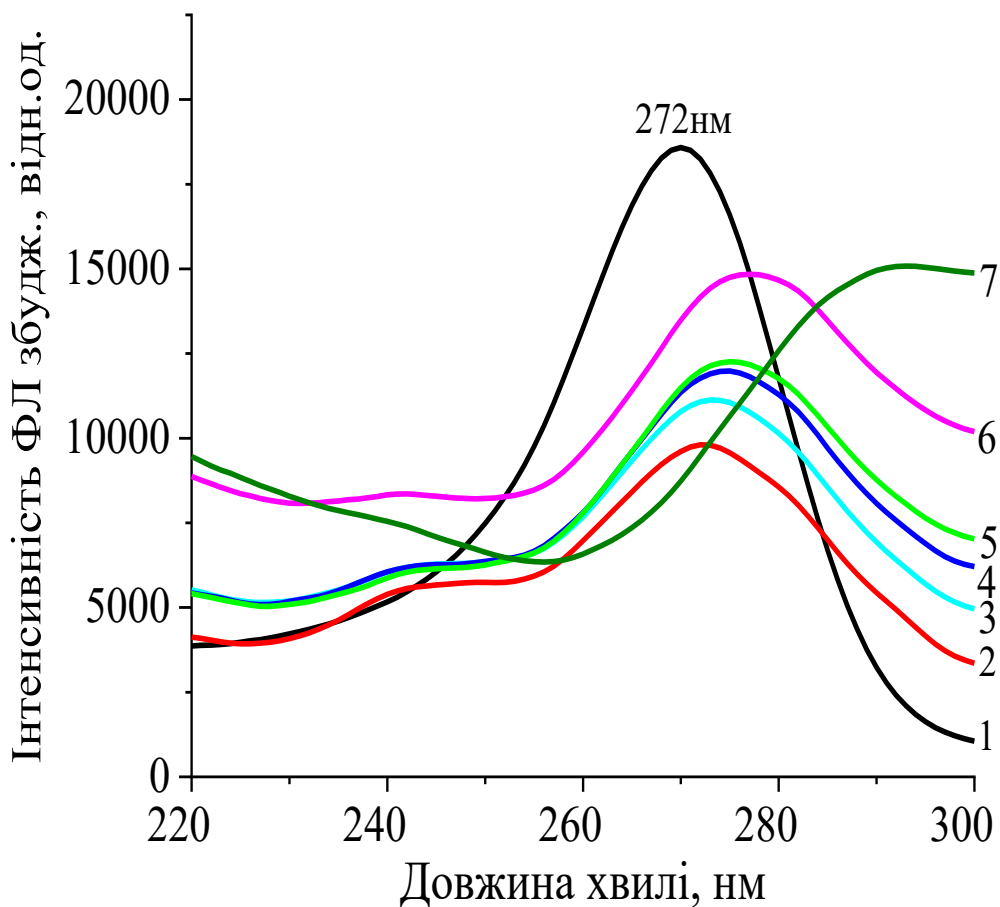


Рис.3.11. Спектри ФЛ збудження розчинів у воді сумішей АТФ – С-107 з постійною концентрацією  $C_{\text{АТФ}}=1 \times 10^{-4} \text{М}$  і вмістом каліксарену 0 (1),  $1 \times 10^{-5}$ (2),  $3 \times 10^{-5}$ (3),  $5 \times 10^{-5}$ (4),  $7 \times 10^{-5}$ (5),  $1 \times 10^{-4}$ (6),  $5 \times 10^{-4}$ (7) при  $\lambda_{\text{зб}}=272 \text{ нм}$ , (рН=6,5, Т=295К).

З підвищенням концентрації молекул калікс[4]арену максимум оптичного поглинання зміщується в бік більших довжин хвиль, Рис.3.12. При  $C_{\text{С-107}}=5 \times 10^{-4} \text{М}$  виникає два максимуми ФЛ збудження. Видно, що для суміші з вмістом молекул калікс[4]арену  $5 \times 10^{-4} \text{М}$  один із максимумів ФЛ збудження зміщується до  $\lambda=291 \text{ нм}$ , а інший виникає біля  $\lambda=340 \text{ нм}$  [74].

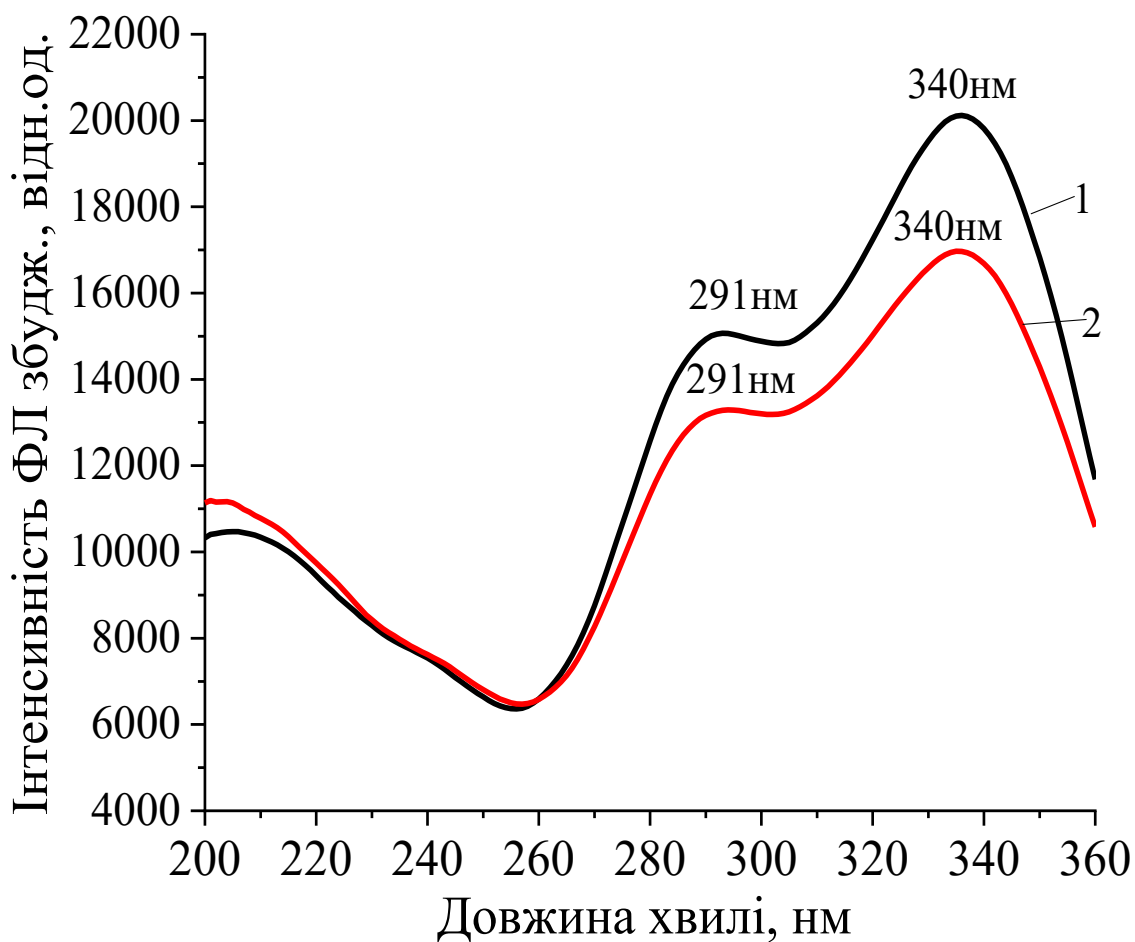


Рис.3.12. Спектри ФЛ збудження розчину у воді суміші АТФ – С-107 при  $C_{\text{АТФ}}=1 \times 10^{-4} \text{ М}$ ,  $C_{\text{С-107}} = 5 \times 10^{-4} \text{ М}$  для  $\lambda_{\text{ем}}=395 \text{ нм}$  для  $T=295\text{К}$  (1),  $T=300\text{К}$  (2), ( $\text{pH}=6,5$ ).

Можна припустити, що вказані піки оптичного поглинання виникають в результаті утворення комплексів АТФ з С-107 [75].

### 3.1.3. Особливості гасіння флуоресценції в розчинах у воді АТФ – калікс[4]арену С-107 за різних температур

В спектрі поглинання розчину у воді калікс[4]арену С-107, отриманому в ДМСО (5%), при рН=7,4 спостерігаються дві смуги біля 272 нм і 315 нм для розчину у воді з концентрацією  $1 \times 10^{-4}$ М. При підвищенні вмісту С-107 до  $5 \times 10^{-4}$ М відбувається сильне зростання поглинання та істотне розширення смуги поглинання. Як відмічалось, у випадку рН=6,5 для розчину у воді С-107 з концентрацією  $1 \times 10^{-4}$ М при  $\lambda_{\text{ex}} = 275$  нм формується смуга емісії ФЛ з незначною інтенсивністю та максимумом біля 415 нм. Як показує вивчення спектру збудження ФЛ основний внесок в смугу випромінювання (415 нм) вносить смуга поглинання біля 275 нм, що мало змінена по відношенню до максимуму смуги оптичної густини (272 нм). Додавання до розчину у воді АТФ з постійною концентрацією ( $1 \times 10^{-4}$ М) розчинів С-107 з різним вмістом від  $1 \times 10^{-4}$ М до  $1 \times 10^{-3}$ М приводить до складної перебудови спектрів емісії та збудження ФЛ при  $\lambda_{\text{ex}} = 272$  нм і  $\lambda_{\text{em}} = 395$  нм. Необхідно відмітити, що інтенсивність спектрів емісії і збудження ФЛ розчинів у воді АТФ сильно перевищують інтенсивності аналогічних спектрів С-107 в ДМСО (5%). Разом з тим, вказані спектри залежать від довжини хвилі збудження  $\lambda_{\text{ex}}$ , величини рН і в меншій мірі від температури в інтервалі від 20°C до 40°C.

На Рис. 3.13. представлено спектри емісії і збудження ФЛ розчинів у воді АТФ та АТФ – С-107 за різних концентрацій калікс[4]арену та температур.

Видно, що зі зростанням концентрації С-107 інтенсивність смуг ФЛ спадає, а положення смуги емісії та збудження ФЛ зберігається біля 395 нм і 284 нм, відповідно. Гасіння емісії ФЛ при підвищенні температури від 20°C до 40°C зростає, але змінюється залежно від концентрації калікс[4]арену.

На Рис. 3.14. наведено спектри емісії та збудження ФЛ розчинів у воді АТФ – С-107 при постійній концентрації АТФ та при збільшенні вмісту С-107 за різних температур [76].

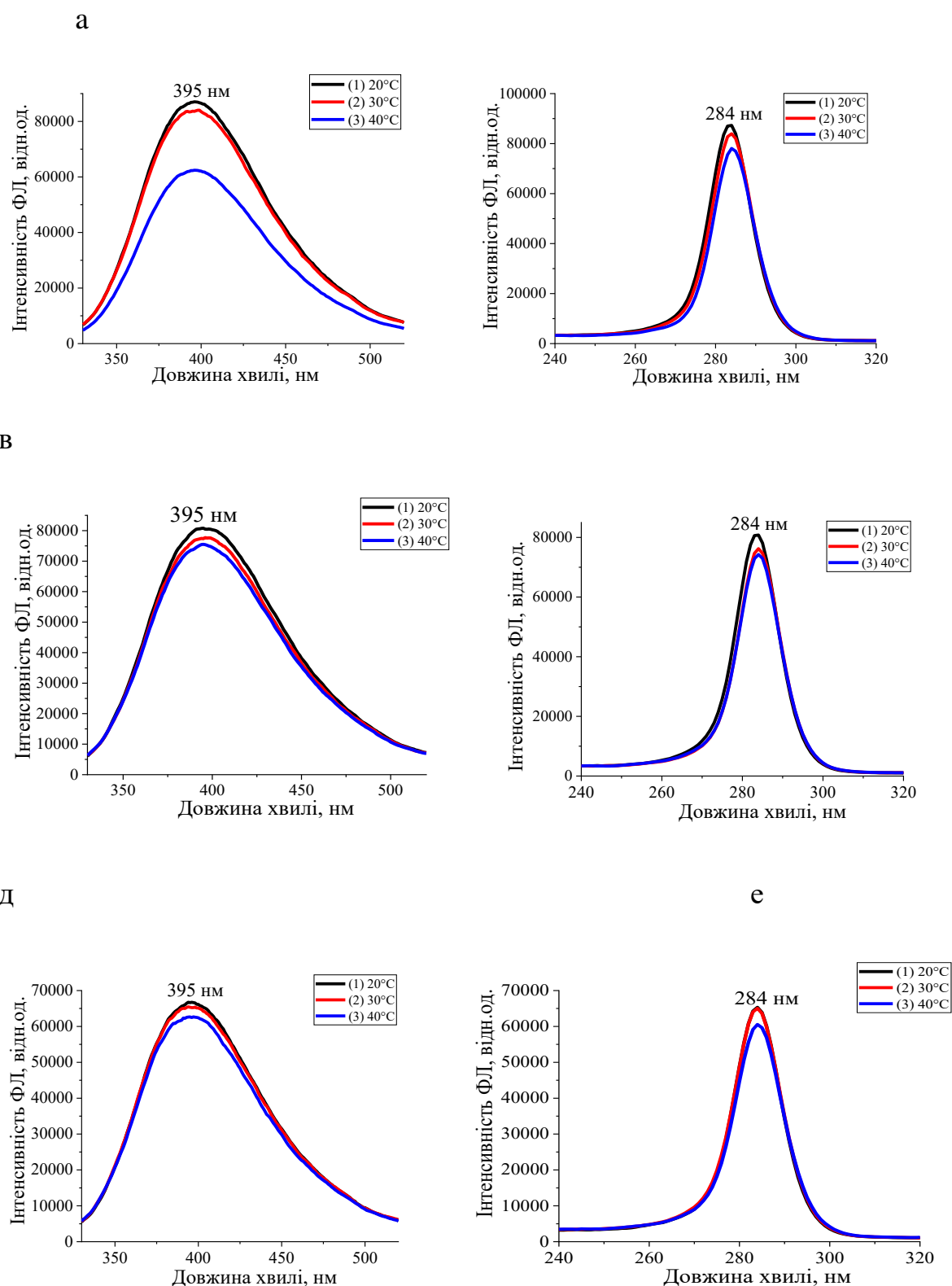


Рис.3.13. Спектри емісії (а, в, д) та збудження (б, г, е) ФЛ розчинів у воді АТФ з постійною концентрацією  $C_{\text{АТФ}} = 3 \times 10^{-4}$  М (а, б) та АТФ – С-107 (вміст ДМСО 0.5%) з концентраціями  $C_{\text{С-107}} 1 \times 10^{-9}$  М (в, г),  $1 \times 10^{-8}$  М (д, е) за температур 20°C (1), 30°C (2), 40°C (3) ( $\lambda_{\text{зб}}=285\text{нм}$  і  $\lambda_{\text{ем}}=395$  нм, рН= 6,5).

Рис. 3.13. (продовження).

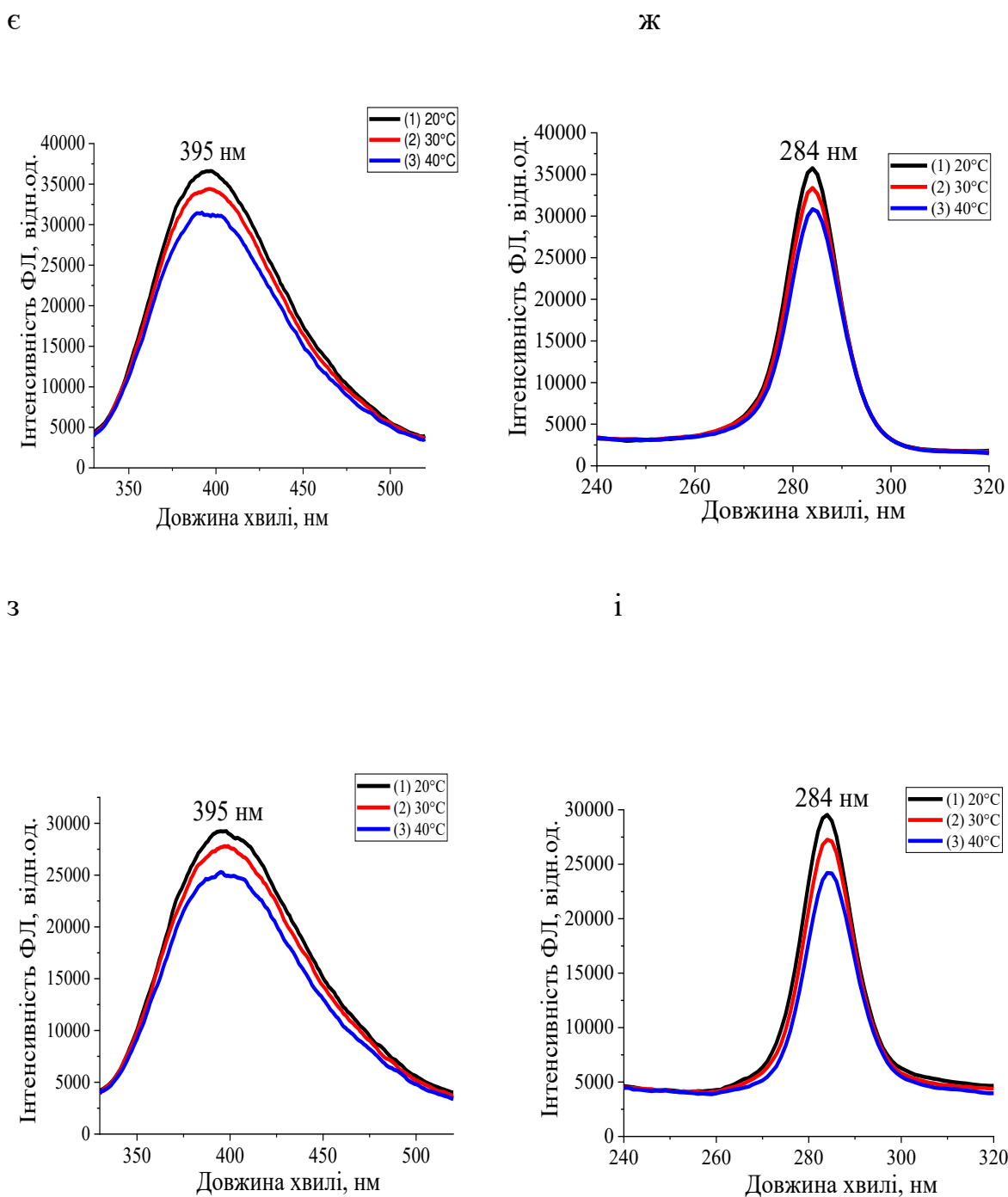
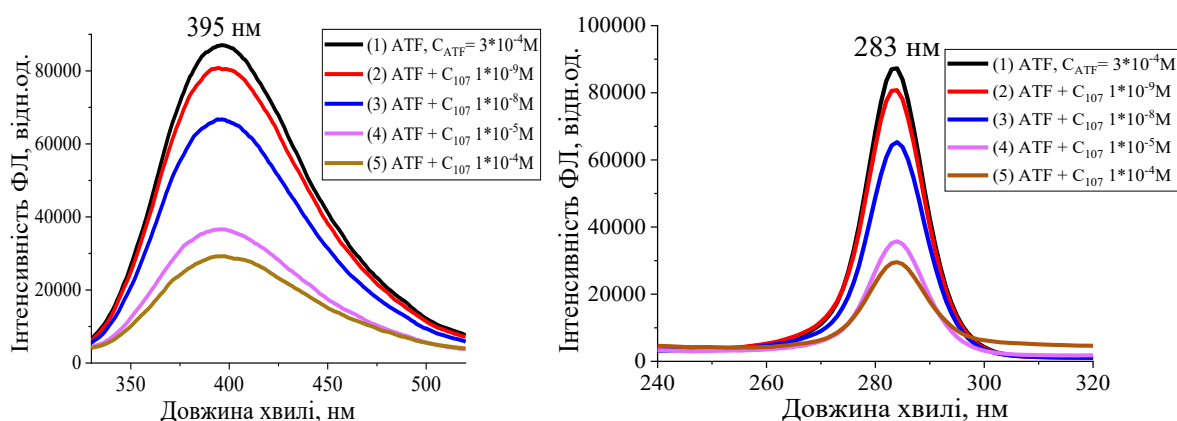


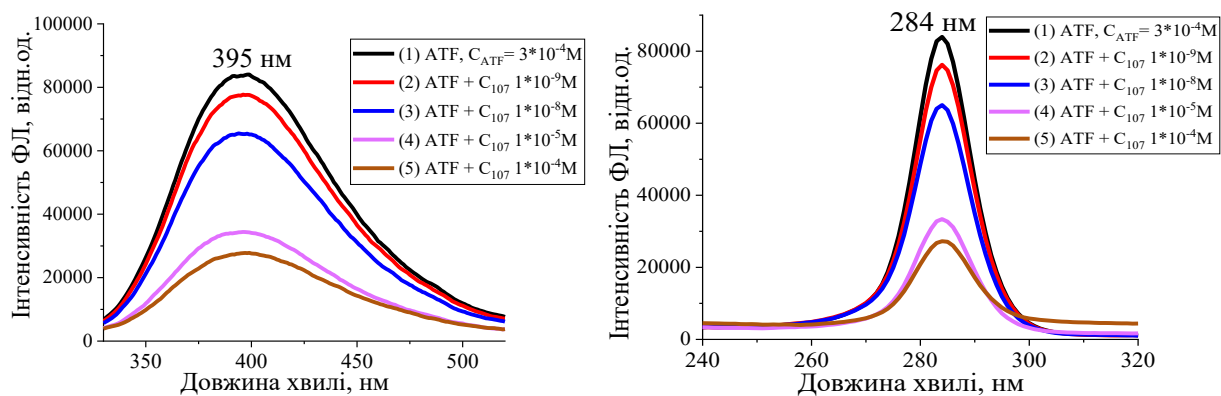
Рис.3.13. (продовження). Спектри емісії ( $\epsilon, \zeta$ ) та збудження ( $\zeta, i$ ) ФЛ розчинів у воді АТФ з концентраціями  $C_{C-107}$   $1 \times 10^{-5}$  М ( $\epsilon, \zeta$ ),  $1 \times 10^{-4}$  М ( $\zeta, i$ ) за температур 20°C (1), 30°C (2), 40°C (3) ( $\lambda_{36}=285$ нм і  $\lambda_{em}=395$  нм, рН= 6,5).

З підвищенням концентрації С-107 гасіння ФЛ є помітним. Разом з тим, наведене гасіння ФЛ спостерігається в широкому інтервалі концентрацій від  $1 \times 10^{-9}$ М до  $1 \times 10^{-4}$ М.

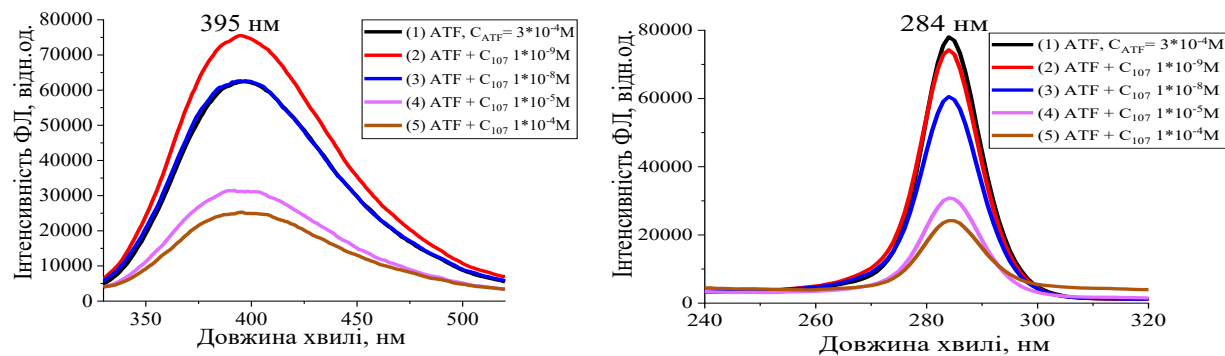
а



в



д



е

Рис. 3.14. Спектри емісії (а, в, д) та збудження (б, г, е) ФЛ для розчинів у воді АТФ – С-107 при постійній концентрації АТФ  $C_{\text{АТФ}} = 3 \times 10^{-4}$  М та концентраціях С – 107  $C_{\text{С-107}}$  0 (1),  $1 \times 10^{-9}$  М (2),  $1 \times 10^{-8}$  М (3),  $1 \times 10^{-5}$  М (4),  $1 \times 10^{-4}$  М (5) при температурах 20°C (а, б), 30°C (в, г), 40°C (д, е), ( $\lambda_{\text{зб}} = 285$  нм і  $\lambda_{\text{ем}} = 395$  нм, рН=6,5).

Більше того, має місце істотна відмінність у величинах гасіння для концентрацій С-107  $1 \times 10^{-9}\text{M}$ ,  $1 \times 10^{-8}\text{M}$  та більшими значеннями концентрацій  $1 \times 10^{-5}\text{M}$ ,  $1 \times 10^{-4}\text{M}$ . Вказаний розрив в гасінні ФЛ добре помітний в широкому інтервалі концентрацій С-107 для меншого вмісту АТФ.

Спектри емісії і збудження ФЛ для розчинів у воді АТФ – С-107 в інтервалі концентрацій калікс[4]арену від  $1 \times 10^{-12}\text{M}$  до  $1 \times 10^{-4}\text{M}$  при  $\lambda_{36} = 285 \text{ нм}$  наведено на Рис. 3.15.

а

б

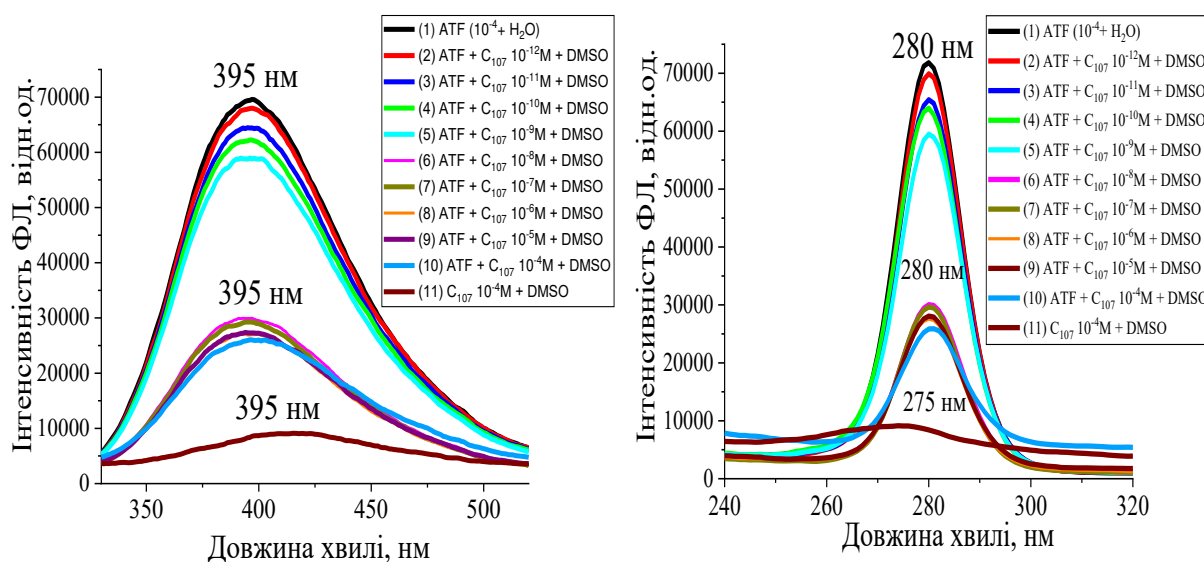


Рис. 3.15. Спектри емісії (а) та збудження (в) ФЛ для розчинів у воді АТФ – С-107 (для С-107 ДМСО 5%) з постійною концентрацією АТФ  $C_{\text{АТФ}} = 1 \times 10^{-4}\text{M}$  та концентраціями калікс[4]арену  $C_{\text{С-107}} = 0$  (1),  $1 \times 10^{-12}\text{M}$  (2),  $1 \times 10^{-11}\text{M}$  (3),  $1 \times 10^{-10}\text{M}$  (4),  $1 \times 10^{-9}\text{M}$  (5),  $1 \times 10^{-8}\text{M}$  (6),  $1 \times 10^{-7}\text{M}$  (7),  $1 \times 10^{-6}\text{M}$  (8),  $1 \times 10^{-5}\text{M}$  (9),  $1 \times 10^{-4}\text{M}$  (10), а також для розчину у воді С – 107 з ДМСО (5%) при  $C_{\text{С-107}} = 1 \times 10^{-4}\text{M}$  (11) (для АТФ – С-107 (1-10)  $\lambda_{36} = 282 \text{ нм}$ ,  $\lambda_{\text{ем}} = 395 \text{ нм}$ , для С-107 (11)  $\lambda_{36} = 275 \text{ нм}$ ,  $\lambda_{\text{ем}} = 415 \text{ нм}$ , (рН =6,5, Т = 21°C).

Видно, що в спектрах є дві різних ділянки гасіння ФЛ. Перша включає розчини у воді АТФ з концентраціями С-107 від  $1 \times 10^{-12}\text{M}$  до  $1 \times 10^{-9}\text{M}$ , а друга ділянка відповідає розчинам з вмістом С – 107 від  $1 \times 10^{-8}\text{M}$  до  $1 \times 10^{-4}\text{M}$ .

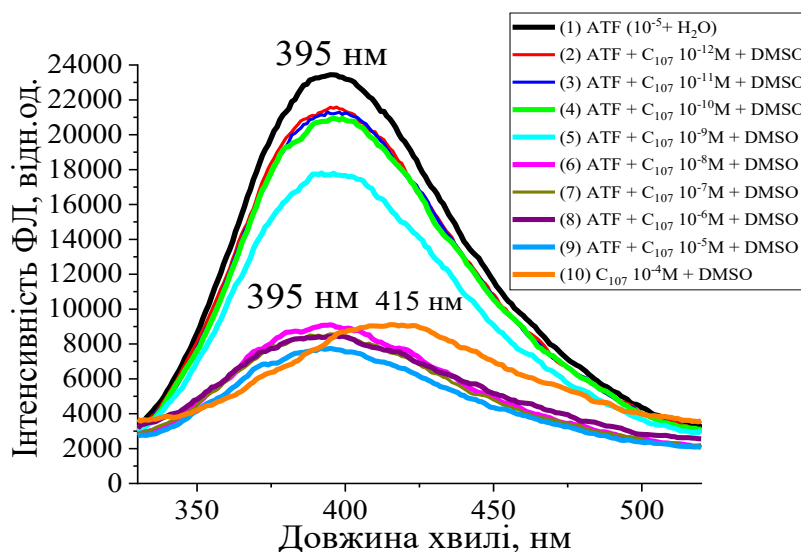
Обидві ділянки містять кілька порядків значень вмісту калікс[4]арену. Гасіння ФЛ в окремих інтервалах є незначним, незважаючи на сильну зміну вмісту С-107. Така поведінка гасіння ФЛ є незвичною для багатьох молекулярних систем, в першу чергу, протеїнів БСА, НАS та лікарських препаратів [77-81]. Можна припустити, що для даної системи неможливо застосовувати відомі механізми гасіння ФЛ, що описуються рівняннями Штерна – Фольмера або його модифікаціями. Очевидно, що гасіння ФЛ наявне, але його більш складна поведінка зумовлена складним характером міжмолекулярної взаємодії, викликаній різними силами зв'язування, можливими для розглянутих молекул. При цьому величина гасіння ФЛ не є пропорційною концентрації ліганда (рецептора). Водночас, в окремих інтервалах концентрацій вказана залежність може зберігатися. При цьому в обох інтервалах концентрацій може зберігатися вказана залежність. Але в обох інтервалах концентрацій, незважаючи на різні механізми зв'язування, величина взаємодії в комплексах залишається малою.

Для системи АТФ – С-107 у випадку збудження при  $\lambda_{36} = 272$  нм зберігається аналогічна поведінка гасіння ФЛ. Відповідні спектри емісії та збудження ФЛ наведено на Рис. 3.16. Збудження  $\lambda_{36} = 272$  нм, що відповідає смузі поглинання С – 107 не змінює положення смуги емісії АТФ біля  $\lambda_{cm} = 395$  нм. Видно незначне гасіння ФЛ за малих концентрацій С – 107 до значення  $1 \times 10^{-10}$  М. Гасіння ФЛ різко зростає при наступній концентрації  $1 \times 10^{-9}$  М, а при концентрації  $1 \times 10^{-8}$  М спостерігається його стрибок. Для більш високих концентрацій С – 107 гасіння ФЛ знову стає незначним. Загальна інтенсивність ФЛ для сумішей АТФ – С – 107 істотно зменшується.

Гасіння ФЛ ускладнюється для більш високих концентрацій С-107 в інтервалі від  $1 \times 10^{-4}$  М до  $10 \times 10^{-4}$  М при  $\lambda_{36} = 275$  нм. В даній області концентрацій після різкого падіння інтенсивності емісії ФЛ для суміші АТФ з вмістом С-107  $C_{C-107} = 1 \times 10^{-4}$  М по відношенню до інтенсивності смуги АТФ з  $C_{АТФ} = 3 \times 10^{-4}$  М спостерігається незначне гасіння. Водночас, з

підвищенням вмісту С-107 відбувається зміщення смуги ФЛ від 395 нм до 415 нм, тобто положення максимуму ФЛ для калікс[4]арену С-107 [76].

а



б

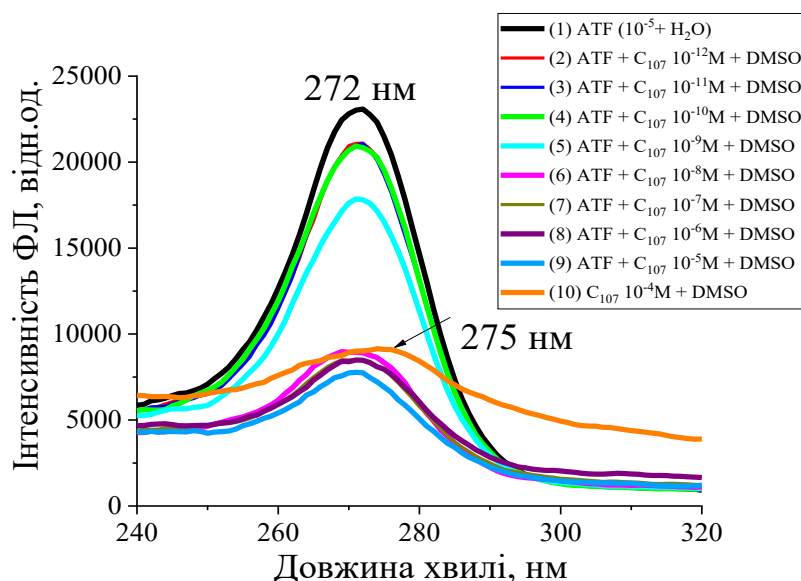


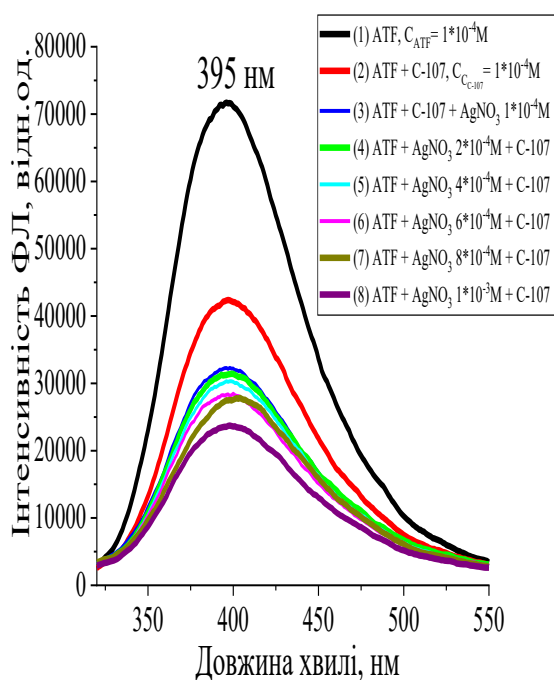
Рис. 3.16. Спектри емісії (а) та збудження (б) ФЛ для розчинів у воді АТФ – С-107 з постійною концентрацією АТФ  $C_{\text{АТФ}} = 1 \times 10^{-5}$  М і вмістом калікс[4]арену (вміст ДМСО 5%) С-107 0 (1),  $1 \times 10^{-12}$  М (2),  $1 \times 10^{-11}$  М (3),  $1 \times 10^{-10}$  М (4),  $1 \times 10^{-9}$  М (5),  $1 \times 10^{-8}$  М (6),  $1 \times 10^{-7}$  М (7),  $1 \times 10^{-6}$  М (8),  $1 \times 10^{-5}$  М (9) при  $\lambda_{\text{зб}} = 282$  нм,  $\lambda_{\text{ем}} = 395$  нм, а також для розчину у воді С-107 (вміст ДМСО 5%) з концентрацією  $C_{\text{С-107}} = 1 \times 10^{-4}$  М при  $\lambda_{\text{зб}} = 275$  нм,  $\lambda_{\text{ем}} = 415$  нм (10), (рН = 6,5, Т = 21°C).

### 3.2. Комплекс АТФ з калікс[4]ареном С-107 та $\text{Ag}^+$

Відомо, що АТФ формує не лише супрамолекулярні комплекси, що супроводжується впливом на процеси гідролізу, а також комплекси з металами, в яких також відбувається модуляція параметрів зв'язування кінцевих ангідридних зв'язків.

На Рис. 3.17. показано характер гасіння ФЛ молекул АТФ в розчинах у воді при зростанні концентрації  $\text{AgNO}_3$  від  $1 \times 10^{-4}$  М до  $10 \times 10^{-4}$  М в присутності калікс[4]аренів С-107. Для всіх розчинів вміст С-107 зберігається постійним ( $1 \times 10^{-4}$  М).

а



б

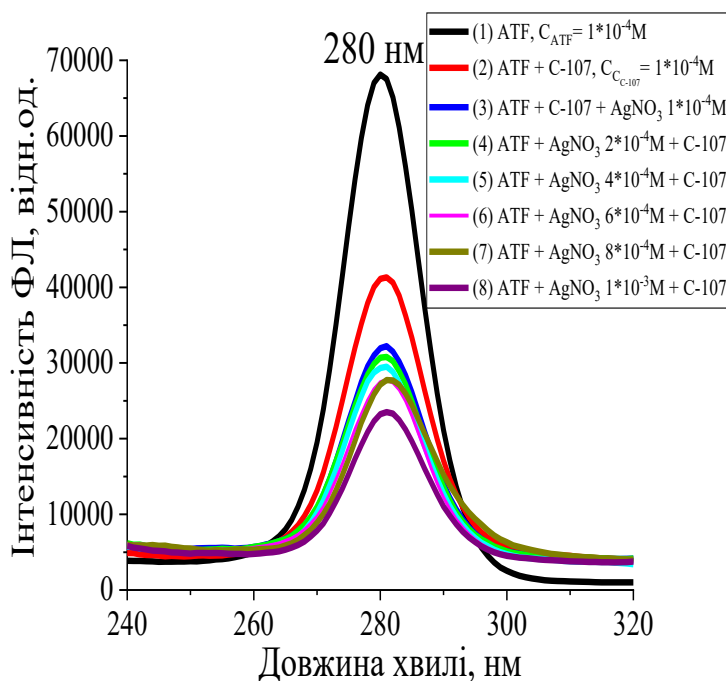


Рис. 3.17. Спектри емісії (а) та збудження (в) ФЛ для розчинів у воді АТФ при постійних концентраціях  $C_{\text{АТФ}} = 1 \times 10^{-4}$  М (1) АТФ – С-107 при постійній концентрації  $C_{\text{С-107}} = C_{\text{АТФ}} = 1 \times 10^{-4}$  М (2), АТФ – С-107 -  $\text{AgNO}_3$  з концентраціями  $C_{\text{Ag}^+} = 1 \times 10^{-4}$  М (3),  $2 \times 10^{-4}$  М (4),  $4 \times 10^{-4}$  М (5),  $6 \times 10^{-4}$  М (6),  $8 \times 10^{-4}$  М (7),  $1 \times 10^{-3}$  М (8) ( $\lambda_{\text{зб}} = 280$  нм,  $\lambda_{\text{ем}} = 395$  нм,  $\text{pH} = 5,8$ ,  $T = 20^\circ\text{C}$ ).

Видно, що додавання молекул С-107 ( $1 \times 10^{-4}\text{M}$ ) до розчину у воді АТФ приводиться до зменшення інтенсивності ФЛ майже вдвічі. Подальше титрування розчину у воді АТФ – С-107 іонами срібла  $\text{Ag}^+$  ( $1 \times 10^{-4}\text{M}$ ) відбувається подальше гасіння ФЛ, яке змінюється мало із збільшенням вмісту металу до  $1 \times 10^{-3}\text{M}$ .

Варто відмітити, що у відсутності в розчинах іонів  $\text{Ag}^+$  за таких самих концентрацій С-107 при збільшенні вмісту калікс[4]арену спостерігається зміщення смуги ФЛ і до її положення для розчинів С-107 при зростанні інтенсивності. В присутності  $\text{Ag}^+$  перебудова вказаної смуги ФЛ не відбувається при гасінні ФЛ, що вказує на стабілізацію комплексів АТФ – С-107 за наявності іонів  $\text{Ag}^+$  [76].

### 3.3. Комп'ютерне моделювання молекул АТФ та калікс[4]арену

Для дослідження комплексоутворення молекул каліксарену та АТФ спочатку виконувалось моделювання методом молекулярного докінгу та динаміки з метою отримання грубої оцінки можливих конфігурацій даних комплексів, їх енергії зв'язування та стійкості у водному розчиннику [82], [83-101]. В рамках моделювання враховуються лише слабкі сили взаємодії молекул у комплексах: електростатичні, Ван-дер-Ваальсівські, водневі зв'язки, гідрофобна взаємодія. Моделювання проводилось у програмних пакетах AutoDock 4.2 з напівемпіричною скорінг-функцією та Desmond з полем сил OPLSe.

В результаті моделювання молекулярного докінгу встановлено декілька можливих наближених конфігурацій згаданих молекулярних комплексів, найоптимальніші з яких (з енергетичної точки зору) наведено на Рис.3.17.

Для комплексу (Рис.3.17) проведено моделювання молекулярної динаміки у водному розчиннику протягом 3 нс. Комплекс виявився стійким з незначними відхиленнями 1-2 Å для всіх атомів взаємодіючих молекул,

зокрема найменш рухомою є бічна частина каліксаренової «чаші», представлена чотирьома вуглецевими кільцями, та аденінова група молекули АТФ. Найбільш рухомим є фосфатний «хвіст» АТФ та  $\text{NH}_3$ -групи каліксарену. Проаналізовано відхилення молекул калікс[4]арену та АТФ в молекулярній динаміці. Дані результати наведено на Рис. 3.18.

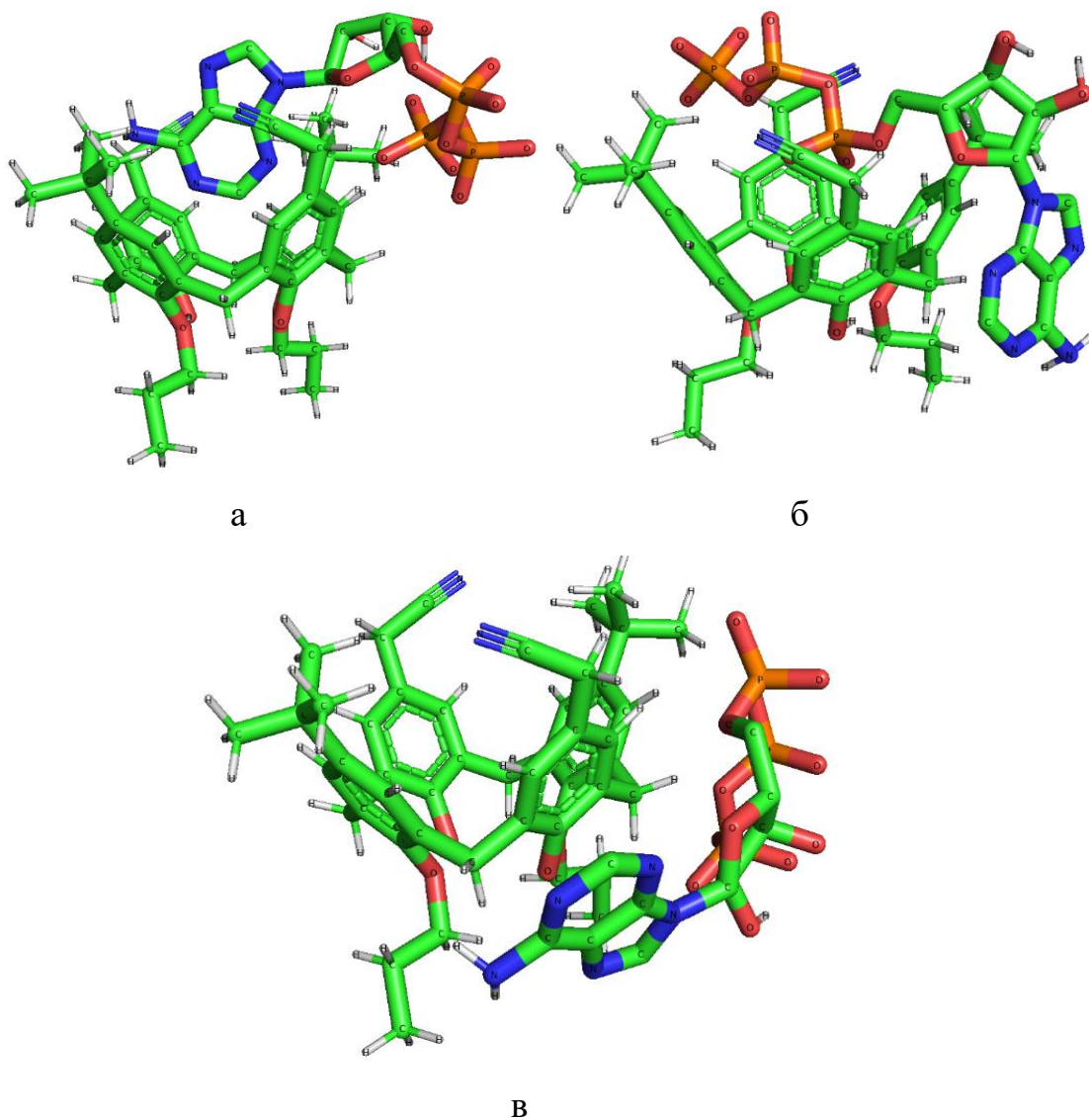
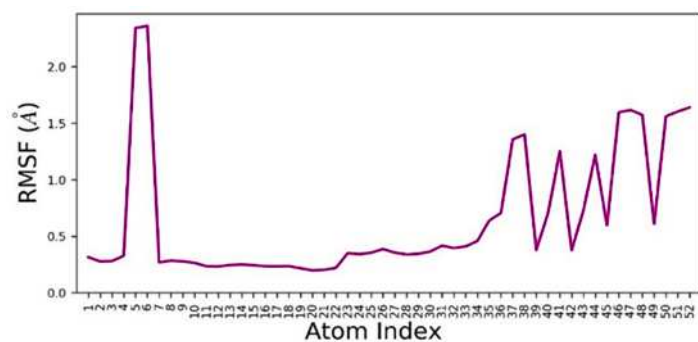
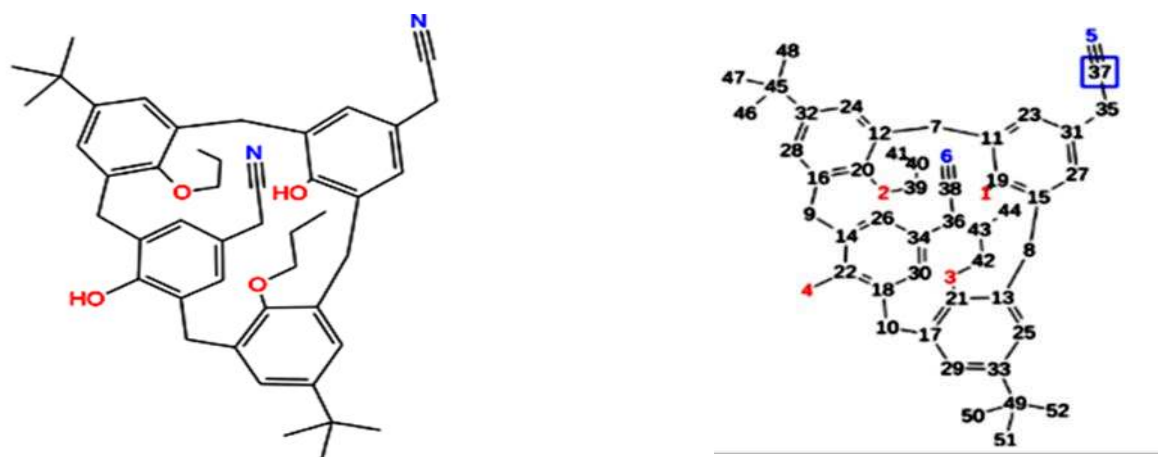
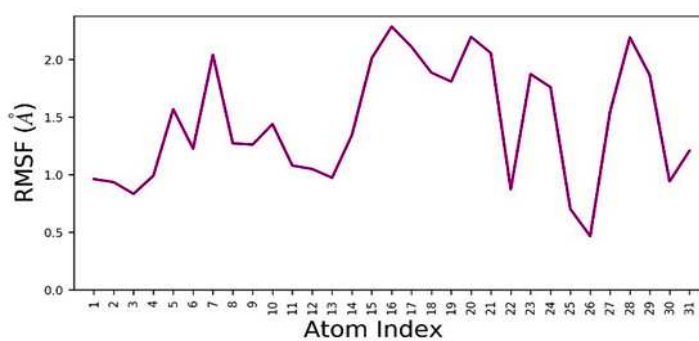
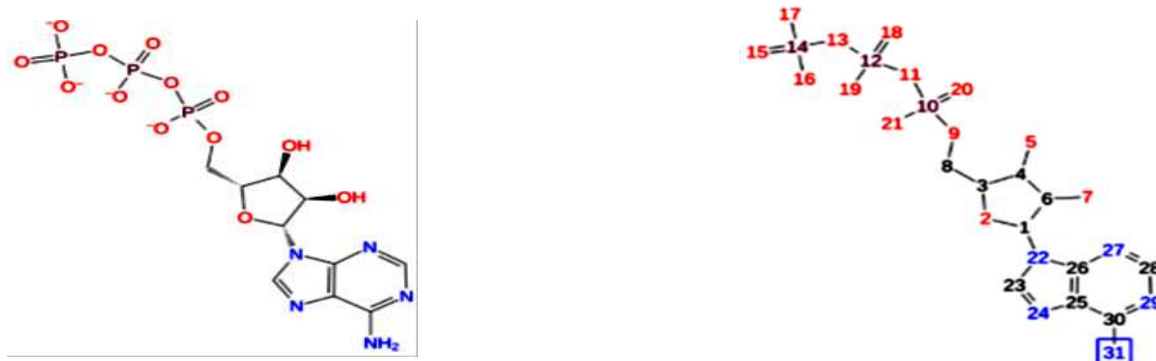


Рис. 3.17. Можливі конфігурації взаємного розташування молекул каліксарену та АТФ у комплексі: (а) аденіновий остов в «чашці» каліксарену; (б) аденіновий остов збоку, фосфатний «хвіст» над каліксареновою «чашкою»; (в) аденіновий остов та фосфатні групи збоку від «чашки». Літери та відповідні кольори на рисунку позначають хімічні елементи будови молекул.



а



б

Рис. 3.18. Аналіз відхилень молекул каліксарену (а) та АТФ (б) в молекулярній динаміці.

Головною комплексоформуючою силою є  $\pi$ - $\pi$ -стекова взаємодія (Рис. 3.19.), як один із типів гідрофобної взаємодії. Взаємодія виникає між кільцями аденінової групи молекули АТФ та чотирьома вуглецевими кільцями каліксарену (інтенсивність взаємодії з тими чи іншими кільцями змінюється в процесі симуляції).

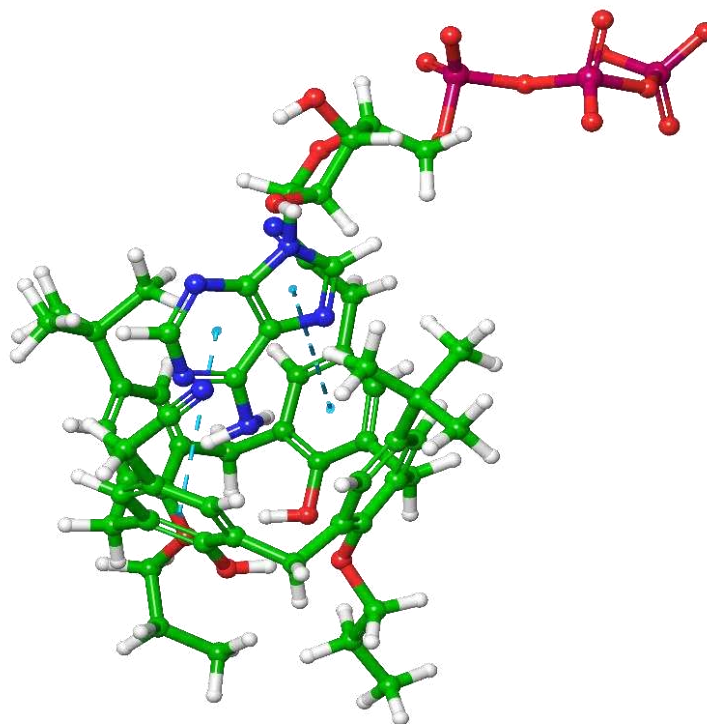


Рис. 3.19. Молекулярний комплекс з аденіновий остовом в «чашці» каліксарену та позначеною пунктиром  $\pi$ - $\pi$ -стековою взаємодією. (Кольорова відповідність хімічним елементам аналогічна Рис. 3.17.).

Формування комплексів молекул АТФ з каліксаренами підтверджується і квантово-хімічні розрахунки методом функціоналу густини, Gaussia 09, DFT (B3LYP, 3-21G). Комплекси з молекулою АТФ, що розташована над більшим діаметром каліксарену та біля його стінки характеризується змінами в області енергетичної щілини, у порівнянні зі значеннями електронних рівнів для окремих компонент. Так, розташування молекули АТФ над каліксареном приводить до зміни форми його молекулярної орбіталі НОМО, яка локалізується на половині стінки

каліксарену у комплексі у порівнянні із симетричною делокалізацією вздовж усієї стінки в незалежному стані. Формується також орбіталь LUMO, що розташована одночасно на АТФ та верхній частині каліксарену.

У випадку розташування АТФ біля стінки каліксарену має місце комплексоутворення за рахунок  $\pi$ - $\pi$ -стекової взаємодії, що сформована паралельним розташуванням індольного фрагменту АТФ з фенольним кільцем каліксарену. Рівень НОМО даного комплексу розташований на половині каліксарену, в той час як LUMO є орбіталлю, розташованою на індолі та стінці чаші. Дана орбіталь LUMO, як і у випадку з локалізацією над каліксареном, енергетично залишається майже не зсунутою відносно рівнів LUMO окремих компонент, які мають майже однакові значення. Проте НОМО орбіталь в обох випадках зсувається вгору: на 0.5 еВ для бічного розташування та на 0,2 еВ при локалізації над більшим діаметром каліксарену. Зменшення енергетичної щільності при формуванні даних комплексів повинно проявлятися в спектрах поглинання шляхом зсуву в червону область [76].

### Висновки до розділу 3

●Спектри оптичної густини розчинів у воді молекул АТФ характеризуються наявністю двох максимумів. Має місце один сильний пік оптичної густини та кілька перегинів в області більших довжин хвиль. При підвищенні вмісту молекул калікс[4]арену в розчинах у воді системи АТФ – С-107 відбувається складна перебудова спектрів оптичного поглинання, особливо помітна для вищої концентрації молекул С-107.

●Збудження розчинів у воді АТФ з довжиною хвилі  $\lambda_{36}=272\text{нм}$  призводить до емісії ФЛ біля  $\lambda_{\text{ем}}=395\text{нм}$ , а збудження розчинів у воді молекул калікс[4]арену С-107 з довжиною хвилі для  $\lambda_{36}=280\text{нм}$  супроводжується емісією ФЛ біля  $\lambda_{\text{ем}}=408\text{нм}$ .

●Спектри ФЛ збудження розчинів у воді молекул АТФ, отримані в положенні максимуму емісії ФЛ  $\lambda_{\text{ем}}=395\text{нм}$ , показують появу максимуму для  $\lambda=270\text{нм}$ . Спектри ФЛ збудження розчинів у воді молекул С-107, отримані в положенні максимуму емісії ФЛ  $\lambda_{\text{ем}}=410\text{нм}$ , показують появу двох піків оптичного поглинання біля  $\lambda=278\text{нм}$  і  $\lambda=325\text{нм}$ . Найбільший за інтенсивністю пік емісії ФЛ розчину у воді системи АТФ – С-107 з високими концентраціями складових спостерігається біля  $\lambda_{\text{ем}}=405\text{нм}$  при  $\lambda_{36}=340\text{нм}$ .

●Спектри емісії ФЛ і ФЛ збудження розчинів у воді системи АТФ – С-107 немонотонно змінюються з ростом вмісту молекул калікс[4]арену, що свідчить про одночасне протікання процесів неензиматичного гідролізу АТФ та комплексоутворення молекул АТФ з молекулами калікс[4]арену С-107.

●Для розчинів у воді АТФ і калікс[4]аренів С-107 за постійної концентрації молекул АТФ при зростанні вмісту С-107 спостерігається складний характер гасіння ФЛ при збереженні положення смуги ФЛ біля  $395\text{нм}$  ( $\lambda_{36} = 285\text{нм}$ ). Його складність полягає з одного боку в широкому діапазоні концентрацій С-107, при якому воно має місце, а з іншого існують розриви в величинах гасіння для окремих концентрацій калікс[4]арену, біля

яких воно змінюється мало. Вказаний характер гасіння ФЛ помітно залежить від величини  $\lambda_{36}$  та температури.

●Подібна поведінка гасіння зберігається при додаванні до сумішей АТФ – С-107, (САТФ =СС-107 =  $1 \times 10^{-4}$  М) солей  $\text{AgNO}_3$  в інтервалі концентрацій від  $1 \times 10^{-4}$  М до  $1 \times 10^{-3}$  М. Збільшення вмісту іонів  $\text{Ag}^+$ , які в свою чергу утворюють комплекси з АТФ, приводить до зростання гасіння ФЛ, яке залишається незначним. Водночас, за наявності іонів  $\text{Ag}^+$  відсутнє зміщення смуги біля 395 нм в бік положення смуги для С-107 (415нм).

●Комп'ютерне моделювання показує, що система АТФ – С-107 може утворювати енергетично стійкі комплекси за умови розташування АТФ на вершині калікс[4]арену та вздовж його стінки за рахунок  $\pi$ - $\pi$  -стекінгу взаємодії. Комплекси характеризуються звуженням енергетичних зон.

## РОЗДІЛ 4

### ГЕТЕРОАСОЦІАЦІЯ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТУ З КАЛІКС[4]АРЕНОМ C-107 ТА ІОНАМИ МЕТАЛІВ

#### 4.1. Комплекс АТФ - Ag<sup>+</sup>

АТФ є відповідальним за біологічну активність оптимального транспорту іонів Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> через канали мембран клітин. Відомо, що загальна концентрація АТФ в крові, клітинах, тканинах повинна підтримуватися сталою. Порушення цих значень приводить до ряду захворювань [102].

Оптимізувати біологічну активність АТФ можна за рахунок їх асоціації з різними молекулярними та наноструктурами, внаслідок комплексоутворення з іонами металів. Такій гетероасоціації сприяє молекулярна будова АТФ. Відомо, що до складу АТФ входить аденін як основа з включеннями атомів нітрогену N в різних положеннях та наявності амідогрупи (-NH<sub>2</sub>). Вказана будова аденіну сприяє під'єднанню іонів різних елементів та виникненню стекової взаємодії. До аденіну під'єднується цукрова рибоза, що включає гідроксильні групи (-ОН) і як наслідок можливість утворення водневих зв'язків. Рибоза, в свою чергу, об'єднана з трифосфатним хвостом, що за фізіологічних умов зберігає аніонну форму бічних атомів Оксигену. Вказані іони створюють навколо трифосфатної групи сильне електростатичне поле, здатне створювати Кулонівську взаємодію з полярними структурами, в тому числі з полярними барвниками, що можуть використовуватися як молекулярні зонди для отримання флуоресцентного зображення розподілу АТФ. Металеві атоми та їх іони відіграють важливу роль в результаті взаємодії з біомолекулами, оскільки впливають на їх функціональну активність. Серед різноманітних біоструктур особливе місце займають координаційні комплекси типу метал – ліганд (ФЛ), компонентами яких виступають іони Ag<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> та нуклеозиди або нуклеотиди. Іони металів, як і органічні катіони при утворенні

координаційних комплексів із вказаними біоструктурами впливають на метаболізм, синтез ліпідів та на транспорт енергії і, як наслідок, на протікання ряду біохімічних процесів. Очевидно, що ефективність таких процесів залежить від стійкості вказаних комплексів. Серед згаданих іонів металів значний інтерес представляють координаційні комплекси з  $Ag^+$ , в тому числі для DNA, враховуючи антибактеріальні, низькотоксичні властивості даних матеріалів [103, 104].

#### 4.1.1. Квантово-хімічні розрахунки комплексу АТФ з іоном $Ag^+$

Квантово-хімічні розрахунки комплексу АТФ з іоном  $Ag^+$  проводилися методом DFT з функціоналом B3LYP і базисом 3-31G у програмі Gaussian-09. Оптимізація геометрії молекули АТФ та АТФ з іоном  $Ag^+$  показує, що іон  $Ag^+$  розташований над аденіном АТФ, (Рис.4.1)

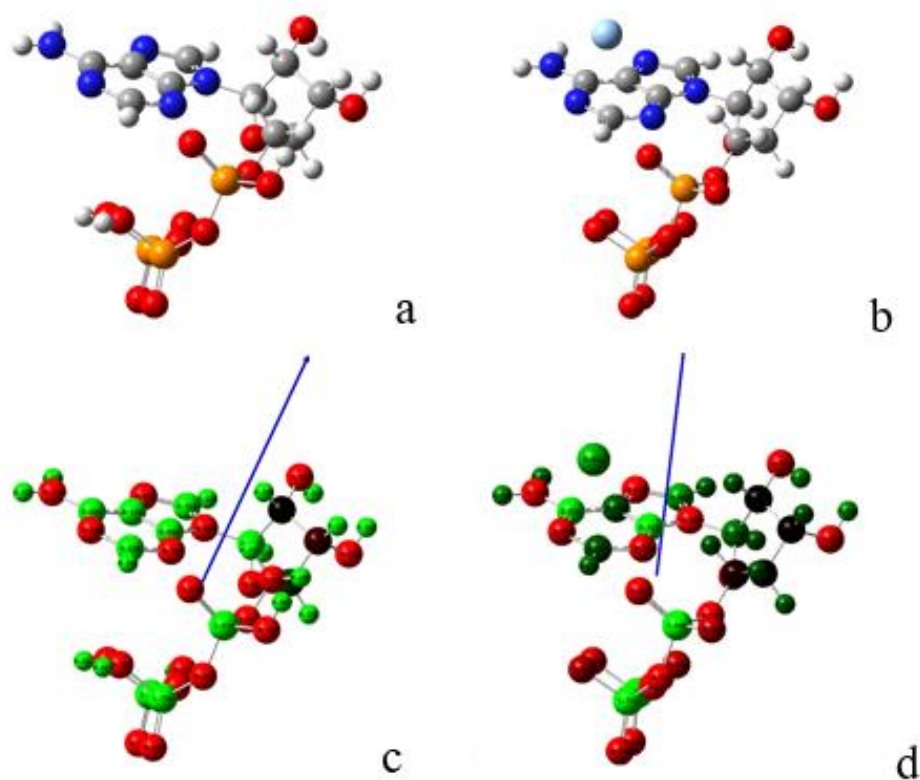


Рис. 4.1. Оптимізована геометрія молекули АТФ (а) та АТФ з іоном  $Ag^+$  (б) та розподіл заряду на них (в), (г) відповідно. Стрілки показують напрямки дипольних моментів. Атоми червоного кольору позначають негативно заряджені, зелені – позитивно заряджені атоми.

Відстань від іона  $\text{Ag}^+$  до атома Нітрогену, пронумерована 6-м 2,34 А, (Рис.4.2.). Присутність іона  $\text{Ag}^+$  призводить до зміни напрямку дипольного імпульсу, стрілка стає ближче до п'ятикутного кільця аденозину) і збільшення його величини з 16,5 D до 26,7 D. Зміна дипольного моменту зумовлений перерозподілом заряду комплексу АТФ- $\text{Ag}^+$  порівняно з незалежною молекулою АТФ, Рис. 4.2, в, д.

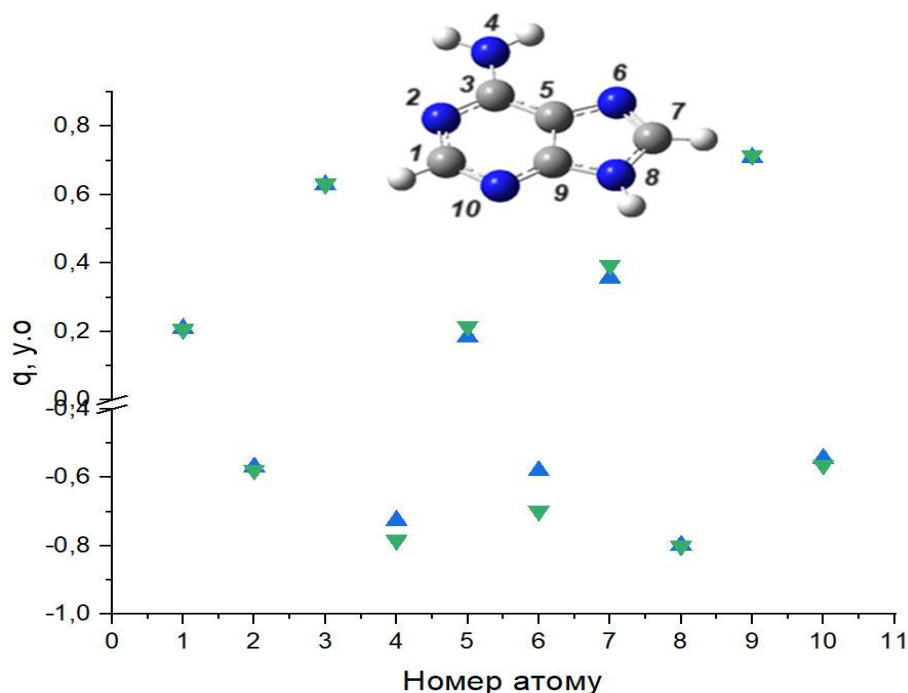


Рис. 4.2. Розподіл зарядів на атомах аденозину молекули АТФ: сині трикутники відповідають атомам АТФ, зелені трикутники – комплексу АТФ з іоном  $\text{Ag}^+$ .

Атоми Карбону 1, 3, 9 не чутливі до присутності іона  $\text{Ag}^+$ , те саме стосується атома Нітрогену 2 між ними, Нітрогену 10, який знаходиться близько до Карбону 1. Найбільш чутливим є атом Нітрогену 6, заряд якого зменшується від -0,58 до -0,7 у.о., Нітрогену 4: від -0,73 у.о. до -0,78 і атоми вуглецю 5 і 7 з 0,03 у.о. Згідно з розрахунками, іон  $\text{Ag}^+$  впливає на рівні НОМО і LUMO АТФ: від -7,27 еВ для НОМО АТФ до -6,7 для АТФ з іоном  $\text{Ag}^+$ . Рівень LUMO підвищується від -7,27 еВ до -6,7 еВ відповідно, що призводить до розширення енергетичної щілини на 1,5 еВ та її зміщення [105,106].

#### 4.1.2. Спектральні властивості емісії і збудження ФЛ водних розчинів АТФ - $\text{AgNO}_3$

У випадку титрування водного розчину АТФ аналогічним розчином  $\text{AgNO}_3$  з високим вмістом солі спостерігається гасіння емісії ФЛ флуорофора, яким в АТФ виступає аденін. Водночас, ступінь гасіння і величина інтенсивності емісії ФЛ залежить від довжини хвилі збудження при збереженні положення максимуму від нуклеотиду  $\lambda_{\text{ем}}=395$  нм.

Спектри гасіння емісії і збудження ФЛ для водного розчину АТФ -  $\text{AgNO}_3$  при  $\lambda_{\text{зб}} = 270$  нм показано на Рис. 4.3.

а

б

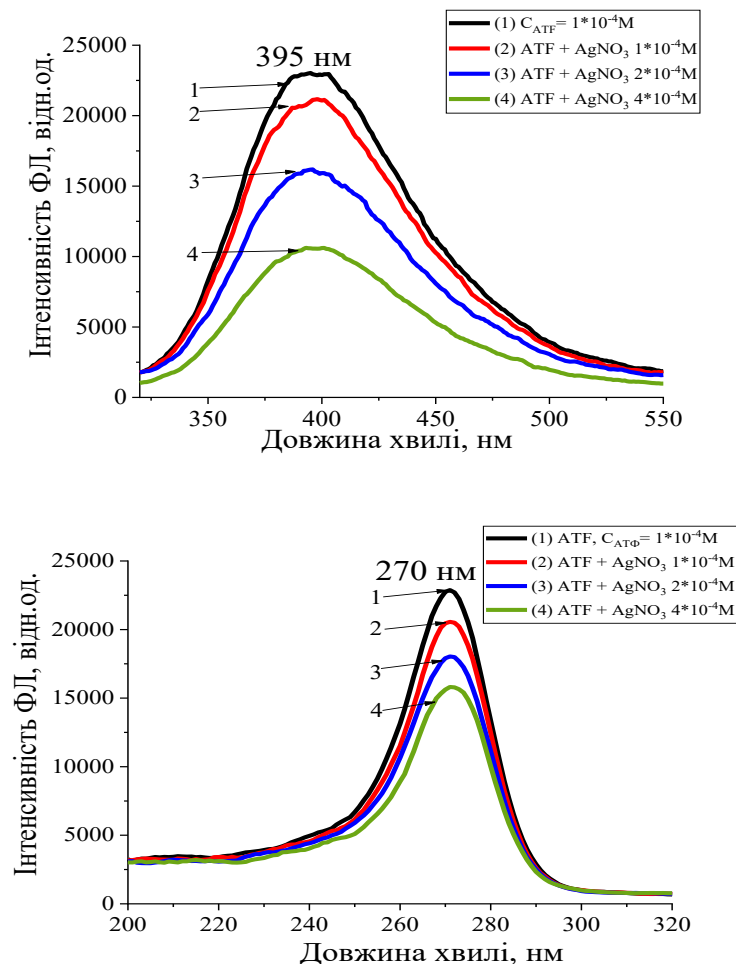


Рис. 4.3. Спектри розчинів у воді АТФ -  $\text{AgNO}_3$  емісії (а) та збудження (в) ФЛ з постійною концентрацією АТФ  $C_{\text{АТФ}} = 1 \times 10^{-4} \text{ M}$  та вмістом  $\text{AgNO}_3$  0 (1),  $1 \times 10^{-4}$  (2),  $2 \times 10^{-4}$  (3),  $4 \times 10^{-4}$  (4), при  $\lambda_{\text{зб}} = 270$  нм ( $\text{pH} = 5,8, T = 293 \text{ K}$ ).

На Рис. 4.4. наведено поведінку спектрів ФЛ для розчинів у воді АТФ -  $\text{AgNO}_3$  з постійною концентрацією  $C_{\text{АТФ}}$ , різним вмістом  $\text{AgNO}_3$  з підвищенням температури від 20 до 30 і 40 °С.

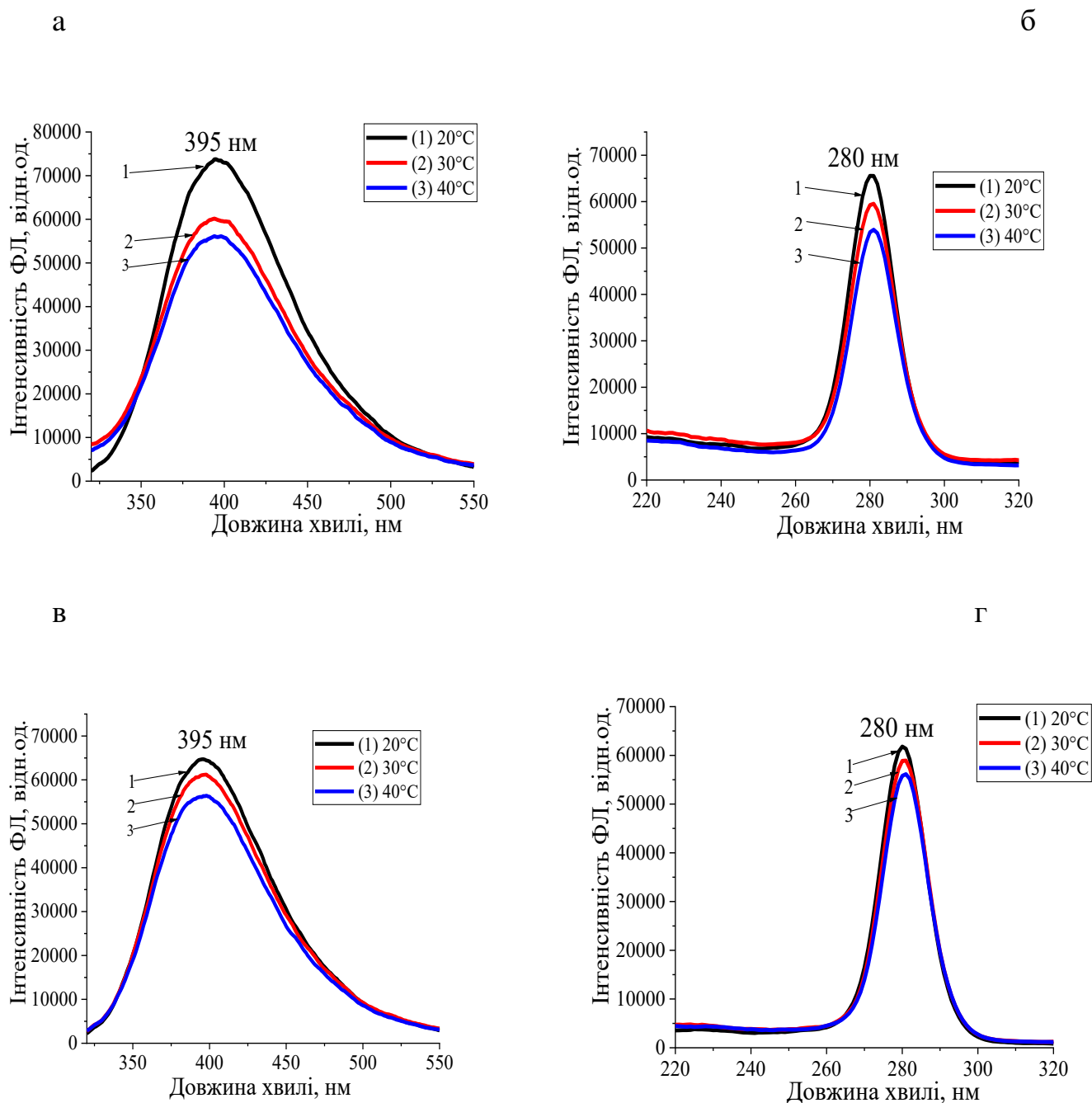
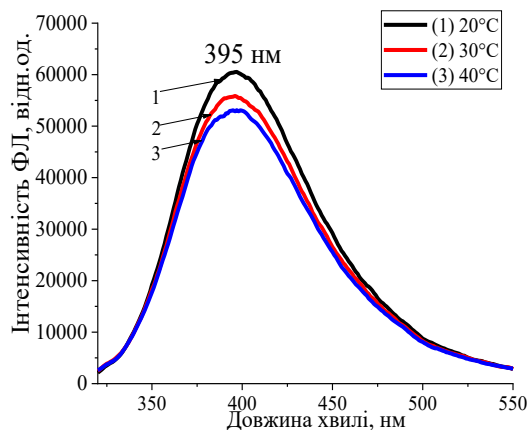


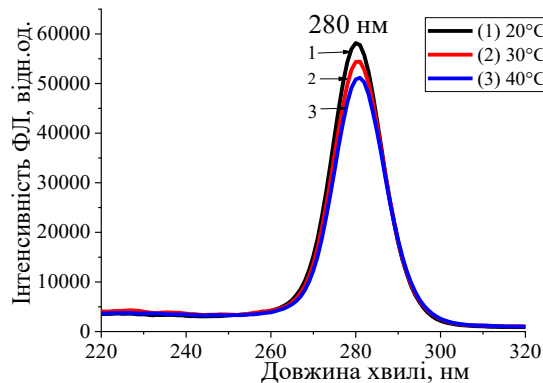
Рис. 4.4. Спектри розчинів у воді АТФ -  $\text{AgNO}_3$  з постійною концентрацією АТФ ( $C_{\text{АТФ}} = 1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ) емісії (а, в) та збудження (б, г) ФЛ з вмістом  $\text{AgNO}_3$  1,0 (а, б), 2,0 (в, г) за температур 20 (1), 30 (2), 40°C (3), (рН = 5,8,  $\lambda_{\text{зб}} = 280 \text{ нм}$ ,  $\lambda_{\text{ем}} = 395 \text{ нм}$ ).

Рис. 4.4. (продовження).

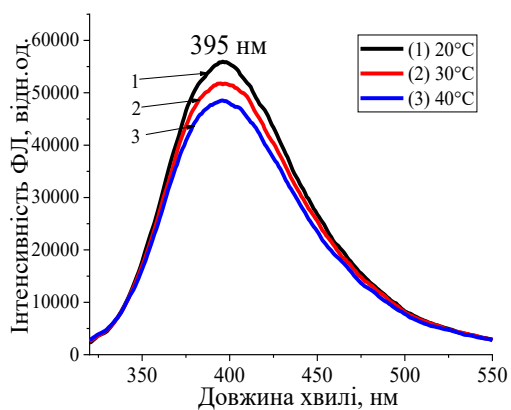
Д



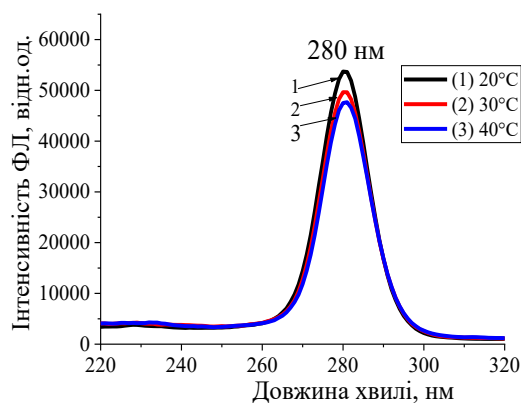
е



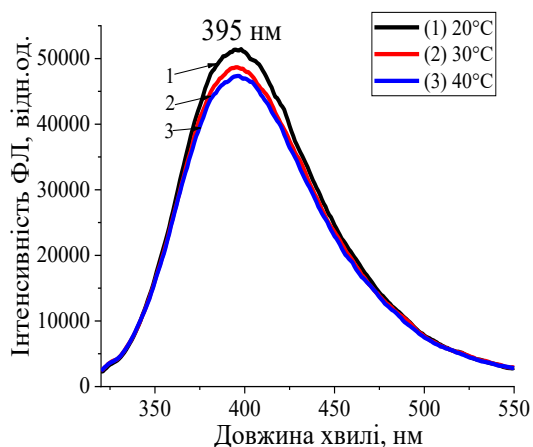
є



ж



з



и

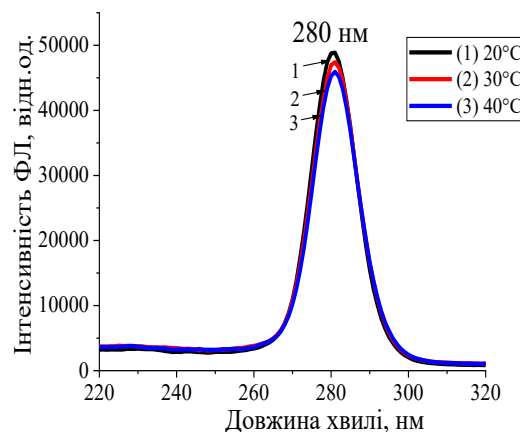
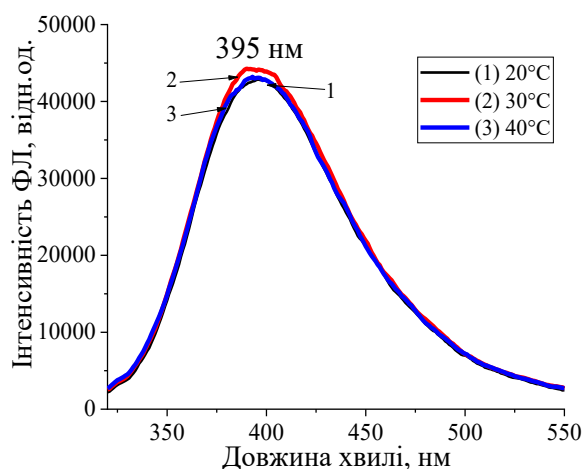


Рис. 4.4.(продовження). Спектри розчинів у воді АТФ -  $\text{AgNO}_3$  з постійною концентрацією АТФ ( $C_{\text{АТФ}} = 1 \times 10^{-4}$  М) емісії (д,є,з) та збудження (е,ж,и) ФЛ з вмістом  $\text{AgNO}_3$  4,0 (д, е), 6,0 (є, ж),  $8,0 \times 10^{-4}$  М (з, и) за температур 20 (1), 30 (2), 40°C(3), ( $\text{pH}=5,8$ ,  $\lambda_{\text{зб}}=280$  нм,  $\lambda_{\text{ем}}=395$  нм).

Рис. 4.4. (продовження).

і



ї

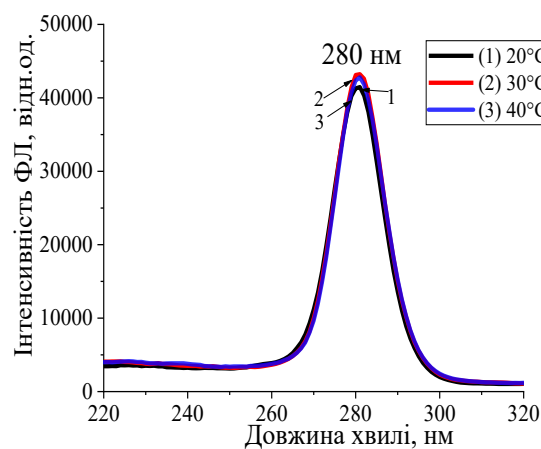
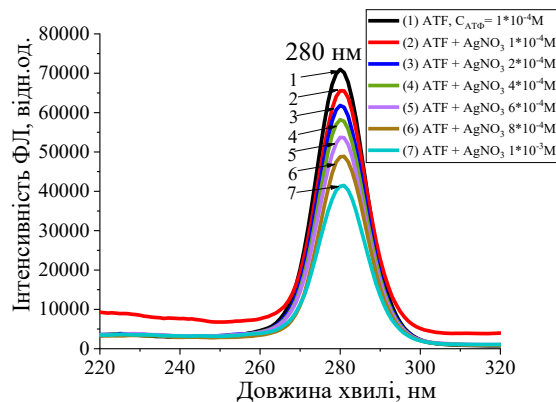
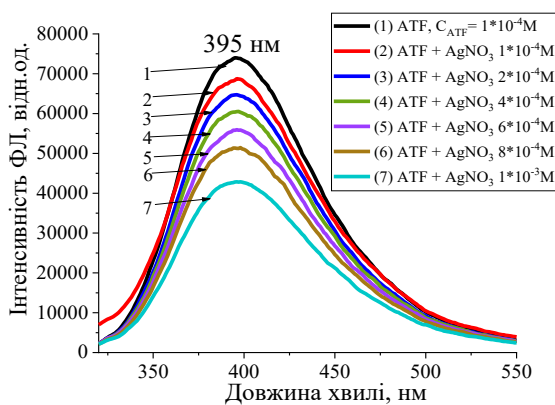


Рис. 4.4.(продовження). Спектри розчинів у воді АТФ -  $\text{AgNO}_3$  з постійною концентрацією АТФ ( $C_{\text{АТФ}} = 1 \times 10^{-4}$  М) емісії (і) та збудження (ї) ФЛ з вмістом  $\text{AgNO}_3$   $1,0 \times 10^{-3}$  М (і, ї) за температур 20 (1), 30 (2), 40°C (3), (рН = 5,8,  $\lambda_{\text{зб}} = 280$  нм,  $\lambda_{\text{ем}} = 395$  нм).

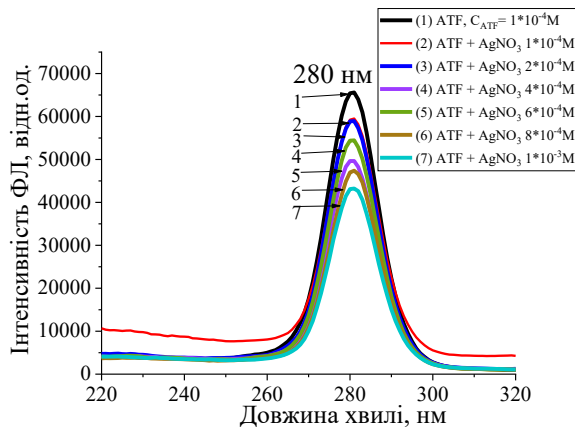
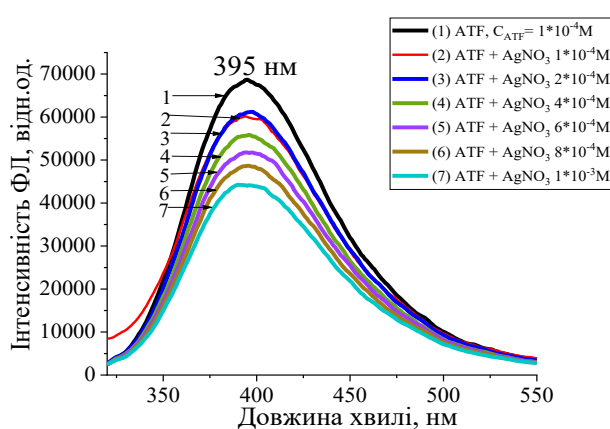
Видно, що для всіх концентрацій  $\text{AgNO}_3$  смуги ФЛ зберігають своє положення біля  $\lambda_{\text{ем}} = 395$  нм,  $\lambda_{\text{зб}} = 280$  нм. Разом з тим, величина гасіння ФЛ для різних температур відрізняється менше. Це свідчить про складний характер під'єднання іонів  $\text{Ag}^+$  до нуклеотиду АТФ, який визначається не лише температурою, а також вмістом нітрату срібла  $\text{AgNO}_3$ . Не виключено, що такий складний характер взаємодії між іоном  $\text{Ag}^+$  та аденіновою складовою викликано не лише координацією  $\text{Ag}^+$  з атомом N7, а також передбачає  $\alpha$  – електронів на валентній орбіталі  $\text{Ag}^+$  до ліганду. Крім того, місцями зв'язування іонів  $\text{Ag}^+$  можуть виступати інші атоми N1 або N3 аденінових циклів. Між іоном  $\text{Ag}^+$  та ароматичним кільцем також може виникати стекова взаємодія. [105-106].

На Рис. 4.5. представлено спектри емісії і збудження ФЛ для розчинів у воді і АТФ -  $\text{AgNO}_3$  при постійній концентрації флуорофора та змінного вмісту гасника за різних температур. Емісія ФЛ визначалася при  $\lambda_{\text{зб}} = 280$  нм, а збудження ФЛ вимірювалася при  $\lambda_{\text{ем}} = 395$  нм, тобто параметрів характерних для флуорофора АТФ.

а



в



д

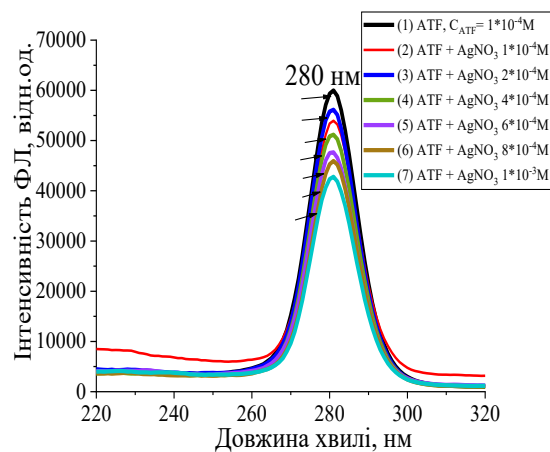
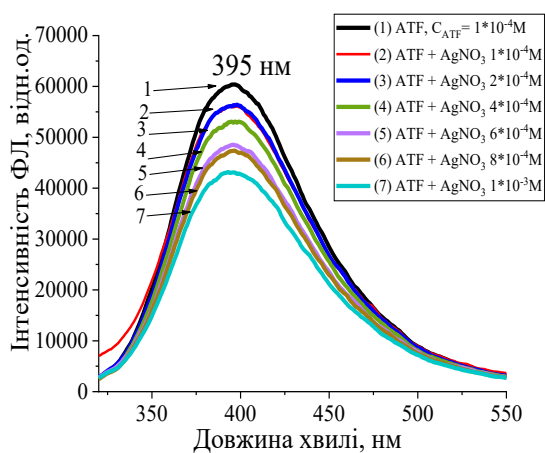


Рис. 4.5. Спектри емісії (а, в, д) та збудження (б, г, е) ФЛ для розчинів у воді АТФ -  $\text{AgNO}_3$  з постійною концентрацією флуорофора  $C_{\text{АТФ}} = 1 \times 10^{-4}$  М та вмістом гасника  $\text{AgNO}_3$  0 (1),  $1,0$  (2),  $2,0$  (3),  $4,0$  (4),  $6,0$  (5),  $8,0 \times 10^{-4}$  М (6) та  $1,0 \times 10^{-3}$  М (7), при  $T = 20$  °С (а, в),  $T = 30$ °С (с, d),  $T = 40$ °С (е, f), ( $\text{pH} = 5,8$ ,  $\lambda_{\text{зб}} = 280$  нм,  $\lambda_{\text{ем}} = 395$  нм).

4.1.3. *Константи зв'язування та термодинамічні параметри водних розчинів*  
*ATФ - AgNO<sub>3</sub>*

У випадку динамічного гасіння ФЛ, зумовленого зіткненням донора та акцептора збудженої енергії флуорофора за час життя у збудженому стані  $\tau_0$ , визначається дифузією компонент водного розчину. В свою чергу, через коефіцієнти дифузії для даного механізму гасіння можна визначити коефіцієнт швидкості гасіння ФЛ  $k_q$ . У відповідності до рівняння Штерна – Фольмера [59-60] коефіцієнт  $k_q$  виступає параметром лінійної залежності між відношенням інтенсивностей  $F_0/F$  та концентрацією гасника  $[Q]$  у вигляді:

$$(F_0/F) = 1 + k_q \tau_0 [Q] \quad (4.1)$$

де  $F_0$  і  $F$  – інтенсивності ФЛ флуорофора у відсутності та присутності гасника, відповідно,  $\tau_0$  – усереднений час життя флуорофора у відсутності гасника, яке дорівнює  $1 \times 10^{-8}$  с.

Добуток  $k_q \tau_0$  відповідає константі гасіння Штерна – Фольмера  $K_{SV}$  ( $K_{SV} = k_q \tau_0$ ) і наведене рівняння (4.1) запишеться:

$$(F_0/F) = 1 + K_{SV} [Q] \quad (4.2)$$

Величина  $k_q$  визначається в  $M^{-1}c^{-1}$ , а  $K_{SV}$  в  $M^{-1}$ . У випадку динамічних зіткнень флуорофора і гасника максимальне значення  $k_q$  досягає граничного значення  $k_q, \max = 2,0 \times 10^{10} M^{-1}c^{-1}$ . При перевищенні цього значення механізм гасіння ФЛ змінюється від динамічного до статичного гасіння, яке відбувається не шляхом безпосереднього контакту компонент розчину, а формування комплексів в межах їх перебування в деякій сфері обмежених розмірів, яка називається сферою статичного гасіння ФЛ.

На Рис. 4.6. представлено лінійні залежності Штерна – Фольмера, які добре узгоджуються з експериментальними результатами.

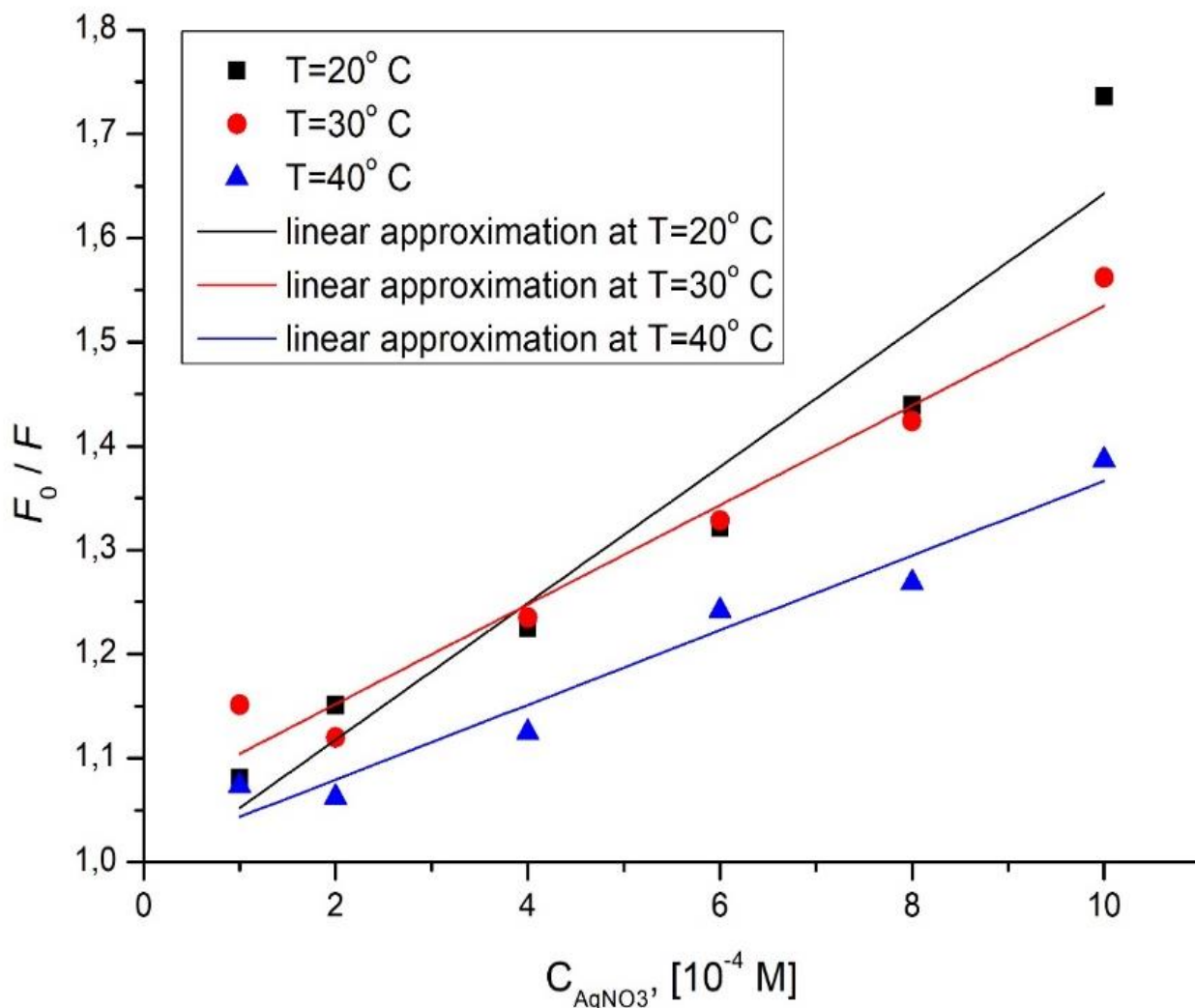


Рис. 4.6. Залежності Штерна – Фольмера для розчинів у воді АТФ -  $\text{AgNO}_3$  за температур  $20^\circ \text{C}$ ,  $30^\circ \text{C}$ ,  $40^\circ \text{C}$ . (Символи відповідають експериментальним даним, а лінії апроксимації Штерна – Фольмера).

Скориставшись підгонкою експериментальних результатів з допомогою лінійних залежностей Штерна – Фольмера, можна розрахувати константу гасіння  $K_{\text{SV}}$  та константу швидкості гасіння  $k$ , які наведені в Таблиці 4.1.

З отриманих значень видно, що  $k_d$  перевищує максимальне значення, що вказує на присутність статичного механізму гасіння.

Таблиця 4.1.

Константи гасіння Штерна – Фольмера  $K_{SV}$  та швидкості гасіння  $k_q$  для розчинів у воді АТФ -  $AgNO_3$  за різних температур.

Т(К)	Параметри гасіння	
	Константа швидкості гасіння $K_q(M^{-1}c^{-1})$	Константи Штерна - Фольмера $K_{SV}(M^{-1})$
293	$0.66 * 10^{11}$	$0.66 * 10^3$
303	$0.48 * 10^{11}$	$0.48 * 10^3$
313	$0.36 * 10^{11}$	$0.36 * 10^3$

Це також підтверджується тим, що  $K_{SV}$  найменше для найвищої температури, що також не відповідає динамічному механізму гасіння ФЛ. В теорії Хілла утворення гетероасоціатів, метал – ліганд, описується модифікованим рівнянням Штерна – Фольмера, в якому присутні два параметри зв'язування  $K_A$  і  $n$  у вигляді:

$$(F_0 - F) / F = K_A + [Q]^n \quad (4.3)$$

де  $K_A$  – константа зв'язування (спорідненості) між флуорофором і гасником,  $n$  – число місць зв'язування між іоном металу та лігандом. Рівняння (4.3) переважно використовують в логарифмічному вигляді, який відповідає залежності Хілла [61, 62]:

$$\log (F_0 - F) / F = \log K_A + n \log [Q] \quad (4.4)$$

На Рис. 4.7. представлено залежності Хілла для розчину у воді АТФ -  $AgNO_3$  при різних температурах.

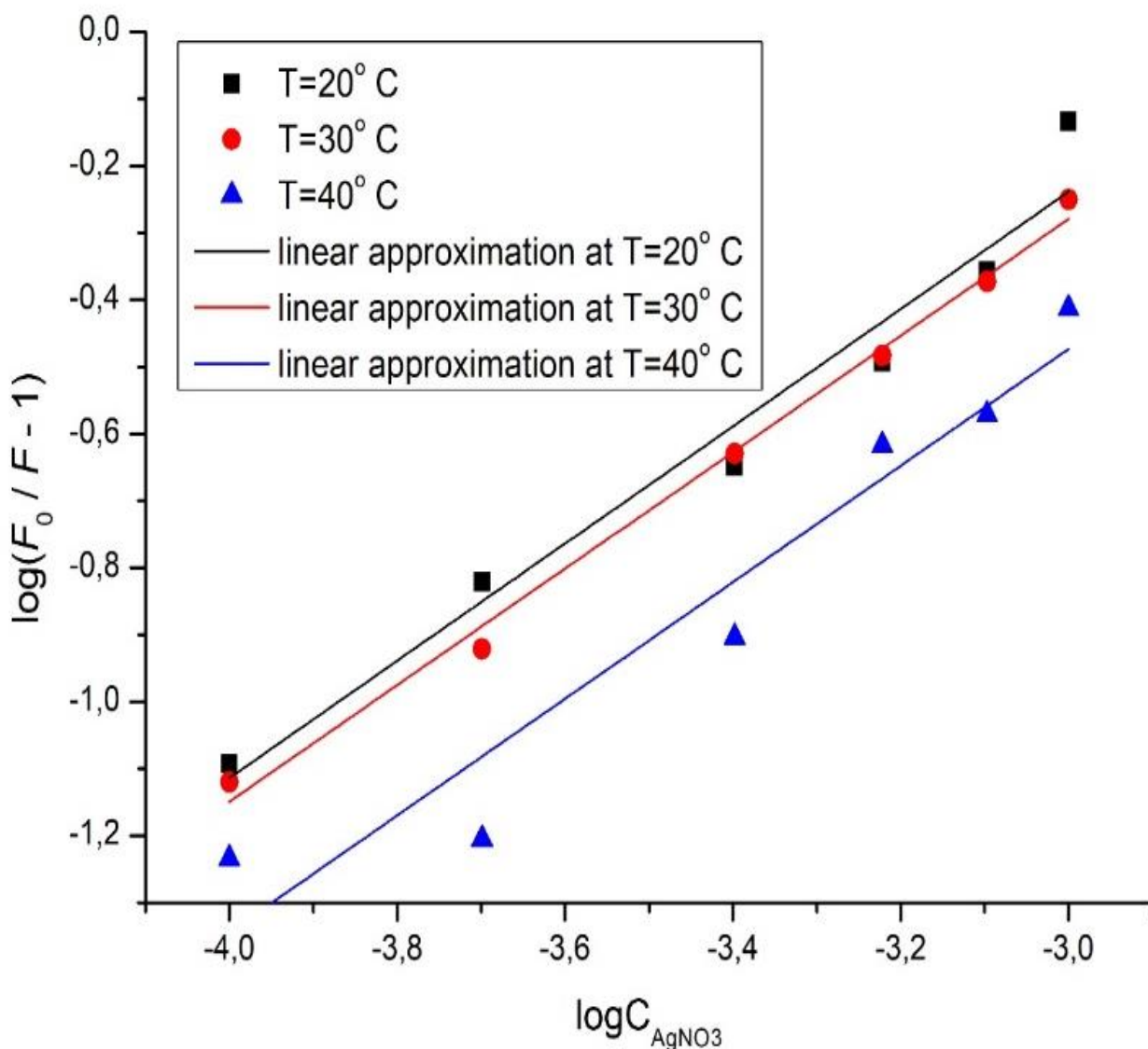


Рис. 4.7. Залежності Хілла для розчину у воді АТФ -  $\text{AgNO}_3$  за температур 20°C, 30 °C, 40°C. (Символи відповідають експериментальним даним, лінії представляють підгонку з використанням рівняння Хілла).

Значення параметрів зв'язування  $K_A$  і  $n$  наведено в Таблиці 4.2. Видно, що в гетероасоціатах  $n \approx 1$ , тобто співвідношення іонів і лігандів складає 1:1. Константа зв'язування є незначною і різко зменшується з підвищенням температури. Це свідчить про значно менше зв'язування в комплексах метал – ліганд в порівнянні з міжмолекулярною взаємодією між біоструктурами.

Таблиця 4.2.

Параметри зв'язування  $K_A$  і  $n$  для розчинів у воді АТФ -  $AgNO_3$  за різних температур.

Т(К)	Параметри зв'язування	
	$\lg K_A$	$n$
293	2.39	0.88
303	2.33	0.87
313	2.14	0.87

Оскільки з підвищенням концентрації  $AgNO_3$  гасіння ФЛ зростає, а швидкість гасіння змінюється з температурою, то очевидно припустити, що воно є наслідком перенесення енергії. Збудження від молекули АТФ до іона металу  $Ag^+$  у випадку утворення комплексу АТФ -  $Ag^+$ . У відповідності до теорії Фьорстера безвипромінювальне резонансне перенесення енергії залежить від відстані  $r$  між донором і акцептором та критичної відстані  $R_0$ , при якій ступінь перенесення енергії між флуорофором і гасником  $E$  складає 50%. У вказаній теорії зв'язок між ступенем перенесення енергії та параметрами  $r$  і  $R_0$  має вигляд [63, 64]:

$$E = 1 - F/F_0 = R_0^6 / (R_0^6 + r^6) \quad (4.5)$$

де,  $R_0^6 = 8.8 \times 10^{-25} k^2 I \Phi N^{-4}$ . В цьому виразі  $k^2$  – фактор просторової орієнтації компонент розчину, який при хаотичній орієнтації дорівнює  $2/3$ ,  $N$  – показник заломлення середовища, що для розчину у воді дорівнює  $1.336$ , квантовий вихід  $\Phi = 0.052$ . Значення  $I$  відповідає інтегралу перекривання спектрів флуоресценції  $F(\lambda)$  АТФ та коефіцієнта поглинання  $\varepsilon(\lambda)$  розчинів у воді, який визначається з рівняння:

$$I = \sum F(\lambda) \varepsilon(\lambda) \lambda^4 \Delta\lambda / \sum F(\lambda) \Delta\lambda \quad (4.5)$$

Вказаний інтеграл перекриття визначається з площі перекривання спектрів ФЛ АТФ і  $\varepsilon(\lambda)$   $\text{AgNO}_3$  в області смуги флуоресценції, Рис.4.8.

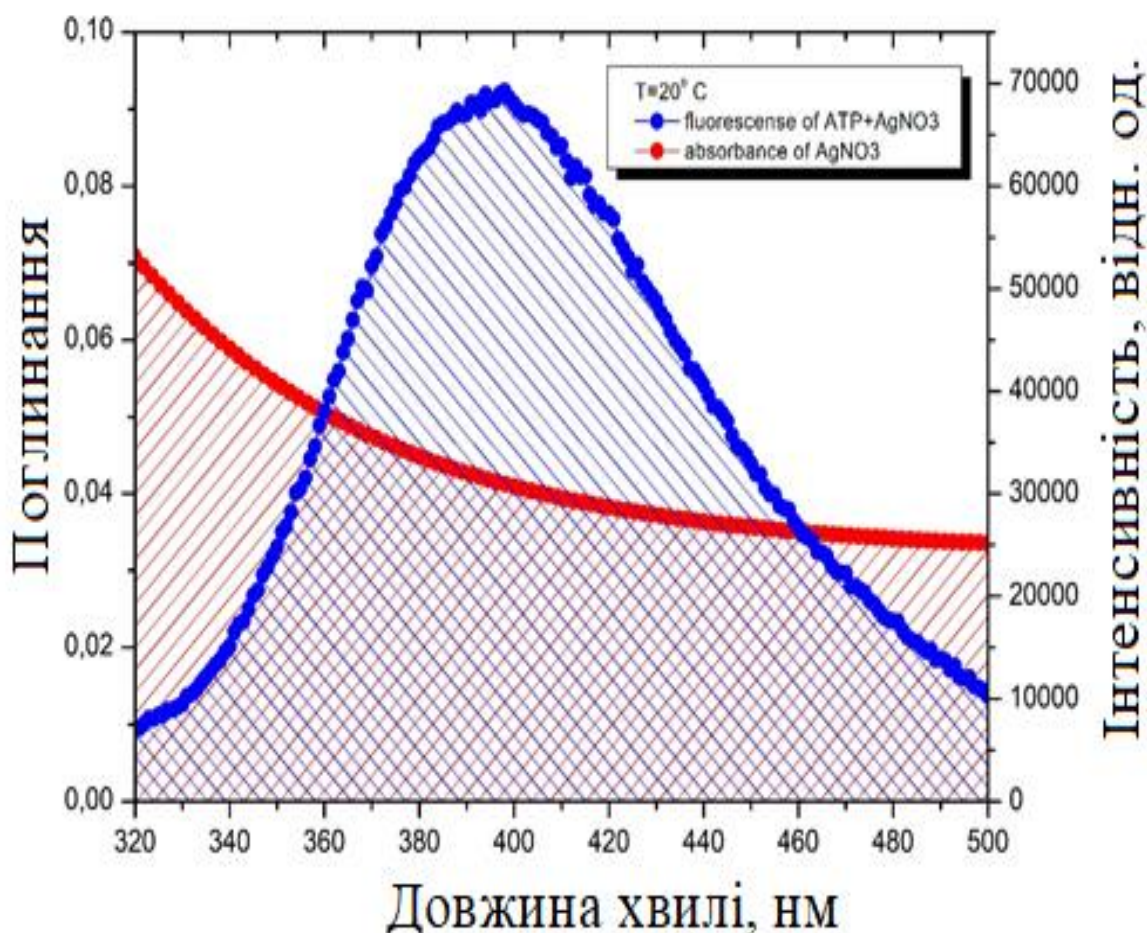


Рис. 4.8. Перекриття спектрів  $F(\lambda)$  і  $\varepsilon(\lambda)$  для розчинів у воді АТФ і  $\text{AgNO}_3$  ( $C_{\text{АТФ}} = C_{\text{AgNO}_3} = 1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ).

Отримане значення інтеграла перекриття відповідає  $I = 1.097 \cdot 10^9 \text{ nm}^4 / (\text{M} \cdot \text{cm})$ . Скориставшись наведеними значеннями, величина критичної відстані дорівнює  $R_0 = 0.95 \text{ nm}$ . При  $E = 0.075$  відстань між компонентами комплексу дорівнює  $r = 1.44 \text{ nm}$ . Умова перенесення енергії, яка впливає з теорії Фьорстера має вигляд:

$$0.5 R_0 < r < 1.5 R_0 \quad (4.6)$$

Отримане значення  $\tau$  відповідає наведеній умові, що дозволяє стверджувати про можливість гасіння ФЛ АТФ іонами металів при утворенні комплексу в розчинах у воді за механізмом Фьорстера (FRET). Ступінь перенесення енергії  $E$  визначився з величин  $F_0$  для розчину у воді чистого АТФ, при  $C_{\text{АТФ}} = 1 \times 10^{-4}$  М ( $T = 293\text{K}$ ) та  $F$  для аналогічного розчину АТФ в присутності  $\text{AgNO}_3$  з  $C_{\text{AgNO}_3} = 1 \times 10^{-4}$  М при  $T = 293\text{K}$ .

З утворенням комплексів відбувається зміна термодинамічних параметрів вільної енергії Гіббса  $\Delta G$ , ентальпії  $\Delta H$ , ентропії  $\Delta S$ . Вказані зміни у відповідності до теорії ван Гоффа зв'язані з константами зв'язування  $K_A$  за різних температур.

Для температури  $T$  зміна  $\Delta G$  дорівнює [65]:

$$\Delta G = -RT \ln K_A \quad (4.7)$$

де  $R = 8,314$  є газовою постійною.

Якщо температури відрізняються мало, то константа зв'язування може бути визначена через рівняння ван Гоффа:

$$\ln K_A = -\Delta H/RT + \Delta S/R \quad (4.8)$$

Скориставшись значеннями констант зв'язування  $K_A$  для різних температур  $K_A(T)$  з вказаного рівняння можна визначити  $\Delta H$  і  $\Delta S$ . Крім того, можна скористатися додатковим рівнянням:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (4.9)$$

Відомо, що знаки змін термодинамічних параметрів та їх величини вказують на природу сил специфічної взаємодії в комплексах.

Зміни параметрів  $\Delta G$ ,  $\Delta S$  та  $\Delta H$  наведено в Таблиці 4.3. Припускається, що  $\Delta H$  залишається незмінним для різних температур.

Таблиця 4.3.

*Зміни термодинамічних параметрів при утворенні комплексів в розчинах у воді АТФ -  $AgNO_3$  за різних температур.*

Т(К)	Термодинамічні параметри		
	$\Delta G$ (кДж/моль)	$\Delta S$ (Дж · моль <sup>-1</sup> · К <sup>-1</sup> )	$\Delta H$ (кДж/моль)
293	-13.41	-28.72	-21.83
303	-13.53	-27.41	-21.83
313	-12.83	-28.75	-21.83

Оскільки  $\Delta G < 0$  то процес утворення комплексів є спонтанним. Водночас,  $\Delta S < 0$  і  $\Delta H < 0$ , що свідчить про значну і електростатичну, і ван дер Вальсову взаємодію, при меншому внеску гідрофобних і водневих зв'язків [106].

## 4.2. Комплекс АТФ – Mg<sup>2+</sup>

Як зазначалося, іони магнію Mg<sup>2+</sup> відіграють важливу роль в живих організмах, особливо в балансі потоків через клапани мембран клітин. Водночас, ці іони мають сильну каталітичну активність, що зумовлена здатністю впливати на довжини ангідридних зв'язків P – O – P, отже на ступінь гідролізу АТФ [107]. Представляє інтерес для визначення координації іонів в комплексах іон – ліганд провести квантово – хімічне моделювання гетероасоціатів АТФ з іонами Mg<sup>2+</sup>[108,109-125].

### 4.2.1. Квантово-хімічні розрахунки комплексу АТФ з іоном Mg<sup>2+</sup>

Оптимізацію геометрії молекули АТФ та АТФ з іоном Mg<sup>2+</sup> наведено на Рис. 4.9. Видно, що іон Mg<sup>2+</sup> розташований у площині індолу АТФ, на відстані від атома Нітрогену, пронумерованому як 6-й відповідно до Рис. 4.10., що дорівнює 3 А.

Присутність іона Mg<sup>2+</sup> призводить до зміни напрямку та величини дипольного моменту. Напрямок дипольного моменту комплексу паралельний площині індолу, його величина зменшується від 9,9 D в чистій молекулі АТМ до 7,24 D в комплексі. Зміна дипольного моменту зумовлена перерозподілом заряду комплексу АТФ-Mg<sup>2+</sup> порівняно з незалежною молекулою АТФ, Рис. 4.10., в, г.

Усі атоми індольного циклу отримали більші заряди в присутності іона Mg<sup>2+</sup>. Атоми Нітрогену, пронумеровані як 2, 4, 6 і 10, збільшують заряд приблизно на 0,1 у.о. і незважаючи на те, що 6-й азот є найближчим до іона Mg<sup>2+</sup>, його зміни заряду не найбільші. Найбільша зміна заряду спостерігається для 8-го атома Нітрогену, який збільшує його значення з -1 у.о. до -0,7 у.о. Атом Карбону 5 є атомом, на який найбільше впливає іон Mg<sup>2+</sup>: його заряд змінюється від -0,6 у.о. до 0,2 у.о.

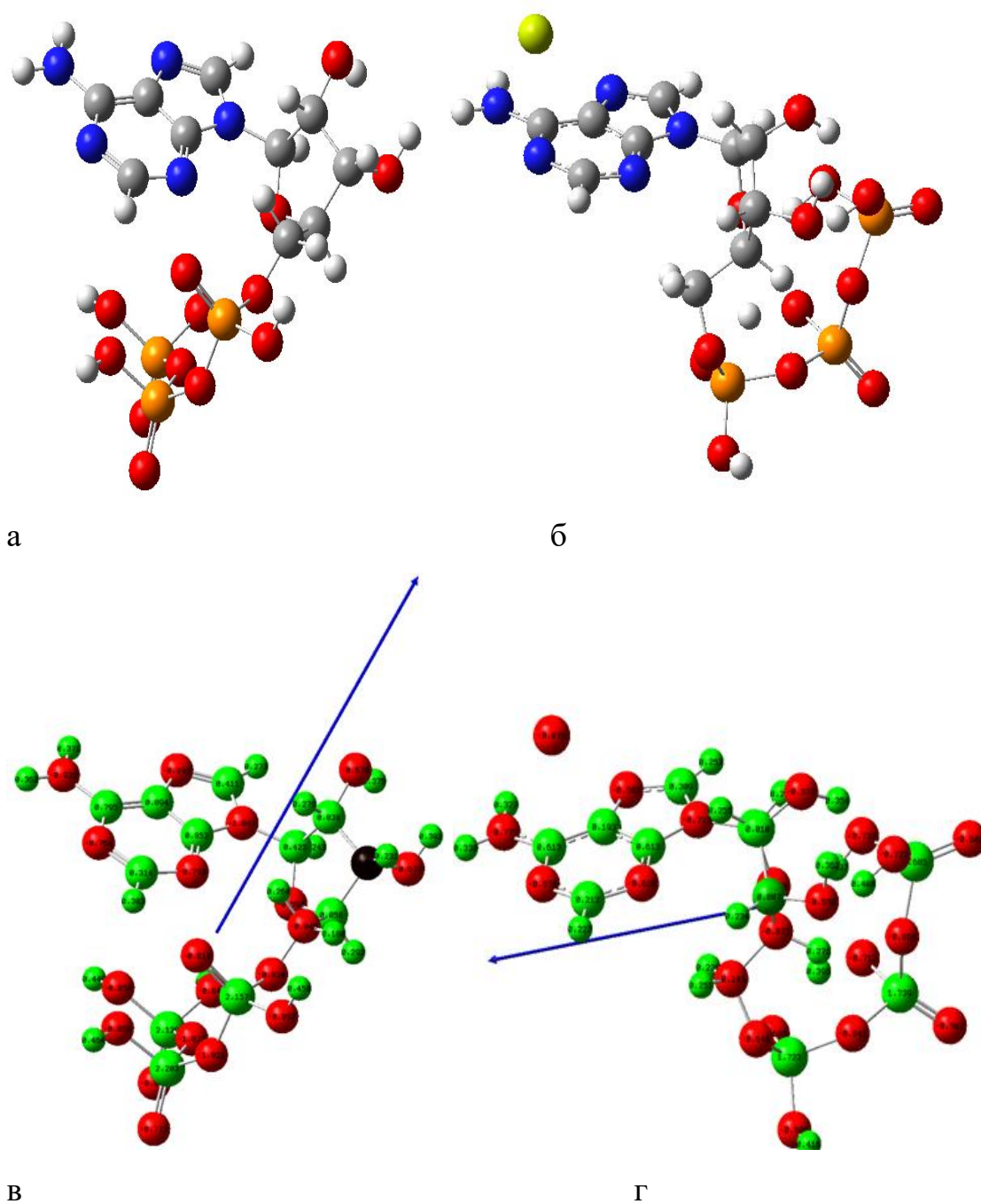


Рис. 4.9. Оптимізована геометрія молекули АТФ (а) та АТФ з іоном  $Mg^{2+}$  (б) та розподіл заряду на них (в), (г) відповідно. Стрілки показують напрямки дипольних моментів. Атоми червоного кольору позначають негативно заряджені, зелені – позитивно заряджені атоми.

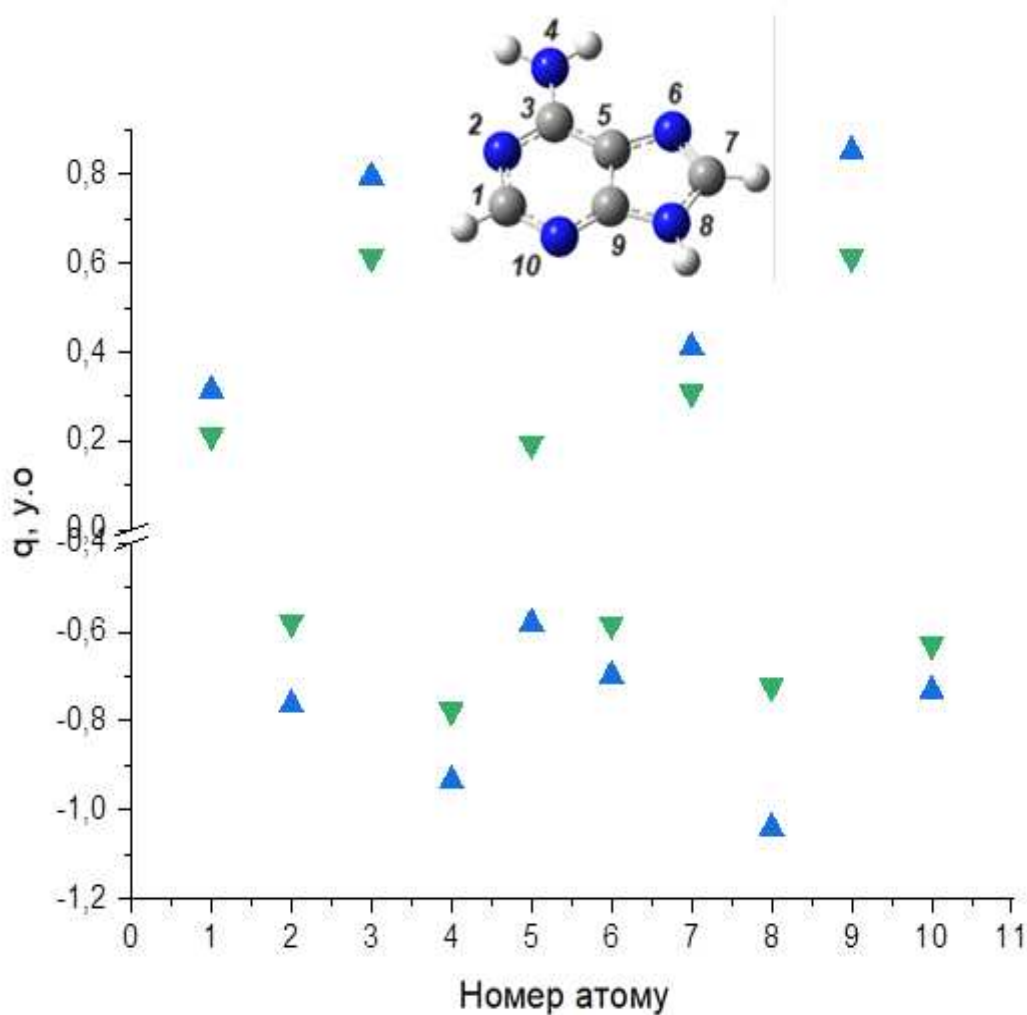


Рис. 4.10. Розподіл зарядів на атомах аденозину молекули АТФ: сині трикутники відповідають атомам АТФ, зелені трикутники – комплексу АТФ з іоном  $Mg^{2+}$ .

Згідно з розрахунками, іон  $Mg^{+}$  впливає на рівні НОМО та LUMO АТФ: від -8,4 еВ для НОМО АТФ до -4,9 еВ для АТФ з іоном  $Mg^{+}$ , Рис.4.11.

Рівень LUMO знижується з 3,4 еВ до -2,33 еВ, відповідно, що призводить до скорочення енергетичної щілини на 7 еВ. Значна зміна електронної щілини викликана перериванням металевих орбіталей у молекулярну структуру молекули АТФ. Це видно з молекулярних орбіталей комплексу, Рис. 4.11.,а, його орбіталь ВЗМО розташована на d-орбіталі іона  $Mg^{2+}$ .

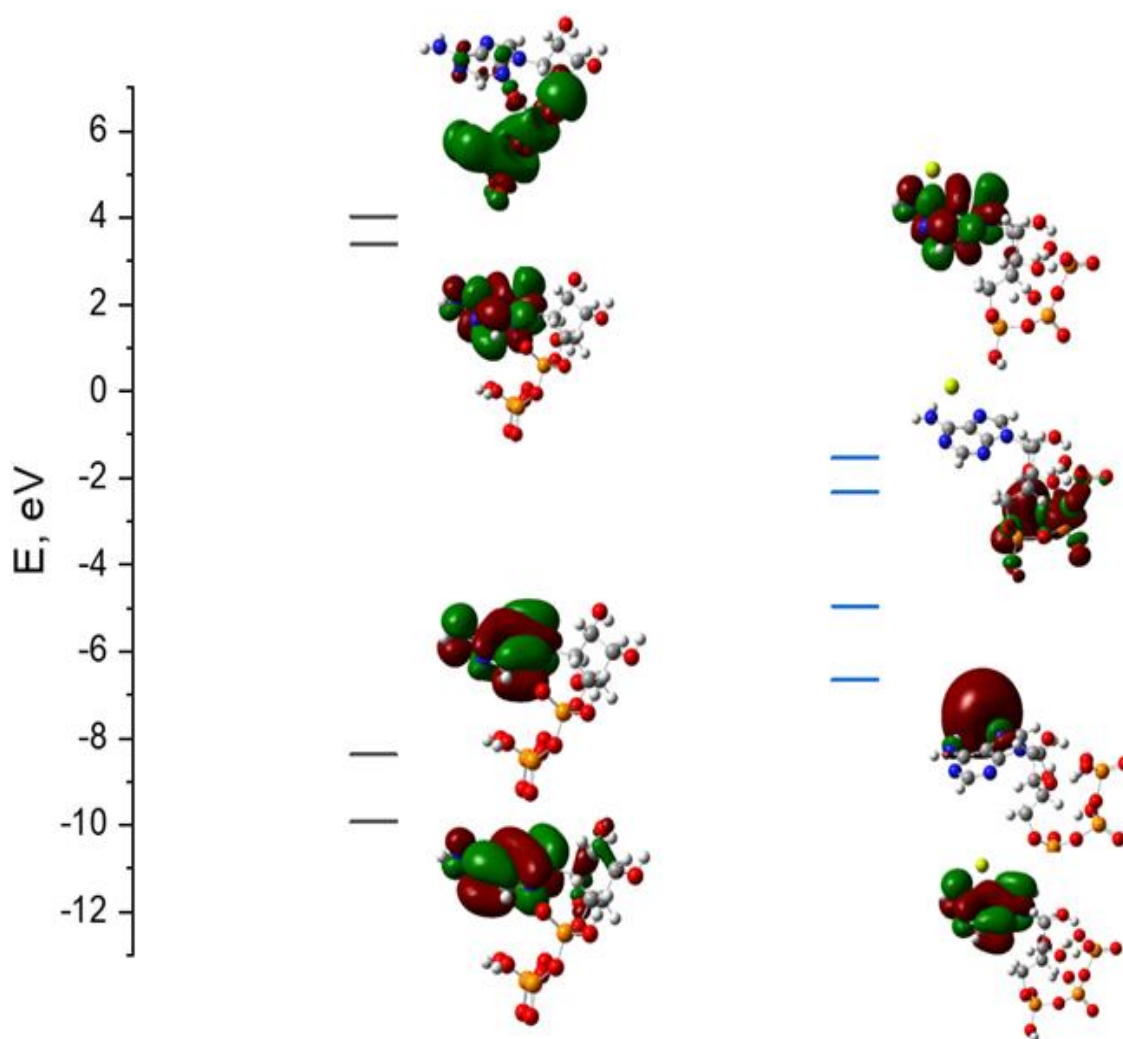


Рис.4.11. Електронна будова та форми молекулярних орбіталей молекули АТФ (лівий стовпець) і комплексу АТФ з іоном  $Mg^{2+}$  (правий стовпець) (а).

НОМО АТФ стає НОМО-1 у комплексі та різко змінює свою енергію від -8,4 до -5,1 еВ, тоді як LUMO стає LUMO+1 у комплексі зі зміною енергії від 3,4 до -2 ,3 еВ [126].

#### 4.2.2. Параметри зв'язування в гетеросоціатах АТФ – $Mg^{2+}$

З додаванням до розчину АТФ солей  $MgCl_2$  та  $CaCl_2$  в інтервалі концентрації від  $1 \times 10^{-4}$  М до  $1 \times 10^{-3}$  М величина оптичної густини зазнає незначних змін для обох смуг. Водночас, смуга збудження ФЛ істотно зміщена в червону область до  $\lambda = 280$  нм, яка використовувалася для

отримання смуги емісії ФЛ АТФ, максимум якої знаходиться біля  $\lambda_{em} = 395$  нм.

На Рис. 4.12. представлено падіння інтенсивності емісії та збудження ФЛ розчинів у воді АТФ та АТФ -  $MgCl_2$  за різних температур.

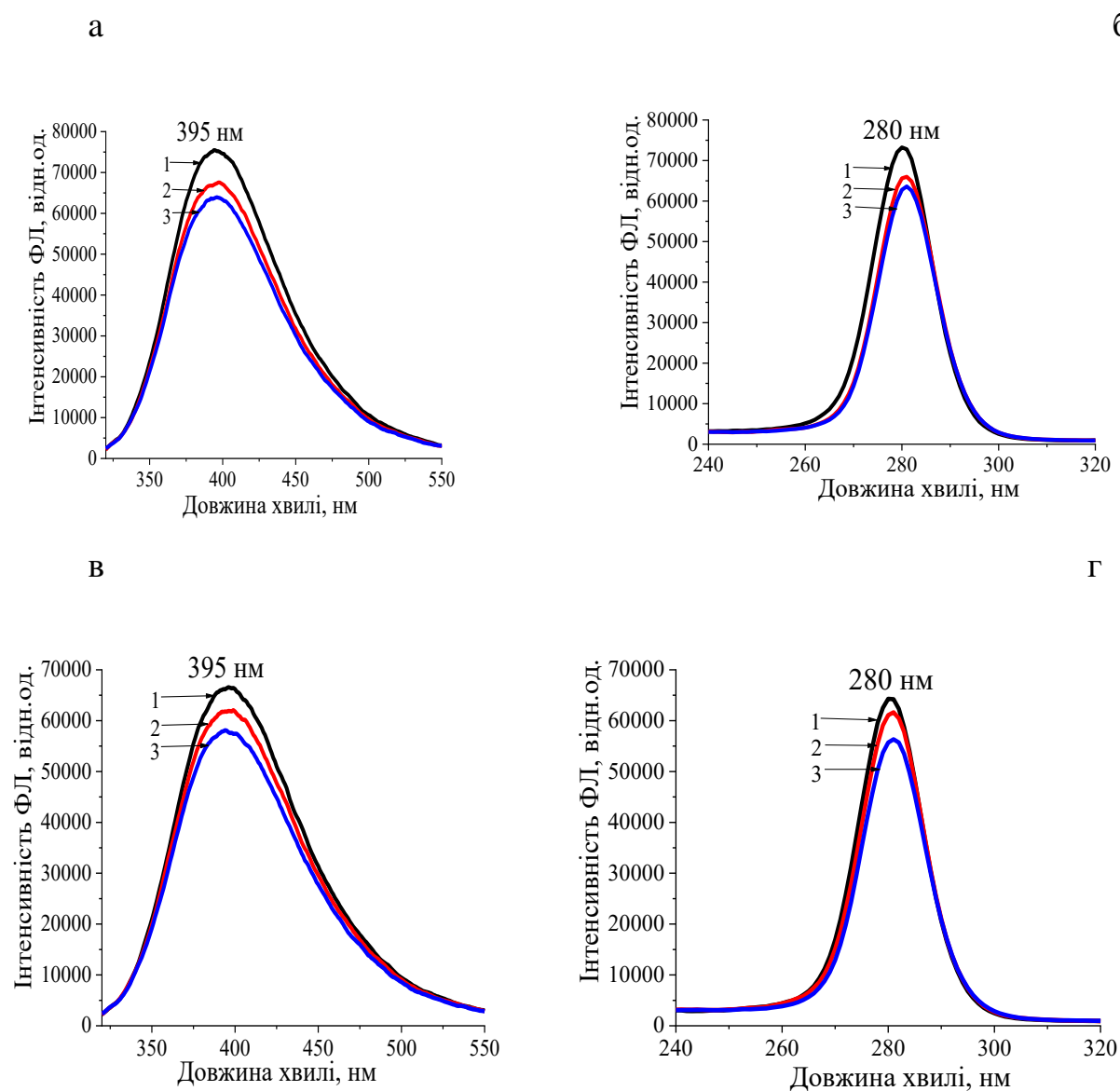
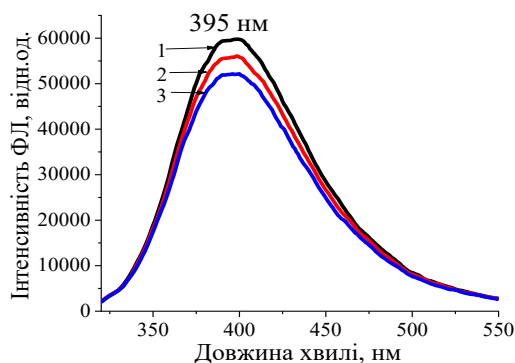


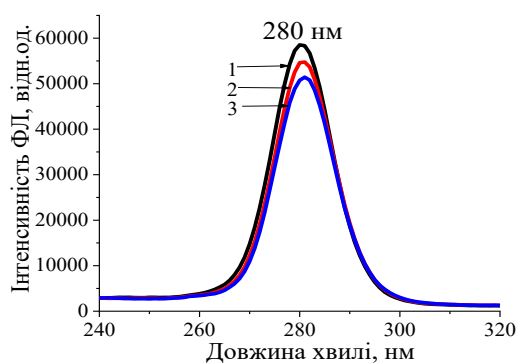
Рис.4.12. Спектри емісії (а, в) та збудження (б, г) ФЛ розчинів у воді з АТФ з постійною концентрацією  $C_{ATF} = 1 \times 10^{-4}$  М та АТФ -  $MgCl_2$  з концентраціями солі  $MgCl_2$ ,  $C_{MgCl_2}$  0 (а, б),  $1,0$  (в, г)  $\times 10^{-4}$  М за температур 293К (1), 303К (2), 313К (3) ( $\lambda_{zb} = 280$  нм,  $\lambda_{em} = 395$  нм, рН=5,8).

Рис. 4.12. (продовження).

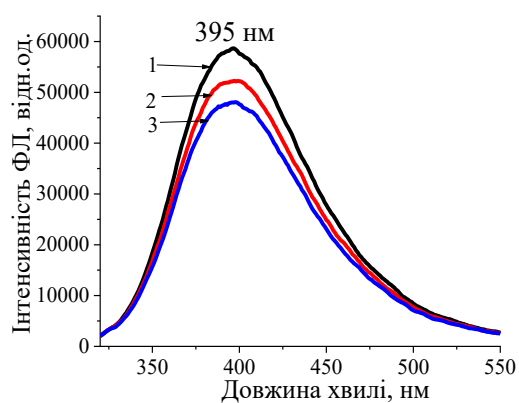
Д



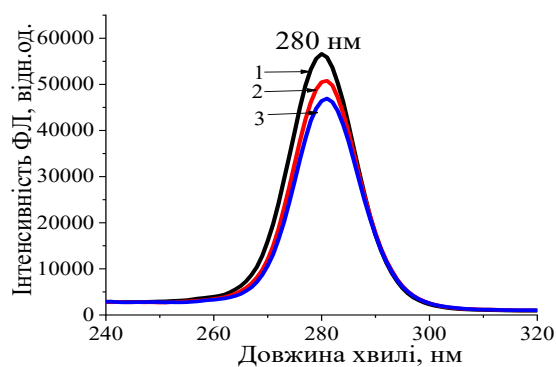
е



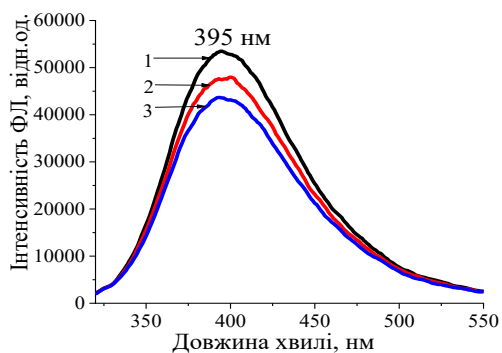
є



ж



з



и

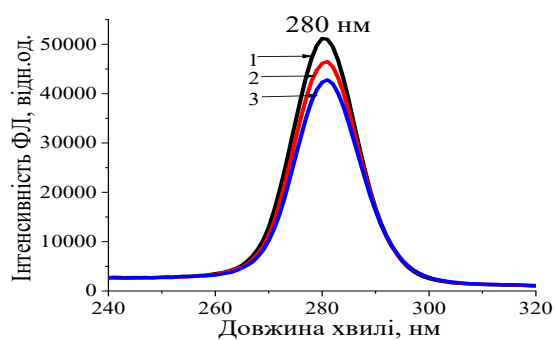
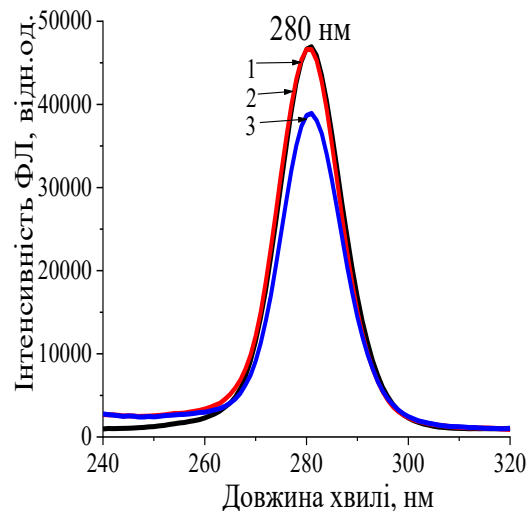
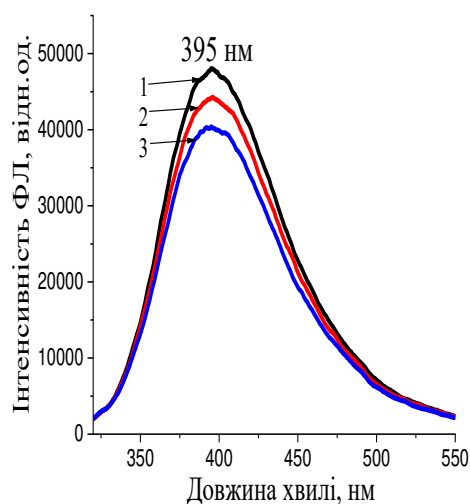


Рис.4.12.(продовження). Спектри емісії (д, є, з) та збудження (е, ж, и) ФЛ розчинів у воді з АТФ з постійною концентрацією  $C_{\text{АТФ}} = 1 \times 10^{-4}$  М та АТФ -  $\text{MgCl}_2$  з концентраціями солі  $\text{MgCl}_2$ ,  $C_{\text{MgCl}_2}$  2,0 (д, є), 4,0 (є, ж), 6,0 (з, и)  $\times 10^{-4}$  М за температур 293К (1), 303К (2), 313К (3) ( $\lambda_{\text{зб}} = 280$  нм,  $\lambda_{\text{ем}} = 395$  нм, рН= 5.8).

Рис. 4.12. (продовження).

і

ї



й

к

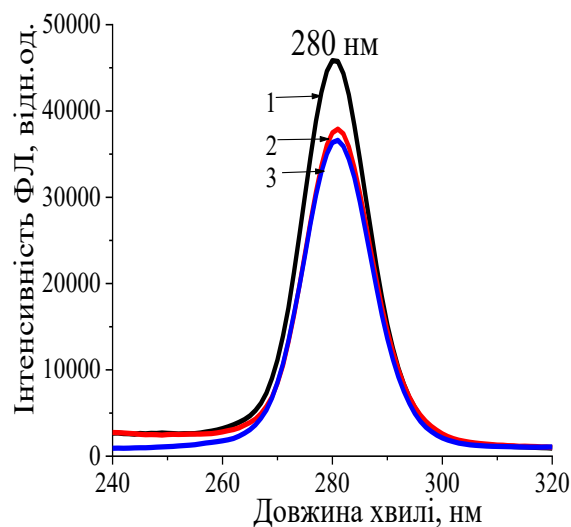
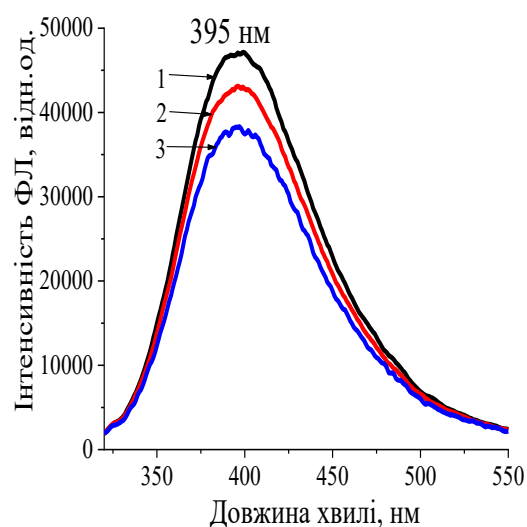


Рис. 4.12. (продовження). Спектри емісії (і, й) та збудження (і, к) ФЛ розчинів у воді з АТФ з постійною концентрацією  $C_{\text{АТФ}} = 1 \times 10^{-4}$  М та АТФ -  $\text{MgCl}_2$  з  $8,0 \times 10^{-4}$  М (і, ї),  $1,0 \times 10^{-3}$  (й, к) при температурах 293К (1), 303К (2), 313К (3) ( $\lambda_{\text{зб}} = 280$  нм,  $\lambda_{\text{ем}} = 395$  нм, рН=5,8).

Видно, що з підвищенням вмісту  $\text{MgCl}_2$  інтенсивність емісії та збудження ФЛ спадає. Водночас, за різних концентрацій  $\text{MgCl}_2$  вказана

інтенсивність залишається найбільшою при 293К, а при підвищенні температури спадає. Характер такого падіння змінюється із зростанням концентрації  $\text{MgCl}_2$ . Вказані зміни в поведінці ФЛ очевидно пов'язані з утворенням гетероасоціатів  $\text{Ag} - \text{Mg}^{2+}$ . Формування комплексів може відбуватися за різних механізмів координації, в тому числі за аналогією під'єднання іонів  $\text{Ag}^{2+}$  до атома нітрогену N7. Крім того, з підвищенням температури можна очікувати зменшення константи зв'язування  $K_A$ .

Спектри емісії та збудження ФЛ розчинів у воді АТФ при постійній концентрації з  $\text{MgCl}_2$  різного вмісту за різних температур наведено на Рис.4.13.

Наведені спектри падіння інтенсивності емісії та збудження ФЛ характеризуються смугами випромінювання та збудження, положення яких залишається незмінним при збільшенні вмісту солі  $\text{MgCl}_2$  ( $\lambda_{\text{зб}} = 280$  нм,  $\lambda_{\text{ем}} = 395$  нм). Зменшення інтенсивності відрізняється за різних температур. Аналіз гасіння ФЛ можна провести, використовуючи залежності Штерна – Фольмера із зміни експериментальних значень відношення інтенсивностей  $F_0/F$  від концентрації солі  $\text{MgCl}_2$ .

На Рис. 4.14. представлена вказана залежність для експериментальних результатів та в результаті підгонки при застосуванні рівняння Штерна – Фольмера (4.1)-(4.2).

Відповідно, в рівняннях  $F_0$  – інтенсивність емісії ФЛ біля 395 нм у відсутності в розчині солі  $\text{MgCl}_2$ , а  $F$  – аналогічна інтенсивність для кожного з розчинів в присутності солі  $\text{MgCl}_2$  з різною концентрацією для заданої температури. Величини  $K_{SV}$  і  $k_q$  – константи гасіння Штерна – Фольмера і швидкості гасіння, відповідно,  $[Q]$  – концентрація солі  $\text{MgCl}_2$ .

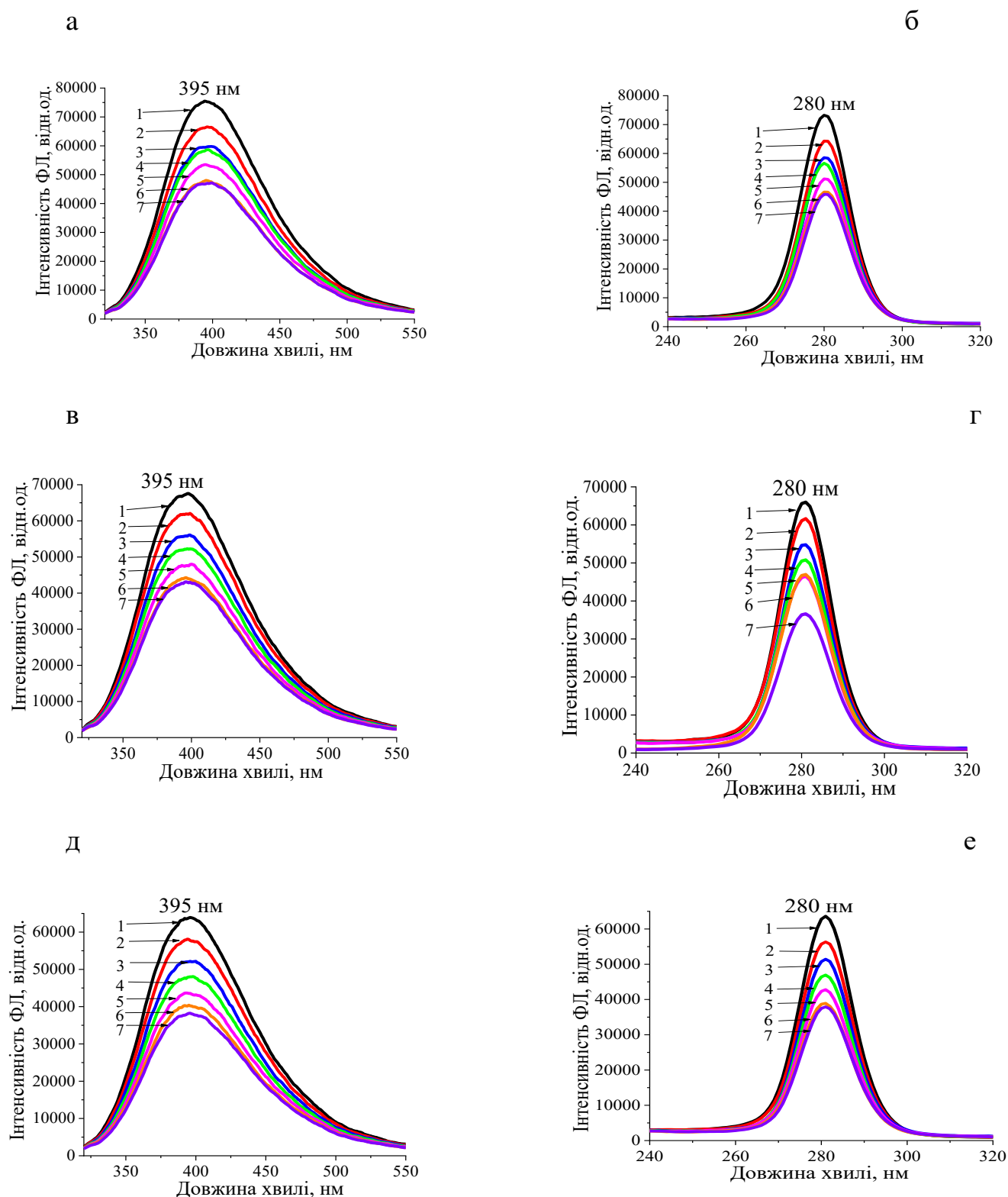


Рис.4.13. Спектри емісії (а, в, д) та збудження (б, г, е) ФЛ розчинів у воді з АТФ з постійною концентрацією  $C_{АТФ} = 1 \times 10^{-4}$  М та АТФ -  $MgCl_2$  з концентраціями солі  $MgCl_2$ ,  $CMgCl_2$  0 (1), 1,0 (2), 2,0 (3), 4,0 (4), 6,0 (5),  $8,0 \times 10^{-4}$  М (6),  $1,0 \times 10^{-3}$  (7) за температур 293К (а, б), 303К (в, г), 313К (д, е) ( $\lambda_{36} = 280$  нм,  $\lambda_{em} = 395$  нм, рН =5,8).

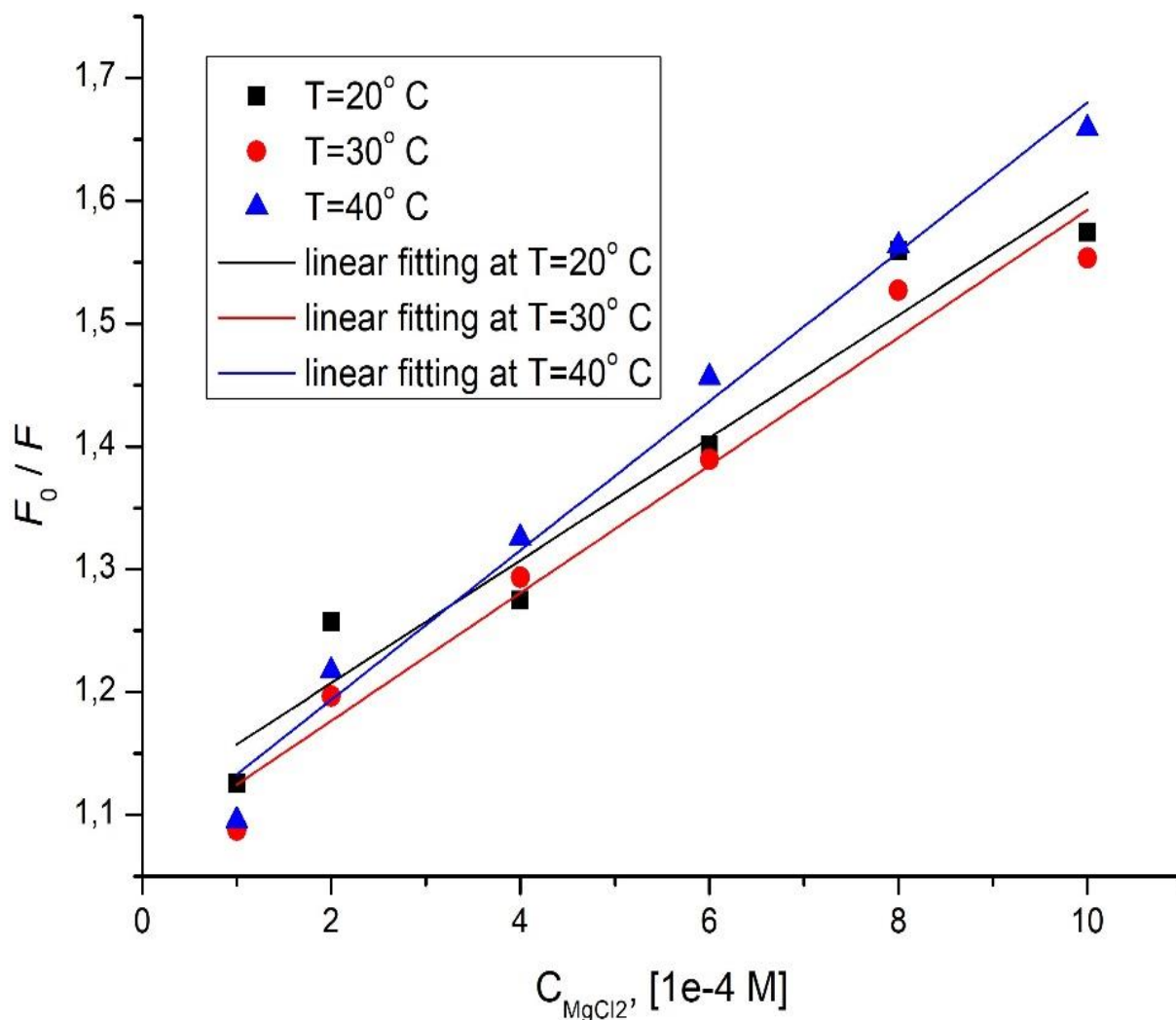


Рис. 4.14. Залежності Штерна – Фольмера для розчинів у воді АТФ -  $MgCl_2$  за температур 293К (1), 303К (2), 313К (3). (Символи відповідають експериментальним даним, суцільні лінії є результатом підгонки отриманих результатів з допомогою лінійного рівняння Штерна – Фольмера).

З отриманих залежностей Штерна – Фольмера видно, що найменший нахил прямих відповідає найвищій температурі (313К), що зумовлено найменшим значенням константи  $K_{SV}$ . Величини  $K_{SV}$  і  $k_q$  представлені в Таблиці 4.4.

Видно, що  $k_q$  перевищує значення  $k_{q, \max} = 2 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , що разом із залежністю  $K_{SV}$  від температури свідчить про статичний механізм гасіння ФЛ.

Таблиця 4.4.

Константи гасіння  $K_{SV}$  та швидкості гасіння  $kq$  для розчинів у воді АТФ -  $MgCl_2$  за різних температур.

T(K)	Параметри гасіння	
	Константа швидкості гасіння $K_q (M^{-1}c^{-1})$	Константи Штерна - Фольмера $K_{SV} (M^{-1})$
293	$0.5 * 10^{11}$	$0.5 * 10^3$
303	$0.52 * 10^{11}$	$0.52 * 10^3$
313	$0.61 * 10^{11}$	$0.61 * 10^3$

Константи зв'язування  $K_A$  і число сайтів зв'язування  $n$  визначається з рівняння Хілла (4.4), Рис. 4.15.

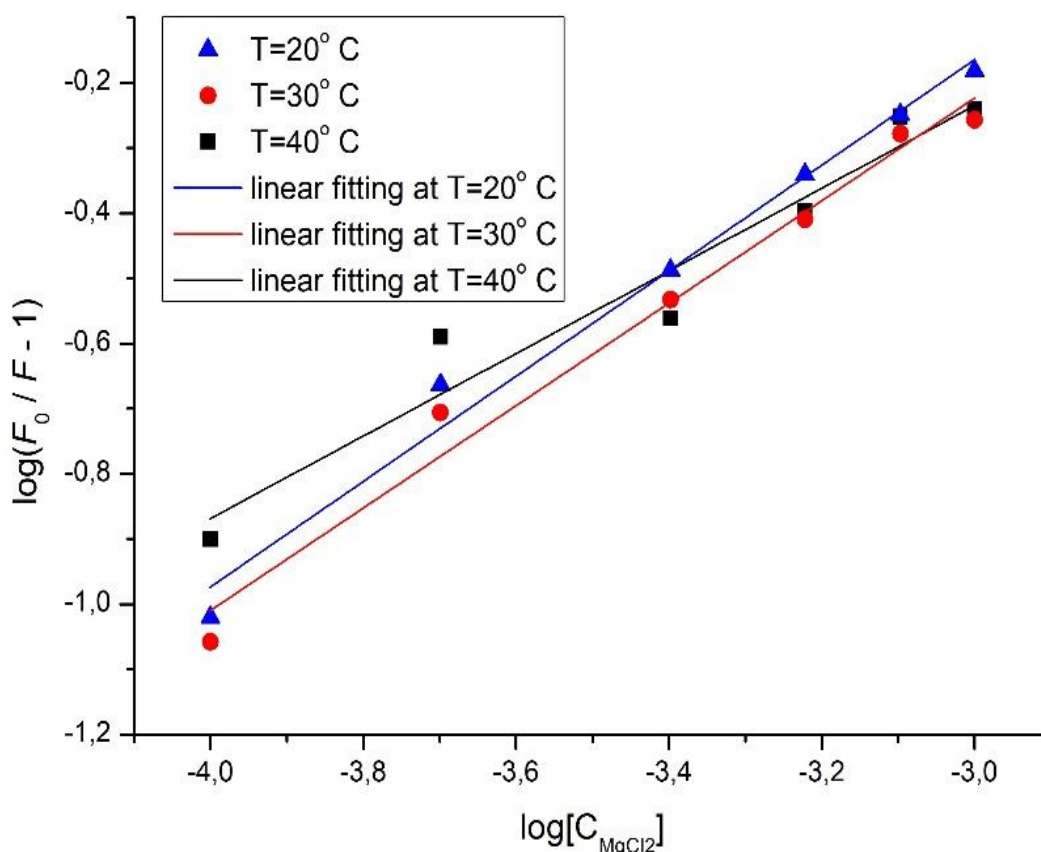


Рис. 4.15. Залежності Хілла для розчинів у воді АТФ -  $MgCl_2$  за температур 293 К (1), 303 К (2) і 313 К (3) (символи відповідають експериментальним

значенням, суцільні лінії є результатом підгонки експериментальних величин із використанням рівняння Хілла).

В Таблиці 4.5. наведено константи зв'язування  $K_A$  і число сайтів  $n$  для розчинів у воді АТФ -  $MgCl_2$ .

Таблиця 4.5.

*Величини  $K_A$  і  $n$ , для різних температур в розчинах у воді АТФ -  $MgCl_2$  за різних температур.*

T(K)	Параметри зв'язування	
	$\log K_A$	$n$
293	2.62	0.81
303	2.53	0.79
313	2.51	0.72

Видно, що  $n$  близьке до 1, що вказує на стехіометричне відношення компонент в комплексі АТФ –  $Mg^{2+}$  1:1. З температурою значення обох вказаних параметрів спадає.

Вказані величини  $K_A$  для кожної з температур використовувались для визначення змін термодинамічних параметрів  $\Delta G$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta S$  з рівнянь (4.7)-(4.9). Величини  $\Delta G$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta S$  для різних температур в розчинах у воді АТФ -  $MgCl_2$  наведено в Таблиці 4.6.

Таблиця 4.6.

*Зміни термодинамічних параметрів для різних температур розчинів у воді АТФ -  $MgCl_2$  за різних температур.*

T(K)	Термодинамічні параметри		
	$\Delta G$ (кДж/моль)	$\Delta S$ (Дж · моль <sup>-1</sup> · К <sup>-1</sup> )	$\Delta H$ (кДж/моль)
293	-14.71	16.99	-9.73
303	-14.69	16.37	-9.73
313	-15.05	17.01	-9.73

Величини та знаки змін термодинамічних параметрів вказують, що процес падіння ФЛ є спонтанним ( $\Delta G < 0$ ), а величини  $\Delta H < 0$ ,  $\Delta S > 0$  свідчать про наявність між АТФ і  $Mg^{2+}$  електростатичної взаємодії [126, 127].

### 4.3. Комплекс АТФ – $Ca^{2+}$

Додавання до розчинів у воді АТФ аналогічних розчинів солі  $CaCl_2$  у випадку зростання її концентрації, і іонів  $Ag^+$ ,  $Mg^{2+}$ , супроводжується за різних температур падіння інтенсивності смуг емісії і збудження АТФ [128-150].

#### 4.3.1. Параметри зв'язування в гетеросоціатах АТФ – $Ca^{2+}$

Спектри емісії та збудження ФЛ гетеросоціатів АТФ –  $Ca^{2+}$  показано на Рис. 4.16.

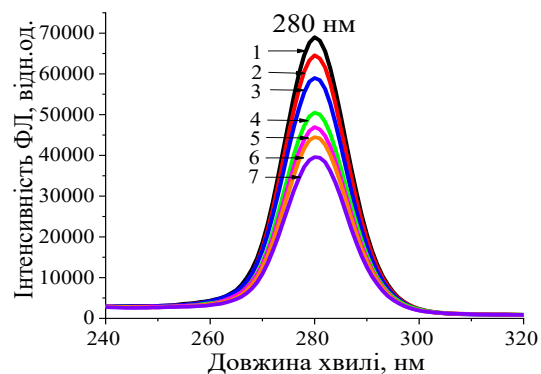
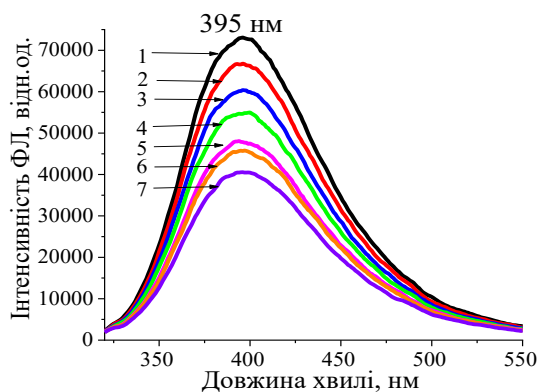
Видно, що характер падіння інтенсивності емісії і ФЛ розчину у воді АТФ при збільшенні концентрації солі  $CaCl_2$  змінюється з температурою при збереженні положення максимуму ФЛ (395 нм). Аналогічно спостерігається падіння інтенсивності смуги збудження ФЛ при постійному розміщенні її максимуму (280 нм).

На Рис. 4.17. наведено залежності Штерна – Фольмера і Хілла для розчинів  $CaCl_2$ .

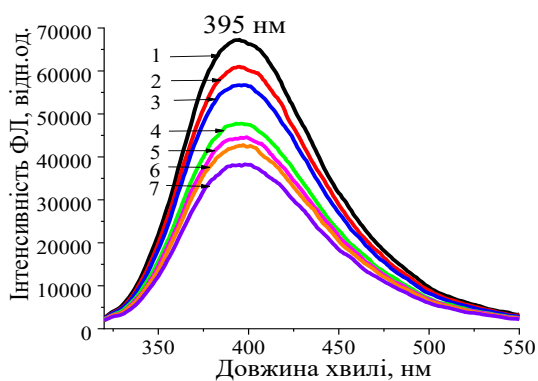
Одержані величини  $K_{SV}$  і  $k_q$  та  $K_A$  і  $n$  представлено в Таблицях 4.7. і 4.8., відповідно.

Як і для розчинів у воді АТФ –  $MgCl_2$ ,  $n = 1$ , а  $K_A$  зменшується з ростом температури. Водночас, отримані величини  $K_{SV}$  і  $K_A$  для комплексів АТФ –  $Mg^{2+}$  і АТФ –  $Cl^{2+}$  дещо відрізняються. Так, константа зв'язування для комплексів АТФ –  $Mg^{2+}$  є дещо вищою і як наслідок значення енергії зв'язування  $\Delta G$  є нижчим (див. Таблицю 4.9.), що свідчить про сильнішу афінність іонів  $Mg^{2+}$  до молекули АТФ у порівнянні з іонами  $Ca^{2+}$ .

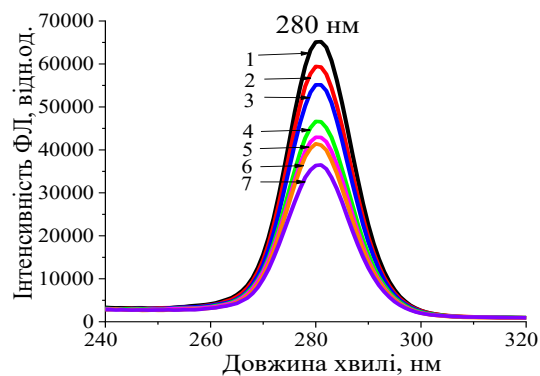
б



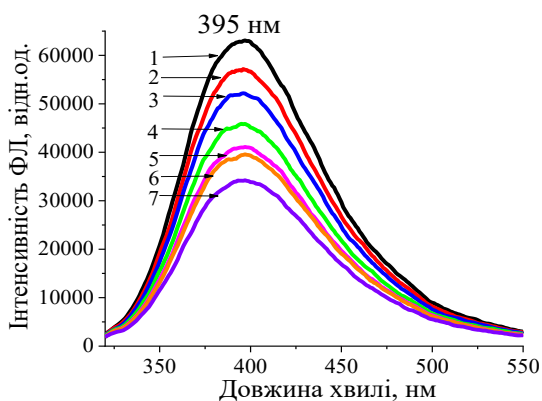
в



г



д



е

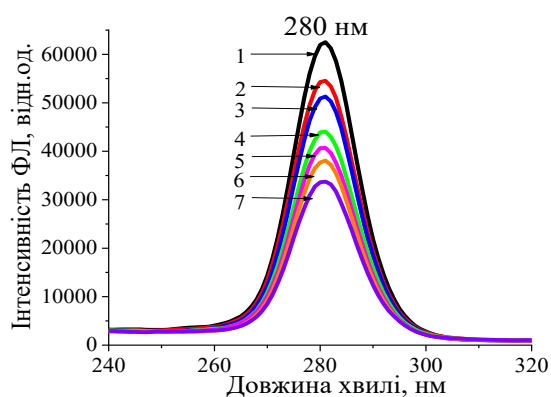
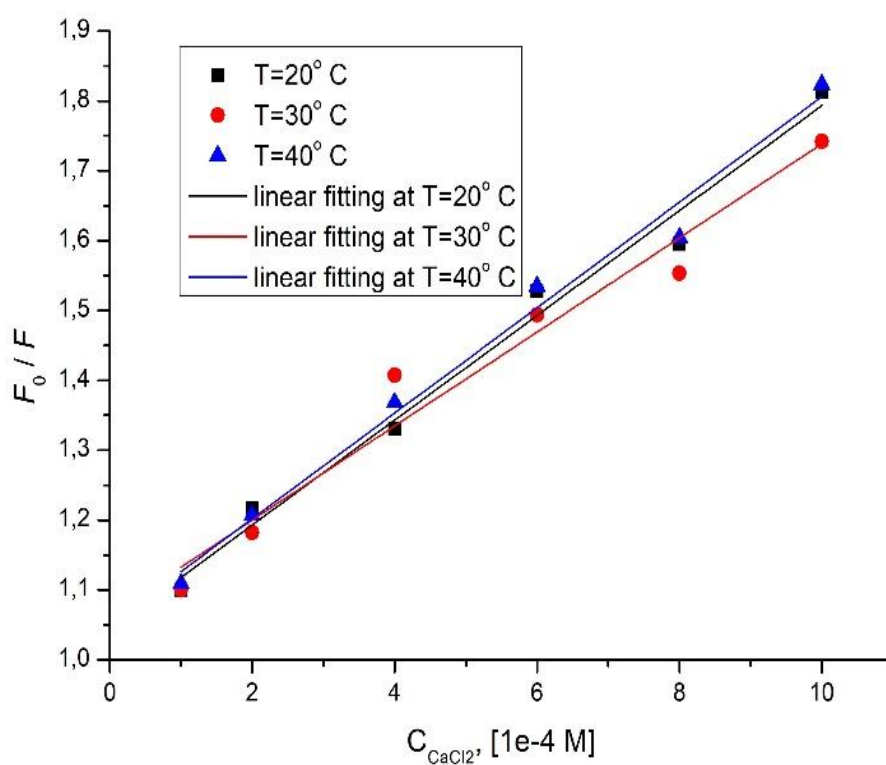


Рис. 4.16. Спектри емісії (а, в, д) і збудження (б, г, у) ФЛ розчинів у воді АТФ з постійною концентрацією  $C_{\text{АТФ}} = 1 \times 10^{-4} \text{ М}$  та АТФ -  $\text{CaCl}_2$  з концентраціями солі 0 (1), 1,0 (2), 2,0 (3), 4,0 (4), 6,0 (5),  $8,0 \times 10^{-4} \text{ М}$  (6),  $1,0 \times 10^{-3}$  (7) за температур 293К (а, б), 303К (в, г), 313К (д, е) ( $\lambda_{\text{зб}} = 280 \text{ нм}$ ,  $\lambda_{\text{ем}} = 395 \text{ нм}$ , рН= 5,8).

а



б

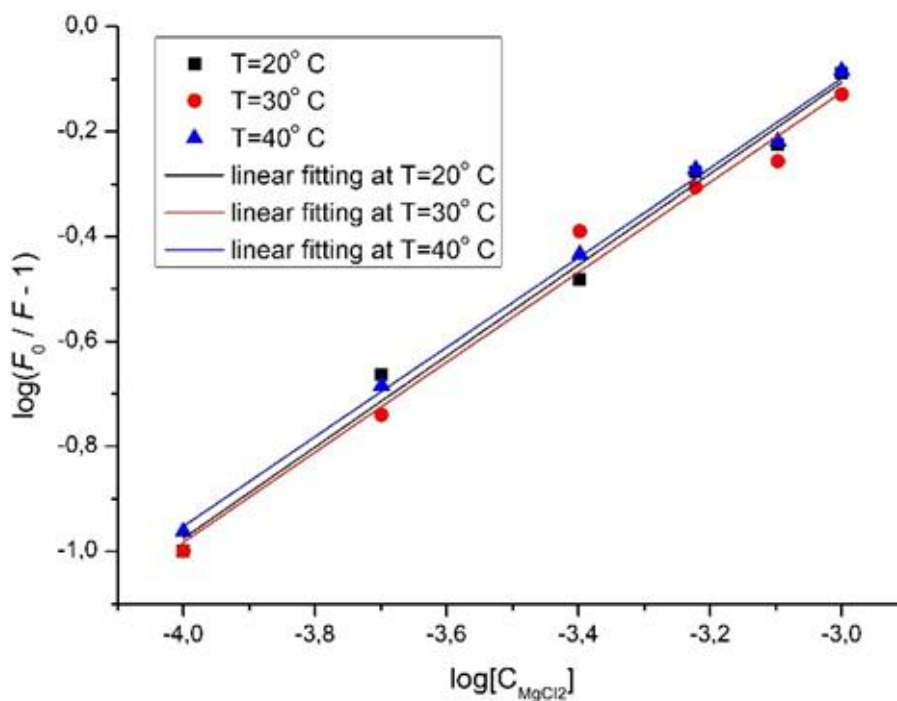


Рис. 4.17. Залежності Штерна – Фольмера (а) та Хілла (в) для розчинів у воді АТФ -  $CaCl_2$  за температур 293К (1), 303К (2), 313К (3).

Таблиця 4.7.

Константи гасіння  $K_{SV}$  та швидкості гасіння  $k_q$  для розчинів у воді АТФ -  $CaCl_2$  за різних температур.

T(K)	Параметри гасіння	
	Константа швидкості гасіння $K_q (M^{-1}c^{-1})$	Константи Штерна - Фольмера $K_{SV} (M^{-1})$
293	$0,75 * 10^{11}$	$0,75 * 10^3$
303	$0,67 * 10^{11}$	$0,67 * 10^3$
313	$0,76 * 10^{11}$	$0,76 * 10^3$

Таблиця 4.8.

Величини константи зв'язування  $K_A$  та числа сайтів зв'язування  $n$  для розчинів у воді АТФ -  $CaCl_2$  за різних температур.

T(K)	Параметри зв'язування	
	$\log K_A$	$n$
293	2,5	0,87
303	2,46	0,86
313	2,45	0,85

Останнє може пояснюватись більшим розміром іонів та іншими координаційними перевагами  $Ca^{2+}$ .

В Таблиці 4.9. представлено зміни термодинамічних параметрів  $\Delta G$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta S$  для розчинів у воді АТФ -  $CaCl_2$ .

Видно, що знаки змін термодинамічних параметрів аналогічні комплексам АТФ -  $MgCl_2$  та відповідають переважаючій електростатичній взаємодії. Крім того, спостерігаються також відмінності між наведеними комплексами та гетероасоціатом АТФ –  $Ag^+$ .

Таблиця 4.9.

Величини змін термодинамічних параметрів  $\Delta G$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta S$  для розчинів у воді АТФ- $\text{CaCl}_2$  за різних температур.

T(K)	Термодинамічні параметри		
	$\Delta G$ (кДж/моль)	$\Delta S$ (Дж · моль <sup>-1</sup> · К <sup>-1</sup> )	$\Delta H$ (кДж/моль)
293	-14.03	32.81	-4.42
303	-14.28	32.54	-4.42
313	-14.69	32.82	-4.42

Якщо для комплексу АТФ –  $\text{Ag}^+$  характер взаємодії є комплексним, що пов'язано з відновленням при взаємодії з АТФ, то для АТФ –  $\text{Ca}^{2+}$  та АТФ –  $\text{Mg}^{2+}$  комплексоформуючою є електростатична взаємодія [126, 127].

*Висновки до розділу 4*

- В розчинах у воді АТФ з  $\text{AgNO}_3$  формуються комплекси метал – ліганд, які приводять до гасіння ФЛ. Таке гасіння складним чином залежить від збільшення вмісту іонів  $\text{Ag}^+$  та температури при збереженні положення максимуму смуги флуорофора АТФ та смуги поглинання, отриманої з спектра збудження ФЛ.
- Концентраційна поведінка гасіння емісії ФЛ АТФ при збільшенні вмісту  $\text{AgNO}_3$  добре описується лінійною залежністю Штерна – Фольмера в області концентрацій  $\text{Ag}^+$  від  $1,0 \times 10^{-4}$  до  $1,0 \times 10^{-3}$  М. Водночас, величини констант гасіння  $K_{SV}$  і швидкості гасіння  $k_q$  та їх залежності від температури свідчать про відсутність динамічного гасіння шляхом зіткнень іонів  $\text{Ag}^+$  з молекулами АТФ. Утворені гетероасоціати відповідають стехіометричному відношенню 1:1 та константи зв'язування, що зменшуються з ростом температури. При утворенні комплексів АТФ –  $\text{Ag}^+$  відбуваються від'ємні зміни термодинамічних параметрів, які вказують на спонтанний процес зародження гетероасоціатів при переважаючих електростатичній та ван-дер-Вальсовій взаємодіях.
- В результаті дослідження гасіння флуоресценції водних розчинів АТФ з солями  $\text{MgCl}_2$  та  $\text{CaCl}_2$  встановлена можливість утворення стійких комплексів АТФ –  $\text{Mg}^{2+}$  та АТФ –  $\text{Ca}^{2+}$  з дещо сильнішою афінністю для іонів  $\text{Mg}^{2+}$ . Статичний механізм гасіння характеризується термодинамічними параметрами зв'язування, що свідчать про переважну електростатичну природу взаємодії у комплексах.
- Квантово-хімічні розрахунки показують, що відбувається перерозподіл заряду комплексу АТФ –  $\text{Mg}^{2+}$  в порівнянні з незалежною АТФ. А також, що присутність іона  $\text{Mg}^{2+}$  призводить до зміни напрямку дипольного моменту.

## ВИСНОВКИ

1. В результаті дослідження спектрів збудження флуоресценції при довжині хвилі емісії  $\lambda_{em} = 395$  нм розчинів АТФ у воді показано наявність однієї смуги біля  $\lambda = 270$  нм, що відрізняється від спектру оптичної густини з двома максимумами поглинання біля  $\lambda_{max, 1} = 206$  нм і  $\lambda_{max, 2} = 259$  нм, що вказує на складні процеси дезактивації енергії збудження.

2. Вимірювання спектрів збудження флуоресценції  $\lambda_{em} = 410$  нм розчинів калікс[4]аренів С-107 у воді показують на виникнення двох смуг біля  $\lambda = 278$  нм і  $\lambda = 325$  нм, що відрізняється від спектрів оптичної густини з піками біля 230, 265, 315 нм.

3. Показано, що інтенсивність смуг збудження та емісії ФЛ в розчинах у воді АТФ – С-107 з ростом вмісту С-107 немонотонно змінюється, що вказує на одночасно протікання 2-х конкуруючих процесів, зумовлених неензиматичним гідролізом АТФ та їх комплексоутворенням.

4. Встановлено, що для розчинів у воді АТФ з калікс[4]ареном С-107 за постійного вмісту молекул АТФ при збільшенні концентрації С-107 відбувається складний характер гасіння ФЛ при збереженні положення максимуму біля 395 нм. Складний характер гасіння флуоресценції є наслідком різноманітних процесів комплексоутворення.

5. Показано, що додавання іонів  $Ag^+$  до розчинів АТФ – С-107 супроводжується стабілізацією їх комплексів.

6. Комп'ютерним моделюванням методом молекулярної динаміка показано, що в системі АТФ – С-107 утворюються енергетично стійкі комплекси за умови розташування АТФ на вершині калікс[4]арену та вздовж його стінки за рахунок  $\pi$ - $\pi$ -стекінгу взаємодії.

7. Квантово-хімічне моделювання систем АТФ з  $Ag^+$  та  $Mg^{2+}$  показує, що обидва іона впливають на перерозподіл зарядів, зміну дипольного моменту та енергетичної щільності. Водночас, взаємодія вказаних іонів

спостерігається для різних атомів Нітрогену індольного циклу, що впливає на природу комплексоутворення.

8. Застосування теорії Штерна-Фольмера показує, що комплексоутворення в розчинах у воді АТФ –  $\text{Ag}^+$ , АТФ –  $\text{Mg}^{2+}$  та АТФ –  $\text{Ca}^{2+}$  відбувається за статичним типом взаємодії та наявності електростатичної та вандерваальсовської сил взаємодії при додаванні іонів  $\text{Ag}^+$  на відміну від лише електростатичної у гетеросоціатах з іонами  $\text{Mg}^{2+}$  і  $\text{Ca}^{2+}$ .

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Molecular Probes for Fluorescent Imaging of ATP in Cell and Tissue /Y. Woong Jun, S. Sarkar, Kyeong, H. Kim at al.// *Chem. Photo Chem.* – 2019. – V. 3 (5). –P. 214–219. [doi.org/10.1002/cptc.201900001](https://doi.org/10.1002/cptc.201900001)
2. Standard Gibbs energy of metabolic reactions: II. Glucose-6-phosphatase reaction and ATP hydrolysis / F. Meurer, G. Sadowski, T. Hoang at al.// *Biophys Chem.* – 2017.– V. 223. – P. 30–38. DOI:[10.1016/j.bpc.2017.02.005](https://doi.org/10.1016/j.bpc.2017.02.005)
3. W. M. Haynes. *Chemistry and Physics* Boca Raton. –2016. –P. 310. ISBN 978-1-4987-5428-6
4. Britannica, The Editors of Encyclopaedia. "Adenosine triphosphate". Encyclopedia Britannica. – 2022.
5. J. Dunn , Michael H. Grider/ Physiology, Adenosine Triphosphate. PMID: Bookshelf 2023. – ID: [NBK553175](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28111115/)
6. Szabó Z. Multinuclear NMR studies of the interaction of metal ions with adenine-nucleotides/ Z. Szabó // *Coord. Chem. Rev.* – 2008. – V.252. – P.2362–2380. [doi.org/10.1016/j.ccr.2008.03.002](https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.03.002)
7. Saad AM. K. A series of Nano-sized metal ion – thiouracil complexes, tem, spectral,  $\gamma$ - irradiation, molecular modelingand biological studies/ AM. K.Saad//*Orient. J. Chem.*–2008.–V.252.–P.1897–1913. [.doi.org/10.13005/ojc/310406](https://doi.org/10.13005/ojc/310406)
8. Stability and mode of coordination complexes formed in the silver(I)/nucleoside systems/ R. Jastrzab, Z. Hnatejko, T. Runka at al.// *New J. Chem.* –2011.– V.35.–P. 1672–1677. DOI <https://doi.org/10.1039/C1NJ20230H>
9. Spectroelectrochemical Study of the AMP-Ag<sup>+</sup> and ATP-Ag<sup>+</sup> Complexes through Silver Mesh Electrode, F. Tano Patrice, L. Zhao, E. K. Fodjo at al.// *J. Name.* –2013.– P 1–8. DOI: [10.1039/C8AN00097B](https://doi.org/10.1039/C8AN00097B)
10. Akola J. ATP Hydrolysis in Water – A Density Functional Study / J. Akola, R. O. Jones// *J. Phys. Chem. B.*– 2003.–V. 107 (42) .–P. 11774–

11783. [doi.org/10.1021/jp035538g](https://doi.org/10.1021/jp035538g)
11. Pakiaria A.H. Quantum Chemical Analysis of ATP, GTP and Related Compounds in Gas Phase/ A.H. Pakiaria, M. Farrokhnia, A. Moradshahi// *J. Iran. Chem. Soc.*– 2010. –V. 7.–P.51.[doi:10.1007/bf03245859](https://doi.org/10.1007/bf03245859)
  12. Synthesis and fluorescence properties of 2-aryl-3-hydroxyquinolones, a new class of dyes displaying dual fluorescence/ D. Yushchenko, M. Bilokin, O. Pyvovarenko at al.// *Tetrahedron Letters.*–2006. –V. 47.–P. 905–908. [doi:10.1016/j.tetlet.2005.11.160](https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2005.11.160)
  13. Pivovarenko V. Fluorometric Detection of Adenosine Triphosphate with 3-Hydroxy-4 -(dimethylamino)flavone in Aqueous Solutions/ V. Pivovarenko O. Vadzyuk, S. Kosterin // *Journal of Fluorescence.*–2006. –V.16 (1). – P. 9–15. [DOI:10.1007/s10895-005-0020-5](https://doi.org/10.1007/s10895-005-0020-5)
  14. A toolbox of chromones and quinolones for measuring a wide range of ATP concentrations/ V. Pivovarenko, O. Bugera, N. Humbert at al.// *Chem. Eur.J.*–2017.–V.49.–P. 11927–11934. [doi:10.1002/chem.201702484](https://doi.org/10.1002/chem.201702484)
  15. Khlood S. A series of Nano-sized metal ion – thiouracil complexes, tem, spectral,  $\gamma$ - irradiation, molecular modeling and biological studies/ *Orient. J. Chem.*–2008.–V.252.–P.1897–1913.[doi.org/10.13005/ojc/310406](https://doi.org/10.13005/ojc/310406)
  16. Stability and mode of coordination complexes formed in the silver(I)/nucleoside systems / R. Jastrzab, Z. Hnatejko, T. Runka at al.// *New J. Chem.* – 2011.–V. 35.–P. 1672–1677. [doi.org/10.1039/C1NJ20230H](https://doi.org/10.1039/C1NJ20230H)
  17. Español E. Calixarenes: Generalities and Their Role in Improving the Solubility, Biocompatibility, Stability, Bioavailability, Detection, and Transport of Biomolecules/ E. Español, M. Villamil// *Biomolecules.*– 2019.– V.9(3).– P. 90. [doi.org/10.3390/biom9030090](https://doi.org/10.3390/biom9030090)
  18. Calix[4]arene C-956 selectively inhibits plasma membrane Ca(2+),Mg(2+)-ATPase in myometrial cells/ T. O. Veklich, O. A. Skrabak, Yu. V. Nikonishyna at al.// *Ukr. Biochem. J.* –2018.– V. 90( 5) .– P. 34–42. <https://doi.org/10.15407/ubj90.05.034>

19. Supramolecular interaction between water-soluble calix[4]arene and ATP\*/the catalysis of calix[4]arene for hydrolysis of ATP/Yao Tian-Ming, Ye Zhi-Feng, Wang Li at al.// *Spectrochimica Acta Part A*.– 2002.–V.58.– P.303–3038. [doi.org/10.1016/S1386-1425\(02\)00029-X](https://doi.org/10.1016/S1386-1425(02)00029-X)
20. Каліксарензалежний гідроліз АТФ і кінетика реакції та комплексоутворення між каліксареном С-107 та нуклеозидтрифосфатом/О. А. Шкрабак, О. І. Кальченко, Р. В. Родік, Т. О. Векліч// *Укр. біохім. журн.*–2008.–Т.80 (2).–С.90–100. ISSN 0201 — 8470
21. Sliwa W. Calixarene complexes with metal ions/ W. Sliwa, T. Girek// *J Incl Phenom Macrocycl Chem.*– 2010. – V.66. – P.15–41. DOI 10.1007/s10847-009-9678-7
22. Introduction to Practical Biochemistry /G. Hedge, J. Cardos, M. Kovacs at al.// Eötvös Loránd University.– 2013. – 211 p.
23. Determination of ATP, ADP, and AMP Levels by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography in Cultured Cells/ M. Menegollo, I. Tessari, L. Bubacco at al.// *Methods in Molecular Biology*.– 2019. –P. 223–232. DOI: 10.1007/978-1-4939-9018-4\_19
24. Williams R. J. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules/ R. J. Williams, J. P. Spencer, C. Rice-Evans// *Free Radic. Biol. Med.* – 2004. –V. 36 (7) .– P. 838–849. [doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.01.001](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.01.001)
25. K.M. Valant-Vetschera, E. Wollenweber, In: *Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications* (Eds.: Øyvind M. Andersen Kenneth R. Markham), Taylor&Francis, London. – 2006. – P. 617–749. ISSN-10: 0-8493-2021-6
26. D. A. Yushchenko, O. B. Vadzyuk, S. O. Kosterin, G. Duportail, Y. Mely, V. G. Pivovarenko/ *Analytical Biochemistry*. – 2007. – V. 369. – P.218–225.

27. Adsorption of nucleotides on biomimetic apatite: The case of adenosine 5 triphosphate (ATP)/ K. Hammami, H. El-Feki, O. Marsan et al.// *Applied Surface Sci.*–2016.– V. 360.–P 979–988.  
[doi.org/10.1016/j.apsusc.2015.11.100](https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2015.11.100)
28. Synthesis, spectroscopic (FT-IR, UV–visible) study, and HOMO-LUMO analysis of adenosine triphosphate (ATP) doped trivalent terbium/ S. Santi, A. Wahab, I. Raya et al.// *J. of Molec. Struct.* – 2021.– V. 1237. – P. 130398. [doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130398](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130398)
29. Stability and mode of coordination complexes formed in the silver(I)/nucleoside systems/ R. Jastrzab, Z. Hnatejko, T. Runka et al.// *New J. of Chem.* – 2011. – V. 35. – P. 1672–1677. [DOI:10.1039/C1NJ20230H](https://doi.org/10.1039/C1NJ20230H)
30. Bock J. L. The binding of metal ions to ATP: A proton and phosphorus nmr investigation of diamagnetic metal-ATP complexes/ J. L. Bock// *J. of Inorganic Biochem.*– 1980.– V. 12(2). – P. 119–130.  
[doi.org/10.1016/S0162-0134\(00\)80123-3](https://doi.org/10.1016/S0162-0134(00)80123-3)
31. Synthesis and properties of purinophanes. Relationship between the magnitude of hypochromism and stacking geometry of purine rings/ F. Seyama K. Akahori, Y. Sakata et al.// *J. of the American Chem. Society.* – 1988. – V. 110 (7). –P. 2192–2201. [doi.org/10.1021/ja00215a032](https://doi.org/10.1021/ja00215a032)
32. Perry J. J. Metal-organic frameworks: Applications from catalysis to gas storage/ J. J. Perry, C. A. Bauer, M. D. Allendorf // *J. Supramol. Chem.* – 2011. –P. 267-308. [DOI:10.1002/9783527635856](https://doi.org/10.1002/9783527635856)
33. Spectroelectrochemical study of the AMP-Ag<sup>+</sup> and ATP-Ag<sup>+</sup> complexes using silver mesh electrodes. T. P. Fato, L.-J. Zhao, K. F. Essy et al.// *The Analyst.*– 2018. – V. 143 (10). –P. 2342–2348. [DOI:10.1039/C8AN00097B](https://doi.org/10.1039/C8AN00097B)
34. Modification of the intrinsic fluorescence and the biochemical behavior of ATP after irradiation with visible and near-infrared laser light/ A. Amat J. Rigau; R. Waynant, I. K. Ilev et al.// *J. of Photochem and Photobiology B: Biology.*–2005.–V.81(1).–P.26–32.  
[doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2005.05.012](https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2005.05.012)

35. R.H. Abeles, P.A. Frey, W.P. Jencks, *Biochemistry*, Jones and Bartlett Publishers, Boston, 1992.
36. H. Tsai Yan, M.D. Nucleoside monophosphate kinases: structure, mechanism and substrate specificity/ M.D. Tsai Yan// *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.*—1999.—V.73.—P.103–134.  
[doi.org/10.1002/9780470123195.ch4](https://doi.org/10.1002/9780470123195.ch4)
37. Westerblad H. Cellular mechanisms of skeletal muscle fatigue/H.Westerblad D.G. Allen // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2003. – V. 538. – P. 563–571.  
[doi.org/10.1152/physrev.00015.2007](https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2007)
38. Векліч Т.О. АТФ-залежна кальцієва помпа плазматичної мембрани гладеньком'язових клітин. I. Структурна організація та властивості/ Т.О. Векліч, Мазур Ю.Ю., С.О. Костерін // *Укр. біохім. журн.* – 2015. – Т. 87, (1). – С. 5– 20. [УДК 577.352.4](#)
39. Векліч Т.О.  $Mg^{2+}$ , АТФ-залежна кальцієва помпа плазматичної мембрани гладеньком'язових клітин. II. Регуляція активності/ Т.О. Векліч, Мазур Ю.Ю., С.О. Костерін // *Укр. біохім. журн.* – 2015. – Т. 87 (2). – С. 5–25. [УДК 577.352.4](#)
40. Intramolecular interactions of the regulatory region with the catalytic core in the plasma membrane calcium pump / R. Padanyi, K. Paszty, A. Penheiter at al.// *Biol Chem.* –2003. – V. 278. – P. 35798–35804.  
[DOI: 10.1074/jbc.M305794200](https://doi.org/10.1074/jbc.M305794200)
41. Pande J. Plasma membrane calcium pumps in smooth muscle: from fictional molecules to novel inhibitors/ J. Pande, A. K. Grover// *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 2005. – V.83. –P.743–754.  
[doi.org/10.1139/y05-075](https://doi.org/10.1139/y05-075)
42. Localization and regulation of plasma membrane  $Ca^{2+}$ -ATPase in bovine spermatozoa / J. Triphan, G. Aumuller, T. Brandenburger// *Europ. J. Cell Biol.* – 2007. – V. 86. – P. 265–273. [doi.org/10.1016/j.ejcb.2007.02.003](https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2007.02.003)

43. Krebs J. The influence of calcium signaling on the regulation of alternative splicing/ J. Krebs// *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research.*–2009.–V.1793(6).–P.979-984. [org/10.1016/j.bbamcr.2008.12.006](https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2008.12.006)
44. Ishida Y. Ca<sup>2+</sup> clearance in smooth muscle: lessons from gene-altered mice/ Y. Ishida, R. J. Paul// *J. Smooth Muscle Res.* – 2005. – V. 41(5) . – P. 235–245. [DOI:10.1540/jsmr.41.235](https://doi.org/10.1540/jsmr.41.235)
45. Ca<sup>2+</sup> extrusion in aged smooth muscle cells/ P. J. Gomez-Pinilla, M. J. Pozo, B. Akemishi// *Biochem. Pharmacol.* – 2007.– V. 74(6) . – P. 860–869. [org/10.1016/j.bcp.2007.06.037](https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.06.037)
46. Cartwright E. J. Ca<sup>2+</sup> signalling in cardiovascular disease: the role of the plasma membrane calcium pumps/ E. Cartwright D. Oceandy, C. Austin // *Sci. China.*– 2011.–V. 54(8). – P. 691–698. [DOI:10.1007/s11427-011-4199-1](https://doi.org/10.1007/s11427-011-4199-1)
47. The calixarene C-107 increase the affinity of the Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase activity in plasmatic membrane of smooth muscle cells to the ouabain/ T. O. Veklich, A. A. Shkrabak, R. V. Rodik at al.// *Ukr. Biokhim. Zhurn.* – 2011. –V. 83(1) . –P. 38–44. (In Ukrainian).
48. T. O. Veklich, A. A. Shkrabak, S. O. Cherenok at al.// Comparative investigation of effects of calix[4]arene C-99 and its analogs on Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase activity of uterus myocyte plasma membrane. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* – 2012. – V. 84(6) .–P. 49–5. (In Ukrainian).
49. S. V. Komisarenko, S. O. Kosterin, E. V. Lugovskoy // Calixarene methylene bisphosphonic acids as promising effectors of biochemical processes// *Ukr. Biokhim. Zhurn.* – 2013. – V. 85(6) . – P. 106–128. (In Ukrainian).
50. Veklich T. Plasma membrane Ca<sup>2+</sup>,Mg<sup>2+</sup>-ATPase activity is selectively suppressed by calix[4]arene C-90/ T. Veklich, A. Shkrabak, I. I. Mazur// *Visnyk of L'viv University.* – 2014. – V. 68. – P. 337–347. (In Ukrainian).
51. Manganese–calcium clusters supported by calixarenes/ R. O. Fuller, G.A. Koutsantonis, I. Lozić at al.// *The Royal Society of Chemistry.* – 2014. – P. 1–6. [DOI: 10.1039/c4dt02952f](https://doi.org/10.1039/c4dt02952f)

52. A Unique  $Mn_2Gd_2$  Tetranuclear Compound of p-tert-Butylthiacalix[4]arene/ Y.F. Bi, Y. L. Li, W. P. Liao et al.// *Zhang Chem.* – 2008. – V. 47. – P. 9733–9735.
53. S. Li, L. Yu, X. Man, J. Zhong, X. Liao, W. Sun, The Synthesis and band gap changes induced by the doping with rare-earth ions in nano-SnO<sub>2</sub>, *Mater. Sci. Semicond. Process.* 71 (2017) 128–132, doi: 10.1016/j.mssp.2017.07.017 .
54. Z.A. Said Mahraz, M.R. Sahar, S.K. Ghoshal, Band gap and polarizability of boro- tellurite glass: influence of erbium ions, *J. Mol. Struct.* 1072 (2014) 238–241, doi: 10.1016/j.molstruc.2014.05.017 .
55. Ö.B. Mergen, E. Arda, Determination of optical band gap energies of CS/MWCNT Bio-nanocomposites by Tauc and ASF methods, *Synth. Met.* (2020) 269, doi: 10.1016/j.synthmet.2020.116539 .
56. [Электронный ресурс]: URL: [www.macylab.com/uploads/2017/cp/UV-1900.pdf](http://www.macylab.com/uploads/2017/cp/UV-1900.pdf)
- 57.[Электронный ресурс]: URL: [www.ste-mart.com/quantamaster-40-intensity-based-spectrofluorometer-pti-a-division-of-horiba-4210](http://www.ste-mart.com/quantamaster-40-intensity-based-spectrofluorometer-pti-a-division-of-horiba-4210)
58. [Электронный ресурс]:  
URL:<https://nanoqam.ca/wiki/lib/exe/fetch.php?media=10299-3966.pdf>
59. Charbonneau D. M. Study on the Interaction of Cationic Lipids with Bovine Serum Albumin/ D. M .Charbonneau, H. A. Tajmir-Riahi// *J. Phys. Chem. B.*– 2010.– V. 114 (2). –P. 1148. doi:10.1021/jp910077h
60. Chamani J. Lomefloxacin promotes the interaction between human serum albumin and transferrin: A mechanistic insight into the emergence of antibiotic's side effects/ J. Chamani, H. Vahedian-Movahed, M. R. J. Saberi // *J. Pharm. Biomed. Anal.*–2011.–V.55(1).–P.114. doi:10.1016/j.jpba.2010.12.029
61. J. R. Lakowicz. Principles of Fluorescence Spectroscopy, 3rd ed. (Springer, Baltimore, MD). – 2006. DOI:10.1007/978-0-387-46312-4

62. In vitro study on the binding of gemcitabine to bovine serum albumin/ H. Shen Z. Gu, Kang Jian et al. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2013. – V. 75. – P. 86. [doi:10.1016/j.jpba.2012.11.021](https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.11.021)
63. T. Forster. *Modern Quantum Chemistry III* (Academic Press, New York, NY) . – 1965.
64. Binding of Sudan II and Sudan IV to bovine serum albumin: Comparison studies /D. W. Lu, X. Zhao, Y. Zhao et al. // *Food Chem. Toxicol.* – 2011. – V. 49 (12). –P. 3158. [doi:10.1016/j.fct.2011.09.011](https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.09.011)
65. Markarian S. A. Study on the interaction between isoniazid and bovine serum albumin by fluorescence spectroscopy: the effect of dimethylsulfoxide / S. A. Markarian, M. G. Aznauryan// *Mol. Biol. Rep.* – 2012. – V. 39 (7). –P. 7559. [doi:10.1007/s11033-012-1590-3](https://doi.org/10.1007/s11033-012-1590-3)
66. X. Wang, E.R. Vorpapel, X. Yang et al. Experimental and Theoretical Investigations of the Stability, Energetics, and Structures of  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7^{2-}$ , and  $\text{H}_3\text{P}_3\text{O}_{10}^{2-}$  in the Gas Phase// *J. Phys. Chem. A.* – 2001. – V. 105. –P. 10468.
67. ePC-SAFT revised/ C. Held, T. Reschke, S. Mohammad et al.// *Chem. Eng. Res. Des.* – 2014. – V. 92. –P. 2884–2897. [DOI:10.1016/j.cherd.2014.05.017](https://doi.org/10.1016/j.cherd.2014.05.017)
68. Recommendations for terminology and databases for biochemical thermodynamics/ R.A. Alberty, A. Cornish-Bowden, R.N. Goldberg et al.// *Biophys. Chem.*–2011.–V. 155. –P. 89–103. [doi.org/10.1016/j.bpc.2011.03.007](https://doi.org/10.1016/j.bpc.2011.03.007)
69. Novel two-band ratiometric fluorescence probes with different location and orientation in phospholipid membranes/ A. Klymchenko et al.// *Chem. Biol.* – 2002. – V. 9. –P. 1199–1208. [doi.org/10.1016/S1074-5521\(02\)00244-2](https://doi.org/10.1016/S1074-5521(02)00244-2)
70. Modulation of the solvent-dependent dual emission in 3-hydroxychromones by substituents /A. S. Klymchenko, V. G. Pivovarenko, T. Ozturk // *New J. Chem.* – 2003. – V. 27. –P. 1336–1343.
71. Klymchenko A. S. Tuning excited state intramolecular proton transfer in 3-hydroxyflavone derivative by reaction of its isothiocyanate group with an amine // A. S. Klymchenko, D. A. Yushchenko, Y. Mely, *J. Photochem.*

*Photobiol.A:Chem.*–2007.–V.192.–P.93–97.

[doi.org/10.1016/j.jphotochem.2007.05.009](https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2007.05.009)

72. Highly Selective Fluorescence Sensing and Imaging of ATP Using a Boronic Acid Groups-Bearing Polythiophene Derivate/ L. Liu, L. Zhao, D. Cheng et al.// *Polymers.*–2019. –V.11–P. 1139. [doi:10.3390/polym11071139](https://doi.org/10.3390/polym11071139)

73. Mechanisms of the interaction of bovine serum albumin with anticancer drug gemcitabine/ N. A Goncharenko, O. P Dmytrenko, M. P Kulish et al. // *MolCrystLiqCryst.*–2020.–V.701.–P.59–71.

[DOI:10.1080/15421406.2020.1732563](https://doi.org/10.1080/15421406.2020.1732563)

74. Spectral features of adenosine triphosphate solutions with calix[4]arene C-107/ A.V. Lohvyn, O.P. Dmytrenko, M.P. Kulish, T.O. Veklich, M.I. Kaniuk // *Applied Nanoscience (Switzerland).* –2022. –P.1–7. [doi.org/10.1007/s13204-022-02623-2](https://doi.org/10.1007/s13204-022-02623-2)

75. Electronic and spectral properties of the energy component of ATP ion transport in biomembranes/ A. Lohvyn, S. Kosterin, T.Veklich, O. Dmytrenko, M. Kulish// *Proceedings of X International Conference “Medical Physics – the Current Status, Problems, the Way of Development. Innovation Technologies”.* – 2021. – Київ, Україна. – P. 99–102.

76. Peculiarities of the Fluorescence Quenching in the ATP – Calix[4]arene C-107 Aqueous Solutions/ A. Starzhynska, O. Dmytrenko, M. Kulish, O. Pavlenko, I. Doroshenko, A. Lesiuk, T. Veklich, M. Kaniuk//*Ukrainian Journal of Physics.* –2024.–V. 69 (2). –P.71–81. <https://doi.org/10.15407/ujpe69.2.71>

77. Gold nanoparticles as factor of influence on doxorubicin-bovine serum albumin complex/ N. A Goncharenko, O.L Pavlenko, M.P Kulish et al. // *Appl. Nanosci (Switz).* – 2019. – V. 9(5). –P.825–833. [DOI:10.1007/s13204-018-0748-2](https://doi.org/10.1007/s13204-018-0748-2)

78. Heteroassociation of antitumor agent doxorubicin with bovine serum albumin in the presence of gold nanoparticles / L. A. Bulavin, N. A Goncharenko, O.P. Dmytrenko et al. // *J. Mol. Liq.* – 2019. – V. 284. –P.633–, 638. [doi:10.1016/j.molliq.2019.04.017](https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.04.017)

79. Understanding prodrugs: complexation in aqueous solutions of doxorubicin bovine serum albumin and gold nanoparticles/ N. A. Goncharenko, O.L Pavlenko, O.P. Dmytrenko et al. // *Appl. Nanosci (Switz)*. – 2020. – V. 10. –P. 2941–2949. [DOI:10.1007/s13204-019-01060-y](https://doi.org/10.1007/s13204-019-01060-y)
80. Mechanisms of Heteroassociation of Ceftriaxone and Doxorubicin Drugs with Bovine Serum Albumin/ O. Dmytrenko, M. Kulish, O. Pavlenko et al.// *Soft Mat. Sys. Biomed. App.* – 2022. – V.226. –P. 219 – 245. [DOI:10.1007/978-3-030-80924-9\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-030-80924-9_8)
81. Binding parameters in ATP complexes with curcumin drugs/ A. Starzhynska, O. Dmytrenko, M. Kulish, O. Pavlenko, I. Doroshenko, A. Lesiuk, A. Misura, A. Naumenko, T. Veklich, M. Kaniuk// Book of abstracts international research and practice conference Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2023). – Lviv: LPNU. (16-19.08.2023).–2023. –P.402. <https://nanoconference.iop.kiev.ua/assets/files/nano2023.pdf>.
82. Computer Modeling in Biotechnology, a Partner in Development/ A. Aksimentiev, R. Brunner, J. Cohen et al.// *Methods in molecular biology*. – 2008.–P.1–60. [DOI: 10.1007/978-1-59745-480-3\\_11](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-480-3_11)
83. Humphrey W. VMD – Visual Molecular Dynamics/ W. Humphrey, A. Dalke, K. Schulten// *J. Mol. Graphics*. –1996. –V. 14. –P. 33–38. [doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5)
84. Foloppe N. All-atom empirical force field for nucleic acids: I. parameter optimization based on small molecule and condensed phase macromolecular target data / N. Foloppe A. D. MacKerrell Jr.// *J. Comp. Chem.* – 2000. – V. 21. –P. 86–104. [doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(20000130\)21:2<86::AID-JCC2>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(20000130)21:2<86::AID-JCC2>3.0.CO;2-G)
85. Lindahl E. D. van der Spoel, Gromacs 3.0: A package for molecular simulation and trajectory analysis/ B. Hess, E. Lindahl/ *J. Mol. Mod.* – 2001. V. 7 (8)–P. 306–317. [DOI:10.1007/s008940100045](https://doi.org/10.1007/s008940100045)
86. T. Schlick. Molecular Modeling and Simulation: An Interdisciplinary Guide, *Springer-Verlag*. – New York. – 2002.

87. On the water-carbon interaction for use in molecular dynamics simulations of graphite and carbon nanotubes/ T. Werder, J. H. Walther, R. L. Jaffe// *J. Phys. Chem. B.* – 2003. – V. 107 – P. 1345–52.
88. Wei C. Theory of transport of long polymer molecules through carbon nanotube channel / C. Wei, D. Srivastava // *Phys. Rev. Lett.* – 2003. – V. 91. – P. 235901. [doi.org/10.1103/PhysRevLett.91.235901](https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.91.235901)
89. Electrolytic transport in modified carbon nanotubes/ S. Joseph, R. J. Mashl, E. Jakobsson et al.// *Nano Letters.* – 2003. – V. 3. – P. 1399–1403.
90. Yeh I. C. Diffusion and electrophoretic mobility of single-stranded RNA from molecular dynamics simulations/ I. C. Yeh, G. Hummer // *Biophys. J.* – 2004. – V. 86. – P. 681–689. DOI: [10.1016/S0006-3495\(04\)74147-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(04)74147-8)
91. Gao H. Simulation of DNA-nanotube interactions/ H. Gao, Y. Kong/ *Annu. Rev. Mater. Res.* – 2004. – V. 34. – P. 129–152.  
DOI: [10.1146/annurev.matsci.34.040203.120402](https://doi.org/10.1146/annurev.matsci.34.040203.120402)
92. Functionalized carbon nanotubes for plasmid DNA gene delivery / D. Pantarotto, R. Singh, D. McCarthy et al.// *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2004. – V. 43. – P. 5242–5246. [doi.org/10.1002/anie.200460437](https://doi.org/10.1002/anie.200460437)
93. Scalable molecular dynamics with NAMD / J. C. Phillips, R. Braun, W. Wang et al.// *J. Comp. Chem.* – 2005. – V. 26. – P. 1781–1802. DOI: [10.1002/jcc.20289](https://doi.org/10.1002/jcc.20289)
94. Aksimentiev A. Imaging alpha-hemolysin with molecular dynamics: Ionic conductance, osmotic permeability and the electrostatic potential map/ K. Schulten// *Biophys. J.* – 2005. – V. 88. – P. 3745–3761.  
[doi.org/10.1529/biophysj.104.058727](https://doi.org/10.1529/biophysj.104.058727)
95. Kam N. W. S. Carbon nanotubes as intracellular protein transporters: Generality and biological functionality/ N. W. S. Kam, H. Dai// *J. Am. Chem. Soc.* – 2005. – V. 127. – P. 6021–6026. DOI: [10.1021/ja050062v](https://doi.org/10.1021/ja050062v)
96. Adcock S. A. Molecular dynamics: survey of methods for simulating the activity of proteins / S. A. Adcock, J. A. McCammon// *Chem. Rev.* – 2006. – V. 106. – P. 1589–1615.

97. Simulation of the electric response of DNA translocation through a semiconductor nanopore-capacitor/ M. E. Gracheva, A. Xiong, J.-P. Leburton et al.// *Nanotechnology*.– 2006. –V. 17.–P. 622–633. [DOI 10.1088/0957-4484/17/3/002](https://doi.org/10.1088/0957-4484/17/3/002)
98. Cruz-Chu E. R. Water-silica force field for simulating nanodevices/ E. R Cruz-Chu A. Aksimentiev, K. Schulten // *J. Phys. Chem. B*. – 2006.– V.110.–P. 21497–21508.
99. Field effect of screened charges:Electrical detection of peptides and proteins by a thin-film resistor /S. Lud, M. Nikolaides, I. Haase et al.// *CHPC 7*.– 2006.–P. 379–384. [DOI:10.1002/cphc.200500484](https://doi.org/10.1002/cphc.200500484)
100. Ion conduction through MscS as determined by electrophysiology and simulation/ M. Sotomayor, V. Vasquez, E. Perozo et al.// *Biophys. J*.– 2007. – V. 92.–P. 886–902. [doi.org/10.1529/biophysj.106.095232](https://doi.org/10.1529/biophysj.106.095232)
101. Charge delocalization in proton channels. I. The aquaporin channels and proton blockage/ H. Chen, B. Ilan, Y. Wu// *Biophys. J*. – 2007. – V .92.–P. 46–60. [doi.org/10.1529/biophysj.106.091934](https://doi.org/10.1529/biophysj.106.091934)
102. Eckford P. D. ABC efflux pump-based resistance to chemotherapy drugs/ P. D. Eckford, F. J. Sharom// *Chem. Rev*. – 2009. – V . 109. –P. 2989–3011.
103. Giese B. Density functional theoretical (DFT) and surface-enhanced Raman spectroscopic study of guanine and its alkylated derivatives/ B. Giese, D. McNaughton // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2002. – V .4 (20). –P.5171. [DOI: 10. 1039/B203830G](https://doi.org/10.1039/B203830G)
104. Mei H. Ag+-Mediated DNA Base Pairing: Extraordinarily Stable Pyrrolo-dC– Pyrrolo-dC Pairs Binding Two Silver Ions/ H. Mei, I. R€ohl, F. Seela// *J. Org. Chem.* – 2013.– V .78 (18)–P. 9457. [DOI: 10.1021/jo401109w](https://doi.org/10.1021/jo401109w)
105. Starzhynska A. Mechanisms of heteroassociation in an aqueous solution of ATP – Ag+/ A. Starzhynska, O. Dmytrenko, M. Kulish, O. Pavlenko, I. Doroshenko, A. Lesiuk, A. Naumenko, T. Veklich, M. Kaniuk// Book of abstracts international research and practice conference Nanotechnology and

- nanomaterials (NANO-2023). – Lviv: LPNU. (16-19.08.2023). –2023. –P. 399.  
<https://nano-conference.iop.kiev.ua/assets/files/nano2023.pdf> .
106. Mechanisms of formation of heteroassociates of ATP with  $ag^+$  ions/ A.V. Starzhynska, O.P. Dmytrenko, M.P. Kulish, O.L. Pavlenko, I. Doroshenko, A.I. Lesiuk, A.I. Misiura, T.O. Veklich, M.I. Kaniuk // *Molecular Crystals and Liquid Crystals*.–2024.–V.768,NO.16.–P.826–839.  
[doi.org/10.1080/15421406.2024.2363079](https://doi.org/10.1080/15421406.2024.2363079)
107. Formation of a Complex Containing ATP,  $Mg^{2+}$ , and Spermine/ D. Meksuriyen, T. Fukuchi-Shimogori, H. Tomitori et al.//*J. of Biol. Chem.*–1998.–V.273 (47).–P. 30939–30944.
108. F. Hu, Y. Zhang, P. Li et al./ Developing Force Fields for Accurate  $Mg^{2+}$  and Triphosphate Interactions in  $ATP \cdot Mg^{2+}$  Complexes.–2024.–  
[DOI:10.26434/chemrxiv-2024-wfqmg](https://doi.org/10.26434/chemrxiv-2024-wfqmg)
109. How Well Does a Restrained Electrostatic Potential (RESP) Model Perform in Calculating Conformational Energies of Organic and Biological Molecules? /Wang, J., Cieplak, P. Kollman // *J. Comput. Chem.*– 2000.–V.21 (12).–P.1049–1074. [DOI:10.1002/1096-987X\(200009\)21:12<1049::AID-JCC3>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/1096-987X(200009)21:12<1049::AID-JCC3>3.0.CO;2-F)
110. Meagher K. L. Development of Polyphosphate Parameters for Use with the AMBER Force Field/ K. L. Meagher, L. T. Redman, H. A. Carlson// *J. Comput. Chem.* – 2003.–V.24 (9).–P.1016–1025. [DOI: 10.1002/jcc.10262](https://doi.org/10.1002/jcc.10262)
111. Point-Charge Force Field for Molecular Mechanics Simulations of Proteins based on Condensed-phase Quantum Mechanical Calculations/ Y. Duan, C.Wu, S.Chowdhury et al.// *J. Comput. Chem.* – 2003.–V.24 (16).–P.1999–2012.  
[doi.org/10.1002/jcc.10349](https://doi.org/10.1002/jcc.10349)
112. Mackerell A. D. Extending the Treatment of Backbone Energetics in Protein Force Fields: Limitations of Gas-phase Quantum Mechanics in Reproducing Protein Conformational Distributions in Molecular Dynamics Simulations / A. D. Mackerell, M. Feig, I. Brooks// *J. Comput. Chem.* – 2004.–V. 25 (11).–P. 1400–15. [DOI: 10.1002/jcc.20065](https://doi.org/10.1002/jcc.20065)

113. THE weighted histogram analysis method for free-energy calculations on biomolecules. I. The method. S. Kumar, J. M. Rosenberg, D. Bouzida et al.// *J. Comput. Chem.* –2004.–V. 13 (8). –P. 1011–1021.
114. Grimme S. Effect of the Damping Function in Dispersion Corrected Density Functional Theory/ S. Grimme, S. Ehrlich, L.Goerigk // *J. Comput. Chem.* – 2011.–V. 32 (7) . –P. 1456–65. [doi.org/10.1002/jcc.21759](https://doi.org/10.1002/jcc.21759)
115. CHARMM Force-Fields with Modified Polyphosphate Parameters Allow Stable Simulation of the ATP-Bound Structure of Ca(2+)-ATPase /Y.Komuro, S. Re, C. Kobayashi et al.// *J. Chem. Theory Comput.* – 2014. –V.10 (9). –P. 4133–42.
116. Betz R. M. Paramfit Automated Optimization of Force Field Parameters for Molecular Dynamics Simulations/ R. M. Betz, R. C. Walker// *J. Comput. Chem.* – 2015. –V.36 (2). –P. 79–87. [DOI: 10.1002/jcc.23775](https://doi.org/10.1002/jcc.23775)
117. Li P. Metal Ion Modeling Using Classical Mechanics/ P. Li, K.Merz// *Chem. Rev.* –2017.–V. 117 (3). – P. 1564–1686.
118. Comparison of the DFT-SAPT and Canonical EDA Schemes for the Energy Decomposition of Various Types of Noncovalent Interactions/ O. A.Stasyuk, R. Sedlak, C. F. Guerra// *J. Chem. Theory Comput.* –2018.–V. 14 (7). – P. 3440–3450. [doi: 10.1021/acs.jctc.8b00034](https://doi.org/10.1021/acs.jctc.8b00034)
119. Liu C. AMOEBA+ Classical Potential for Modeling Molecular Interactions/ C. Liu, J.-P. Piquemal, P.Ren // *J. Chem. Theory Comput.* –2019.–V. 15 (7) . – P. 4122– 4139. [DOI:10.1021/acs.jctc.9b00261](https://doi.org/10.1021/acs.jctc.9b00261)
120. Electronic Structure Methods for Accurate Fixed-Charge Electrostatic Models A. Zhou, M. Schauerl, P. S. Nerenberg S. Benchmarking et al.// *J. Chem. Inf. Model.* –2020.–V. 60 (1). – P. 249–258.
121. ff19SB: Amino-Acid-Specific Protein Backbone Parameters Trained against Quantum Mechanics Energy Surfaces in Solution/ C. Tian, K. Kasavajhala, K. A. A.Belfon et al.// *J. Chem. Theory Comput.*– 2020.–V. 16 (1).–P. 528–552. [DOI:10.1021/acs.jctc.9b00591](https://doi.org/10.1021/acs.jctc.9b00591)

122. ATP–Magnesium Coordination: Protein Structure-Based Force Field Evaluation and Corrections/F. P. Buelens, H. Leonov, B. L. de Groot et al.// *J. Chem.TheoryComput.*–2021.–V.17.–P.1922–1930. [DOI: 10.1021/acs.jctc.0c01205](https://doi.org/10.1021/acs.jctc.0c01205)
123. Identification of functional substates of KRas during GTP hydrolysis with enhanced sampling simulations/ J.Zeng, J. Chen, F. Xia et al.// *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2022. –V. 24 (13).–P. 7653–7665. [doi: 10.1039/d2cp00274d](https://doi.org/10.1039/d2cp00274d)
124. Lu T. Simple, Efficient, and Universal Energy Decomposition Analysis Method Based on Dispersion-Corrected Density Functional Theory/ T. Lu, Q. Chen// *J. Phys. Chem. A.* – 2023.–V. 127 (33).–P.7023–7035. [DOI:10.26434/chemrxiv-2023-n79rz](https://doi.org/10.26434/chemrxiv-2023-n79rz)
125. Binding of Phosphate Species to Ca(2+) and Mg(2+) in Aqueous Solution/ B. K. Findik, M. Jafari, L. F. Song et al.// *J. Chem. Theory Comput.* – 2024. –V. 20 (10). –P. 1–6. [DOI:10.1021/acs.jctc.4c00218](https://doi.org/10.1021/acs.jctc.4c00218)
126. Complex Formation in Aqueous Solutions of Adenosine Triphosphate with Mg<sup>2+</sup> and Ca<sup>2+</sup> Ions/ A.V. Starzhynska, O.P. Dmytrenko, M.P. Kulish, O.L. Pavlenko, Lesiuk, A.I. Veklich, M.I. Kaniuk // *Nanooptics and Photonics, Nanochemistry and Nanobiotechnology, and Their Applications. Springer Proceeding in Physics.* – 2024. – V. 312. –P. 173-186. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-67527-0\\_14](https://doi.org/10.1007/978-3-031-67527-0_14)
127. Complex formation in aqueous solutions of adenosine triphosphate with Mg<sup>2+</sup> and Ca<sup>2+</sup> ion/ A. Starzhynska, O. Dmytrenko, M. Kulish, O. Pavlenko, A. Lesiuk, T. Veklich, M. Kaniuk// *Book of abstracts international research and practice conference Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2023).* – Lviv: LPNU. (16-19.08.2023).–2023.–P. 400.<https://nano-conference.iop.kiev.ua/assets/files/nano2023.pdf> .
128. Holmuhamedov E. L. ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel openers prevent Ca<sup>2+</sup> overload in rat cardiac mitochondria/ E. L. Holmuhamedov, L Wang, A Terzic//*J.Physiol.*–1999.–V.347.–P.60. [doi: 10.1111/j.1469-7793.1999.0347m.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1999.0347m.x)
129. The axial channel of the proteasome core particle is gated by the Rpt2 ATPase and controls both substrate entry and product release/ A. Köhler, P. Cascio, D.S.

Leggett et al.// *Mol. Cell.* – 2001. –V. 7. –P. 1143–1152. [doi.org/10.1016/S1097-2765\(01\)00274-X](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(01)00274-X)

130. Multiple associated proteins regulate proteasome structure and function/ D.S. Leggett, J. Hanna, A. Borodovsky et al.// *Mol. Cell.* – 2002. – V. 10. –P. 498–507.

131. ATP hydrolysis by the proteasome regulatory complex PAN serves multiple functions in protein degradation/ N. Benaroudj, P. Zwickl, E. Seemu" ller et al.// *Mol. Cell.* 2003. – V. 11. –P. 69–78. [doi.org/10.1016/S1097-2765\(02\)00775-X](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(02)00775-X)

132. Ogura, T. Dissecting various ATP-dependent steps involved in proteasomal degradation/ T. Ogura, K. Tanaka // *Mol. Cell.* – 2003. –V.11.–P. 3–5. [doi.org/10.1016/S1097-2765\(03\)00004-2](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(03)00004-2)

133. Zalk R. ATP-binding sites in brain p97/VCP (valosin-containing protein), a multifunctional AAA ATPase/ R. Zalk, V. Shoshan-Barmatz// *Biochem. J.* –2003. – V. 374.–P. 473– 480. [doi.org/10.1016/S1097-2765\(03\)00004-2](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(03)00004-2)

134.Liu M. Mapping interactions between the Ca<sup>2+</sup>-ATPase and its substrate ATP with infrared spectroscopy/ M. Liu, A. Barth// *J. Biol. Chem.* – 2003. –V.278.–P. 10112–10118. [DOI: 10.1074/jbc.M212403200](https://doi.org/10.1074/jbc.M212403200)

135. Kьhlbrandt W. Biology, structure and mechanism of P-type ATPases/ W. Kьhlbrandt// *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* –2004.– V.5.–P. 282–295. [DOI: 10.1038/nrm1354](https://doi.org/10.1038/nrm1354)

136. Mahaney J. E. The time-dependent distribution\_ of phosphorylated intermediates in native sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase from skeletal\_muscle is not compatible with a linear kinetic model/ J. E. Mahaney, D. D. Thomas, J. P. Froehlich// *Biochemistry.* –2004.– V. 43.– P. 4400–4416. [DOI:10.1111/j.1749-6632.2003.tb07145.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb07145.x)

137. Asymmetric interactions of ATP with the AAA+ ClpX 6 unfoldase: allosteric control of a protein machine/ G.L. Hersch, R.E. Burton, D.N. Bolon et al.// *Cell.* – 2005.– V. 121.–P.1017–1027. [DOI:10.1016/j.cell.2005.05.024](https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.05.024)

138. Martin A. Rebuilt AAA+ motors reveal operating principles for ATP-fuelled machines / A. Martin, T.A. Baker, R.T. Sauer/ *Nature*. – 2005. – V.437.–P. 1115–1120. [DOI:10.1038/nature04031](https://doi.org/10.1038/nature04031)
139. ATP binding to PAN or the 26S ATPases causes association with the 20S proteasome, gate opening, and translocation of unfolded proteins/ D.M. Smith, G. Kafri, Y. Chen et al.//*Mol. Cell*.–2005.–V.20.–P.687–698.[DOI:10.1038/nature04031](https://doi.org/10.1038/nature04031)
140. ATP Binding and ATP Hydrolysis Play Distinct Roles in the Function of 26S Proteasome/ C.-Wei Liu, X. Li, D. Thompson et al.// *Molecular Cell*. – 2006. – V. 24 (1). –P. 39–50. [doi.org/10.1016/j.molcel.2006.08.025](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2006.08.025)
141. Picosecond calorimetry: Time-resolved x-ray diffraction studies of liquid CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. / P. Georgiou, J. Vincent, M. Andersson et al.// *J. Chem. Phys.* – 2006. – V. 124. – P. 234507. [DOI: 10.1063/1.2205365](https://doi.org/10.1063/1.2205365)
142. Formation of the stable structural analog of ADP-sensitive phosphoenzyme of Ca<sup>2+</sup>-ATPase with occluded Ca<sup>2+</sup> by beryllium fluoride: Structural changes during phosphorylation and isomerization/ S. Danko, T. Daiho, K. Yamasaki et al.// *J. Biol. Chem.* – 2009. – V. 284. – P. 22722–22735. [DOI: 10.1074/jbc.M109.029702](https://doi.org/10.1074/jbc.M109.029702)
143. The sarcoplasmic Ca<sup>2+</sup>-ATPase: Design of a perfect chemi-osmotic pump/ J. V. Møller, C. Olesen, A.-M. L. Winther et al.// *Q. Rev. Biophys.* – 2010. – V. 43. – P. 501–566. [DOI:10.1017/S003358351000017X](https://doi.org/10.1017/S003358351000017X)
144. OPM database and PPM web server: Resources for positioning of proteins in membranes/ M. A. Lomize, I. D. Pogozheva, H. Joo // *Nucleic Acids Res.* – 2012. – V. 40. – D370–D376 [DOI:10.1093/nar/gkr703](https://doi.org/10.1093/nar/gkr703)
145. CHARMM-GUI Membrane Builder toward realistic biological membrane simulations/ E. L. Wu, X. Cheng, S. Jo et al.// *J. Comput. Chem.* – 2014. – V. – 35–P. 1997–2004. [DOI:10.1002/jcc.23702](https://doi.org/10.1002/jcc.23702)
146. Moller J. V. Preparation of Ca<sup>2+</sup>-ATPase1a Enzyme from Rabbit Sarcoplasmic Reticulum/ J. V. Møller, C. Olesen *Methods Mol. Biol.* – 2016. – V. 1377. –P. 11–17. [DOI:10.1007/978-1-4939-3179-8\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3179-8_3)

147. Dynamics of P-type ATPase transport revealed by single-molecule FRET/ M. Dyla, D. S. Terry, M. Kjaergaard// *Nature*. –2017. – V. 551, 346–351. [DOI:10.1038/nature24296](https://doi.org/10.1038/nature24296)
148. Tracking Ca<sup>2+</sup> ATPase intermediates in real time by x-ray solution scattering/H. Ravishankar, M. N. Pedersen, M. Eklund// *Sci. Adv.* –2020 – V. 6 (21). – P.1– 12. [DOI:10.1126/sciadv.aaz0981](https://doi.org/10.1126/sciadv.aaz0981)
149. Khmelinskii I. Photo-activation of mitochondrial ATP synthesis/ I. Khmelinskii, V. I. Makarov/ Photo-activation of mitochondrial ATP synthesis// *J. of Photochem. and Photobiol. B: Biology*. –2022. – V. 228. –P. 112376. [doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2021.112376](https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2021.112376)
150. How Does Mg<sup>2+</sup> (aq) Interact with ATP(aq)? Biomolecular Structure through the Lens of Liquid-Jet Photoemission Spectroscopy/K. Mudryk, C. Lee, L. Tomaník et al.// *J. Am. Chem. Soc.* – 2024. – V. 146. – P. 16062–16075. [DOI: 10.1021/jacs.4c03174](https://doi.org/10.1021/jacs.4c03174)

## ДОДАТОК

## Публікації здобувача

Статті у періодичних наукових виданнях, проіндексованих у базах даних  
Web of Science Core Collection та/або Scopus:

1. **Lohvyn A.V.** Spectral features of adenosine triphosphate solutions with calix[4]arene C-107/ **A.V. Lohvyn**, O.P. Dmytrenko, M.P. Kulish, T.O. Veklich, M.I. Kaniuk // Applied Nanoscience (Switzerland). –2022. –P.1–7. <https://doi.org/10.1007/s13204-022-02623-2> (Scopus, Q2)
2. **Starzhynska A.** Peculiarities of the Fluorescence Quenching in the ATP – Calix[4]arene C-107 Aqueous Solutions/ **A. Starzhynska**, O. Dmytrenko, M. Kulish, O. Pavlenko, I. Doroshenko, A. Lesiuk, T. Veklich, M. Kaniuk//Ukrainian Journal of Physics. –2024.–V. 69, NO. 2. –P.71–81. <https://doi.org/10.15407/ujpe69.2.71> (Scopus, Q3).
3. **Starzhynska A.V.** Mechanisms of formation of heteroassociates of ATP with  $ag^+$  ions/ **A.V. Starzhynska**, O.P. Dmytrenko, M.P. Kulish, O.L. Pavlenko, I. Doroshenko, A.I. Lesiuk, A.I. Misiura, T.O. Veklich, M.I. Kaniuk // Molecular Crystals and Liquid Crystals.–2024.–V.768, NO. 16. –P.826–839. <https://doi.org/10.1080/15421406.2024.2363079> (Scopus, Q4).
4. **Starzhynska A.V.** Complex Formation in Aqueous Solutions of Adenosine Triphosphate with  $Mg^{2+}$  and  $Ca^{2+}$  Ions/ **A.V. Starzhynska**, O.P. Dmytrenko, M.P. Kulish, O.L. Pavlenko, Lesiuk, A.I. Veklich, M.I. Kaniuk // Nanooptics and Photonics, Nanochemistry and Nanobiotechnology, and Their Applications. Springer Proceeding in Physics. – 2024. – V. 312. –P. 173-186. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-67527-0\\_14](https://doi.org/10.1007/978-3-031-67527-0_14) (Scopus)

### Апробація результатів дисертації:

1. **Lohvyn A.** Electronic and spectral properties of the energy component of ATP ion transport in biomembranes/ **A. Lohvyn, S. Kosterin, T.Veklich, O. Dmytrenko, M. Kulish**// Proceedings of X International Conference “Medical Physics – the Current Status, Problems, the Way of Development. Innovation Technologies”. – 2021. – Київ, Україна. – P. 99-102. <https://conference.rb.knu.ua/en/>
2. 1. **Starzhynska A.** Mechanisms of heteroassociation in an aqueous solution of ATP – Ag<sup>+</sup>/ **A. Starzhynska, O. Dmytrenko, M. Kulish, O. Pavlenko, I. Doroshenko, A. Lesiuk, A. Naumenko, T. Veklich, M. Kaniuk**// Book of abstracts international research and practice conference Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2023). – Lviv: LPNU. (16-19.08.2023). –2023. –P. 399 . <https://nano-conference.iop.kiev.ua/assets/files/nano2023.pdf> .
2. **Starzhynska A.** Complex formation in aqueous solutions of adenosine triphosphate with Mg<sup>2+</sup> and Ca<sup>2+</sup> ion/ **A. Starzhynska, O. Dmytrenko, M. Kulish, O. Pavlenko, A. Lesiuk, T. Veklich, M. Kaniuk**// Book of abstracts international research and practice conference Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2023). – Lviv: LPNU. (16-19.08.2023). – 2023. – P. 400. <https://nano-conference.iop.kiev.ua/assets/files/nano2023.pdf> .
3. **Starzhynska A.** Binding parameters in ATP complexes with curcumin drugs/ **A. Starzhynska, O. Dmytrenko, M. Kulish, O. Pavlenko, I. Doroshenko, A. Lesiuk, A. Misura, A. Naumenko, T. Veklich, M. Kaniuk**// Book of abstracts international research and practice conference Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2023). – Lviv: LPNU. (16-19.08.2023).–2023. –P.402. <https://nanoconference.iop.kiev.ua/assets/files/nano2023.pdf>.