

ГИДРАТАЦИОННЫЕ ЭФФЕКТЫ ПРИ ОБРАЗОВАНИИ КОМПЛЕКСОВ ДНК С НЕКОТОРЫМИ ЛИГАНДАМИ

© 2017 г. В.А. Кашпур, О.В. Хорунжая, Д.А. Песина,
А.В. Шестопалова, В.Я. Малеев

*Институт радиофизики и электроники им. А.Я. Усикова НАН Украины,
61085, Харьков, ул. Академика Проскуры, 12, Украина*

E-mail: darynapesina@gmail.com

Поступила в редакцию 26.11.15 г.

В миллиметровом диапазоне радиоволн изучены диэлектрические свойства водных растворов ряда биологически активных лигандов (потенциальный антиканцероген хлорофиллин; фармакологический препарат кофеин; полиамин путресцин; мутагены профлавин и бромид этидия; производное актиноцина – аналог противоопухолевого антибиотика актиномицина D) и комплексов ДНК с этими веществами. Показано, что комплексообразование сопровождается изменением диэлектрических свойств раствора. Эти изменения при взаимодействии ДНК с первыми тремя соединениями соответствуют уменьшению гидратации (по сравнению с суммарной гидратацией свободных компонентов), а в остальных случаях – ее увеличению. Произведена оценка числа молекул воды, связанных как с лигандом, так и с нуклеотидом ДНК в составе комплекса. Полученные результаты сопоставлены с существующими моделями взаимодействия ДНК с исследовавшимися веществами.

Ключевые слова: ДНК, лиганд, комплексообразование, диэлектрическая проницаемость, гидратация.

В связи с развитием методов направленного синтеза новых лекарственных препаратов представляет интерес изучение молекулярных механизмов действия биологически активных веществ (БАВ) на биологические макромолекулы, в частности на нуклеиновые кислоты [1–3]. Установлено, что медико-биологическое действие многих БАВ обусловлено образованием ими нековалентных комплексов с нуклеиновыми кислотами, приводящим к нарушению процессов транскрипции и репликации [4–6]. Для таких комплексов выделяют три типа связывания БАВ с ДНК: интеркаляцию лигандов в двойную спираль макромолекулы, связывание в малом желобке спирали и электростатическое взаимодействие с сахарофосфатным остовом [7–9]. Поскольку процессы взаимодействия лигандов с ДНК происходят в водной среде, гидратация является важнейшим фактором, влияющим на формирование соответствующих комплексов и определяющим в большой мере степень сродства и специфичность связывания [10–12]. Известно, что термодинамика комплексообразования зависит от состояния воды столь же зна-

чительно, как и от ионной силы, рН и температуры [13]. Поэтому получение сведений о состоянии воды на поверхности ДНК, находящейся в составе комплекса, позволило бы установить закономерности гидратации комплекса ДНК–БАВ в зависимости от типа связывания лиганда. Полученная информация может быть полезна как для обоснования той или иной модели образования комплекса, так и для поиска среди существующих лигандов или для разработки новых БАВ с определенным расположением гидратно-активных сайтов в пространственной структуре молекулы.

Для изучения гидратации биомолекул и ее изменений при комплексообразовании ранее применялись экспериментальные методы волюметрии и осмотического стресса. Однако эти методы часто дают противоречивые результаты [13–16]. Сложным явлением оказалась гидратация и для молекулярного моделирования [17,18]. В настоящее время не ясно даже, какой знак при комплексообразовании имеет изменение количества воды, связанной с биомолекулами: происходит ли освобождение части связанных молекул воды [14] или, наоборот, система ДНК–лиганд более гидратирована, чем компоненты комплекса в свободном состоянии [13].

Сокращения: БАВ – биологически активные вещества, АктII – актиноцил-бис-(3-диметиламиноэтил)амин (производное актиноцина).

В настоящей работе для выявления гидратационных эффектов, сопровождающих формирование комплексов ДНК–БАВ, используются измерения комплексной диэлектрической проницаемости $\epsilon^* = \epsilon' - i\epsilon''$ в области крайне высоких частот, соответствующей диапазону миллиметровых длин волн. Хотя микроволновые измерения в биофизических исследованиях проводятся уже довольно давно [19], с такой целью они ранее не применялись.

Диэлектрический метод основан на том факте, что подвижность молекул связанной воды значительно меньше, чем подвижность молекул свободной воды: в первом случае время релаксации τ диполей воды составляет $\sim 10^{-9}$ – 10^{-10} с (согласно данным работы [20]), а во втором случае – $\sim 10^{-11}$ с [12]. Поэтому диэлектрическая проницаемость биомолекул ϵ_{∞}^B и связанной воды ϵ_{∞}^B в миллиметровом диапазоне обусловлена лишь малыми величинами атомной и электронной поляризации [10]: $\epsilon_{\infty}^B = 4$ [20] и $\epsilon_{\infty}^B = 5,7$ [21]. В то же время в диэлектрическую проницаемость свободной воды дополнительный – гораздо больший – вклад вносит компонент, обусловленный ориентацией диполей воды в крайневысокочастотном поле. Определяя «связанную воду» как такую, у которой частоты дипольной релаксации намного меньше аналогичных частот свободной воды, мы можем с помощью измерений в миллиметровом диапазоне разницы $\Delta\epsilon^*$ между комплексной диэлектрической проницаемостью растворителя и раствора биомолекул охарактеризовать гидратацию растворенных веществ [22], а при использовании некоторых модельных представлений дать и количественную оценку степени гидратации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали препараты фирмы Sigma (США): ДНК из тимуса телят (натриевая соль, молекулярная масса 10^7 Да) и БАВ: хлорофиллин (натриевая соль), кофеин, путресцин (дигидрохлорид), профлавин (гидрохлорид). Изучали также комплексы ДНК с бромидом этидия фирмы Fluka (Швейцария) и аналогом противоопухолевого антибиотика актиномицина D актиноцил-бис-(3-диметиламиноэтил)амином (АктII), синтезированным Е.Н. Глибиным с сотрудниками (Санкт-Петербургский государственный технический университет). В АктII к амидным группам в положениях 1 и 9 феноксазонового хромофора присоединены две диметиламиноэтильные группировки. Струк-

турные формулы лигандов представлены на рис. 1.

Образование комплексов ДНК с БАВ осуществляли многократным добавлением к водному раствору нуклеиновой кислоты небольших объемов (капель) водного раствора лиганда. Ионная сила – 0,08М NaCl (растворы кофеина, путресцина, АктII и комплексов этих БАВ с ДНК) и 0,025М NaCl (растворы профлавина, хлорофиллина, бромида этидия и соответствующих комплексов). Для точного определения концентрации находили содержание влаги в исходных препаратах. Гомогенность всех образцов обеспечивали тщательным размешиванием. Растворы были стабильными, осаджение не наблюдалось.

Поскольку используемые концентрации составляют менее 1%, то в работе применяли разработанный нами ранее дифференциальный метод [23], позволяющий в области крайне высоких частот определять небольшие отличия между комплексными диэлектрическими проницаемостями двух жидкостей. В работе непосредственно измеряются разности $\Delta\alpha$ и $\Delta\beta$ между коэффициентами затухания α и фазовой постоянной β эталонной жидкости (воды) и исследуемого раствора. Из $\Delta\alpha$ и $\Delta\beta$, используя известные электродинамические соотношения, можно вычислить соответствующие разности $\Delta\epsilon'$ и $\Delta\epsilon''$:

$$\epsilon' = \left(\frac{\lambda}{\lambda_{кр}}\right)^2 + \left(\frac{\lambda}{2\pi}\right)^2 [\beta^2 - \alpha^2], \quad (1)$$

$$\epsilon'' = 2\left(\frac{\lambda}{2\pi}\right)^2 \alpha\beta, \quad (2)$$

где $\lambda_{кр}$ – критическая длина волны волновода. Рабочая длина волны λ составляет 7,6 мм (частота 39,5 ГГц), температура T – 23°C. Значения ϵ' и ϵ'' воды при этих λ и T вычислены с помощью экспериментальных данных и интерполяционной схемы, приведенных в обзоре [21]: $\epsilon' = 18,8$; $\epsilon'' = 28,2$.

Измерения проводили многократно, полученные данные усредняли. Погрешности (стандартные, среднеквадратичные отклонения) определения $\Delta\epsilon'$ и $\Delta\epsilon''$ составляют $\pm 0,005$ и $\pm 0,01$ соответственно. Ионная сила в каждом измерении одинакова у растворителя и раствора.

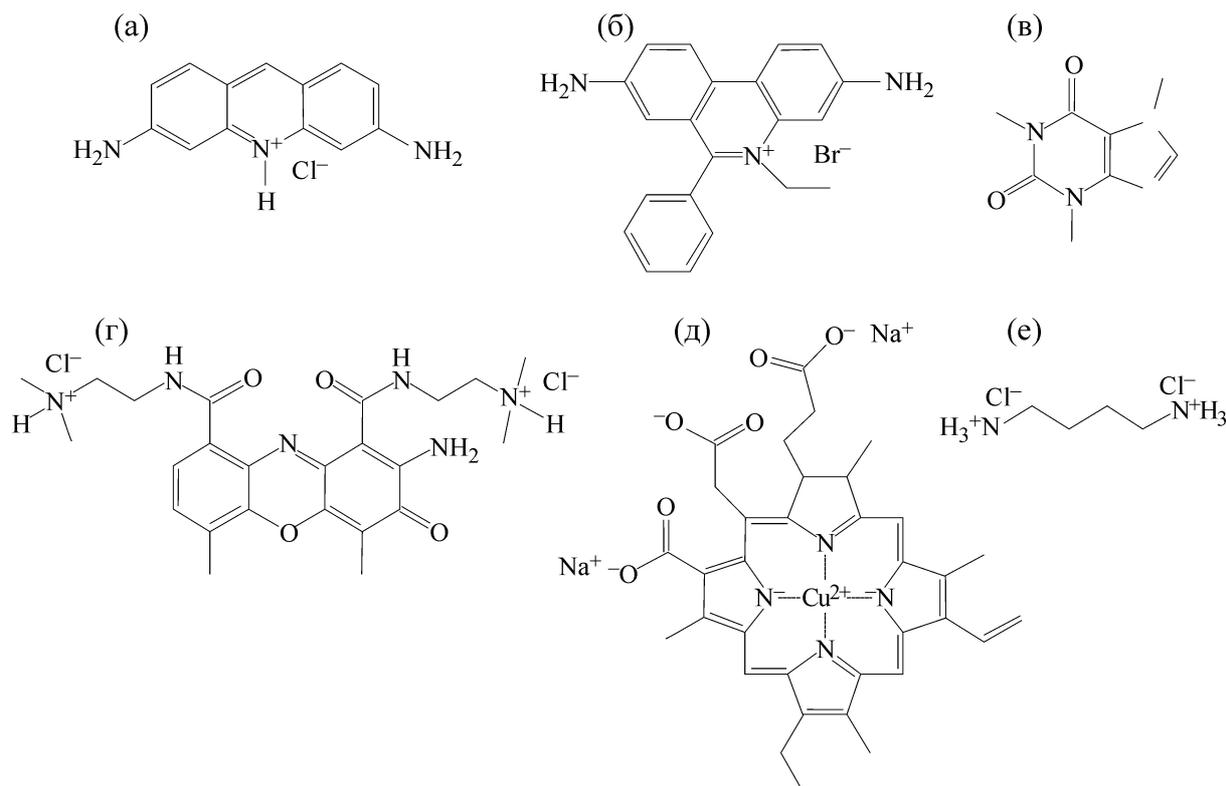


Рис. 1. Структурные формулы лигандов: профлавина гидрохлорида (а), этидия бромид (б), кофеина (в), АктП (г), хлорофиллина (д); путресцина дигидрохлорида (е).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время отсутствуют сведения о комплексной диэлектрической проницаемости водных растворов изучаемых в работе БАВ. Поэтому вначале мы определяли разности $\Delta\epsilon'$ и $\Delta\epsilon''$ между компонентами ϵ^* растворителя и растворов лигандов или ДНК.

Так как миллиметровый диапазон является областью дисперсии дипольной поляризации воды, оба компонента комплексной диэлектрической проницаемости образцов являются функциями двух параметров: величины поляризации и времени ее релаксации τ . Поэтому для изучения гидратации, проявляющейся в результате изменения поляризации молекул воды, целесообразно описывать диэлектрические свойства изучаемых растворов с помощью параметров модели полярных жидкостей Дебая: ϵ_s (низкочастотный предел ϵ' в области дипольной дисперсии, зависит только от величины поляризации) и τ . В модели Дебая, которая с высокой точностью справедлива для воды и для водных растворов биомолекул [24], ϵ_s и τ связаны с ϵ' и ϵ'' соотношениями:

$$\epsilon_s = \epsilon' + \frac{\epsilon''^2}{(\epsilon' - \epsilon_\infty)}, \quad (3)$$

$$\tau = \frac{\lambda}{2\pi} \frac{\epsilon''}{c(\epsilon' - \epsilon_\infty)}, \quad (4)$$

где ϵ_∞ – высокочастотный предел ϵ' в области дисперсии дипольной поляризации. Для воды $\epsilon_s = 79,4$; $\tau = 8,64 \cdot 10^{-12}$ с (для вышеуказанных значений ϵ' и ϵ'').

Поскольку исследуемые растворы являются проводящими, то нами с помощью измерения величины электропроводности σ учитывался дополнительный вклад $\delta\epsilon''$ ($\delta\epsilon'' = \sigma\lambda/c$, где c – скорость света [25]) в опытное значение $\epsilon''_{\text{эксп}}$. Приводимое далее значение $\Delta\epsilon''$ соответствует разности только релаксационных составляющих ϵ'' ($\epsilon''_{\text{эксп}} = \epsilon'' + \delta\epsilon''$), для которых справедлива соотношения Дебая (3) и (4).

В табл. 1 приведены разности $\Delta\epsilon'$, $\Delta\epsilon''$ и $\Delta\epsilon_s$ между соответствующими параметрами водного растворителя (уменьшаемое) и растворов ДНК и БАВ. Концентрации k изучаемых ве-

Таблица 1. Диэлектрические параметры и гидратация растворов ДНК и БАВ

Параметр	ДНК	Хлорофиллин	Кофеин	Путресцин	Профлавин	Бромид этидия	АктII
$k, \%$	0,58	1,9	0,8	3,47	1,94	0,839	0,385
$\Delta\epsilon'$	0,04	0,445	0,12	0,765	0,28	0,20	0,08
$\delta\epsilon''$	0,07	0,13	–	2,82	0,59	0,10	0,32
$\Delta\epsilon''$	0,26	1,026	0,342	3,44	1,302	0,38	0,382
$\tau (10^{-12} \text{ с})$	8,58	8,62	8,61	8,05	8,42	8,65	8,58
$\Delta\epsilon_s$	0,99	2,81	1,03	11,8	4,55	0,91	1,34
$\delta\epsilon_s$	–	0,50	–	6,8	1,42	0,09	0,77
$\Delta\epsilon_s^*$	0,99	2,31	1,03	5,0	3,13	0,82	0,57
$\nu, \text{ см}^3/\text{г}$	0,581	0,899	0,74	0,848	0,855	0,736	0,732
n	16	7,7	3,8	4,7	7,7	5,2	20,4

Таблица 2. Диэлектрические параметры растворов комплексов ДНК–БАВ

Параметр	ДНК– хлорофиллин	ДНК– кофеин	ДНК– путресцин	ДНК– профлавин	ДНК– бромид этидия	ДНК–АктII
$k, \%$	0,704	0,866	0,658	0,636	0,644	0,767
$k_{\text{БАВ}}, \%$	0,128	0,242	0,067	0,048	0,069	0,194
$\Delta\epsilon'$	0,155	0,12	0,215	0,07	0,02	0,13
$\delta\epsilon''$	0,08	0,08	0,09	0,10	0,09	0,22
$\Delta\epsilon''$	0,36	0,40	0,40	0,35	0,27	0,51
$\tau (10^{-12} \text{ с})$	8,63	8,60	8,66	8,58	8,58	8,50
$\Delta\epsilon_s^{\text{ДНК}}$	0,99	1,07	1,01	0,99	0,99	0,98
$\Delta\epsilon_s^{\text{БАВ}}$	0,19	0,31	0,23	0,11	0,07	0,68
$\Delta\epsilon_s^{\text{СУМ}}$	1,18	1,38	1,24	1,10	1,06	1,66
$\Delta\epsilon_s$	0,96	1,26	0,94	1,26	1,09	2,08
$\delta\epsilon_s$	0,03	–	0,02	0,08	0,01	0,4
$\Delta\epsilon_s^{\text{КОМ}}$	0,93	1,26	0,92	1,18	1,08	1,68
n	11	16	12	20	17	29
$n^{\text{СУМ}}$	17	19	17	17	16,5	24

ществ выражены в граммах БАВ или ДНК на грамм раствора.

Погрешность $\Delta\epsilon_s$ составляет 0,07, а погрешность разности между временами τ воды и раствора – $2 \cdot 10^{-14}$ с (рассчитаны из погрешностей $\Delta\alpha$ и $\Delta\beta$). Точность определения значения σ составляет 1%.

В табл. 2 содержатся аналогичные разности между параметрами ϵ' , ϵ'' и ϵ_s водного растворителя и растворов изучаемых комплексов ДНК с БАВ.

Времена τ (в 10^{-12} с), соответствующие дипольной релаксации как в растворах лигандов, так и в растворах комплексов, лишь незначи-

тельно отличаются от времени релаксации растворителя (для воды $\tau = 8,64 \cdot 10^{-12}$ с). Следовательно, при взаимодействии БАВ с ДНК изменения в динамических свойствах воды происходят практически лишь в тонком приповерхностном слое вокруг биомолекул.

Полученные результаты позволяют получить сведения о характере изменения гидратации при комплексообразовании. С этой целью нами с помощью данных табл. 1, а также предположения о пропорциональной зависимости $\Delta\epsilon_s$ от концентрации при используемых малых концентрациях рассчитаны декременты $\Delta\epsilon_s^{\text{ДНК}}$ и $\Delta\epsilon_s^{\text{БАВ}}$ растворов, содержащих ДНК или БАВ

в тех концентрациях, в которых они присутствуют в растворах изучаемых комплексов.

Из табл. 2 видно, что для комплексов $\Delta\epsilon_s \neq \Delta\epsilon_s^{\text{сум}}$, где $\Delta\epsilon_s^{\text{сум}} = \Delta\epsilon_s^{\text{ДНК}} + \Delta\epsilon_s^{\text{БАВ}}$. При этом $\Delta\epsilon_s$ может быть как больше, так и меньше. $\Delta\epsilon_s^{\text{сум}}$. Так, для растворов комплексов ДНК с хлорофиллином, кофеином и путресцином снижение проницаемости ϵ_s (по сравнению с ϵ_s растворителя) меньше, чем следовало ожидать при сложении декрементов $\Delta\epsilon_s^{\text{ДНК}}$ и $\Delta\epsilon_s^{\text{БАВ}}$ на 0,22 (19%), 0,12 (10%) и 0,3 (24%) соответственно. Поскольку в области крайне высоких частот нет полос поглощения ДНК [26], а объемы ДНК и используемых БАВ сохраняются [27], то наблюдаемую значительную дегидратацию следует объяснять увеличением диэлектрической проницаемости растворителя, происходящим вследствие уменьшения количества связанной воды в растворах комплексов. При этом часть связей ДНК–вода и лиганд–вода заменяется, по-видимому, на связи ДНК–лиганд.

С другой стороны, декремент $\Delta\epsilon_s$ растворов комплексов ДНК с профлавином, бромидом этидия и АктII больше – на 0,16 (15%), 0,03 (3%) и 0,42 (25%) соответственно, – чем сумма декрементов $\Delta\epsilon_s^{\text{ДНК}}$ и $\Delta\epsilon_s^{\text{БАВ}}$, что свидетельствует об увеличении количества связанной воды при формировании таких комплексов. Для растворов ДНК–бромид этидия величина превышения находится в пределах ошибки.

Отметим, что профлавин, бромид этидия и АктII взаимодействуют с ДНК в большой степени с помощью интеркаляции – внедрения хромофора лиганда между парами оснований нуклеиновой кислоты. Предполагается, что этот процесс также сопровождается освобождением части молекул воды, связанных с ДНК [14]. Однако с использованием осмометрического метода было обнаружено [13], что в комплексе ДНК–профлавин происходит, наоборот, захват молекул растворителя. Данные диэлектрических измерений согласуются с этим результатом.

Возможно, что возрастание гидратации при комплексообразовании обусловлено эффектами, возникающими вследствие раскручивания и удлинения ДНК при интеркаляции [27]. Следует также принимать во внимание дополнительную гидратацию освобожденного иона натрия [16].

Для количественной оценки обнаруженных гидратационных эффектов нами учитывается тот факт, что в работе используются малые концентрации k биомолекул. Поэтому разность $\Delta\epsilon_s$ (при любой зависимости комплексной диэлектрической проницаемости смеси от прони-

цаемости компонентов [28,29]) является линейной функцией объемов биомолекул и связанной воды:

$$\Delta\epsilon_s = pk[(\epsilon_s - \epsilon_\infty^B)v + (\epsilon_s - \epsilon_\infty^B)\omega], \quad (5)$$

где p – коэффициент, зависящий от формы биомолекулы; v и ω – удельные кажущиеся объемы биомолекул и связанной воды (в см³/г) соответственно. Так как у воды объем и масса численно совпадают, то ω обозначает также число граммов воды, связанной с граммом растворенного вещества.

Значения объема v для ДНК [30] и БАВ указаны в табл. 1. Для бромида этидия значение v сообщено В.А. Букиным, за что авторы ему глубоко благодарны. Кажущиеся объемы остальных лигандов определены с помощью пикнометрических измерений, а объемы комплексов рассчитаны из значений v компонентов и их концентраций в комплексах.

Поскольку точное значение p для молекул сложной формы неизвестно, то в работе используется значение p , которое соответствует гидратации ДНК в 16 молекул воды в расчете на нуклеотид. Число 16 является средним для гидратационных чисел ДНК, определенных разными методами (рентгеноструктурный анализ, инфракрасная спектроскопия, калориметрия): $11 \leq n \leq 20$ [31–33]. Расчет по формуле (5) показывает, что измеренной нами величине $\Delta\epsilon_s$ раствора ДНК соответствует $p = 1,58$ (табл. 1). С другой стороны, значение 1,58 является средним между значениями p , которые вычислены в теории Фрике для смеси диэлектриков при рассмотрении двух предельных идеализированных случаев вкраплений: в виде сферы ($p = 1,50$) и в виде цилиндра ($p = 1,66$) [34]. Учитывая малую величину диапазона возможных p , мы использовали значение $p = 1,58$ также и для оценки гидратации лигандов.

Отметим, что определение гидратации на основе измерений на более низких частотах затруднено наличием в этом диапазоне (но не в диапазоне крайне высоких частот) также областей дисперсии различных видов поляризации, присущих биомолекулам [35].

В состав всех лигандов (кроме кофеина), входят ионы: Na⁺ – в хлорофиллине, Br⁻ в бромиде этидия, а также H⁺ и Cl⁻ (в составе HCl) – в профлавине, путресцине и АктII. Присутствие ионов приводит к понижению ϵ_s образцов на величины $\delta\epsilon_s$. Для определения вкладов только биомолекул $\Delta\epsilon_s^*$ в измеренные значения $\Delta\epsilon_s$ ($\Delta\epsilon_s^* = \Delta\epsilon_s - \delta\epsilon_s$) нами использовались

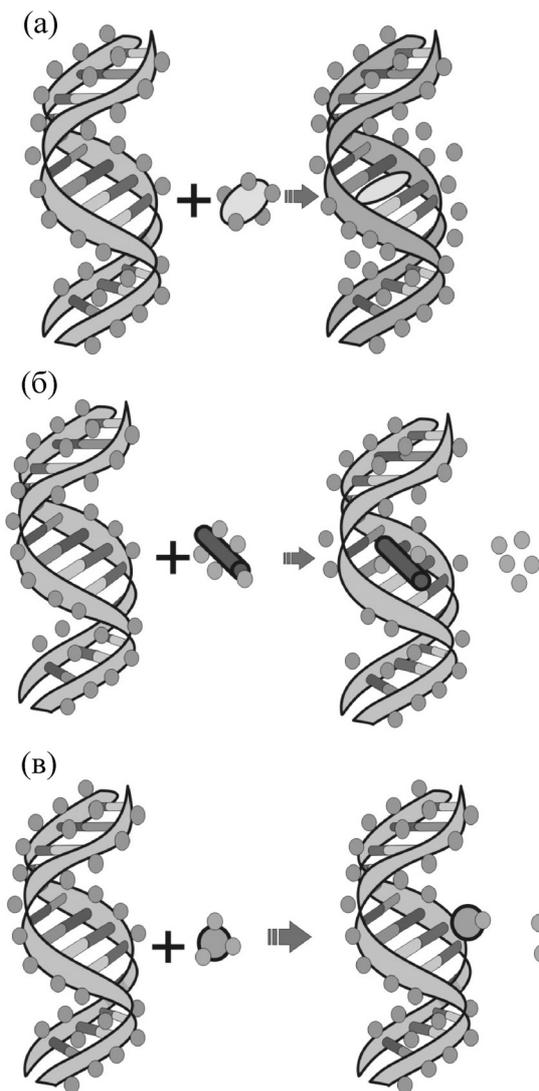


Рис. 2. Схематическое изображение гидратных оболочек ДНК, БАВ и их комплексов в зависимости от типа связывания лиганда: интеркаляция (а), связывание в желобке (б), внешнее электростатическое связывание (в).

данные о концентрациях ионов и их молярных диэлектрических декрементах [19,36].

Из величин гидратации ω и значений молекулярной массы воды и биомолекул нами рассчитаны гидратационные числа n . В табл. 1 числа n соответствуют количеству молекул воды, связанных с одной молекулой БАВ, а в табл. 2 – среднему количеству связанных молекул воды, приходящихся на нуклеотид ДНК, находящейся в том или ином комплексе. Точность определения n , рассчитанная из погрешностей $\Delta\epsilon'$ и $\Delta\epsilon''$, равна одной молекуле воды.

В табл. 2 приведены числа $n^{\text{СУМ}}$ – средние гидратационные числа нуклеотида в комплексе,

которые ожидалось бы при суммировании – с учетом соотношения молярных концентраций компонентов комплекса – гидратационных чисел БАВ и нуклеотидов. Видно, что разность Δn между n и $n^{\text{СУМ}}$ невелика, однако если Δn отнести к молекуле лиганда, то отличие оказывается значительным – одной молекулой БАВ может быть захвачено до нескольких десятков молекул воды.

Так как растворитель в гидратной оболочке тесно связан с ДНК и является по сути элементом структуры нуклеиновой кислоты (рис. 2), то полученные результаты дают информацию о механизмах действия некоторых БАВ на ДНК.

Обнаруженная значительная дегидратация при взаимодействии хлорофиллина с ДНК указывает на сильное взаимодействие этих веществ. Поэтому известная роль хлорофиллина как протектора-антиканцерогена может быть объяснена не только тем обстоятельством, что хлорофиллин в свободном состоянии перехватывает находящиеся в растворе радикалы [37], но и тем, что он, будучи тесно связан с ДНК, непосредственно защищает поверхность нуклеиновой кислоты от воздействия мутагенов.

Уменьшение гидратации при взаимодействии ДНК с путресцином указывает на то, что формирование комплекса происходит не только за счет действия кулоновских сил между катионом путресцином и фосфатными группами нуклеиновой кислоты. Действительно, ион Na^+ , например, при электростатическом взаимодействии с фосфатными и другими сайтами ДНК формирует гидратную структуру, аналогичную той, которая существует вокруг этого иона в чистой воде [38]. Более того, могут образоваться дополнительные – мостиковые – молекулы воды. Поэтому наблюдаемая дегидратация, вероятно, обусловлена (по крайней мере частично) тем, что вместо некоторых связей путресцин–вода и ДНК–вода формируются связи ДНК–путресцин. Большая величина дегидратации является аргументом в пользу существующего предположения о наличии также сильного гидрофобного взаимодействия между компонентами [38].

Меньшая – на три молекулы воды – гидратация комплекса ДНК–кофеин по сравнению с суммарной гидратацией компонентов согласуется с расчетами методом молекулярной динамики, согласно которым три атома кофеина могут образовать водородную связь с каждой из трех аминогрупп оснований ДНК, заменяя тем самым связь аминогрупп с водой, что приводит к стабилизации комплекса [18,39].

Гидратации комплекса ДНК–АктII ($n = 29$) превышает сумму гидратационных чисел ком-

понентов ($n = 23$). Поскольку измеренная нами гидратация лиганда ($n = 22$) гораздо больше, чем гидратация, рассчитанная методом молекулярной динамики ($n = 7$ [18]), то можно полагать, что вследствие кооперативного характера гидратации под действием данного лиганда находится и часть тех молекул растворителя, которые не контактируют непосредственно с гидратно-активными центрами АктП. Такие молекулы обладают пониженной подвижностью и измененными термодинамическими свойствами [40]. Их число возрастает при комплексообразовании, а соответствующее изменение энергии приводит к дополнительной стабилизации комплекса.

ВЫВОДЫ

На основании проведенного исследования можно заключить, что диэлектрические измерения в микроволновом диапазоне являются эффективным методом изучения взаимодействия ДНК с лигандами. Показано, что комплексообразование сопровождается изменениями диэлектрической проницаемости, обусловленными изменениями количества воды, связанной с компонентами комплекса. Обнаруженные эффекты свидетельствуют о том, что состояние растворителя необходимо учитывать для понимания механизмов формирования и стабилизации комплексов ДНК–БАВ. Данные о диэлектрических параметрах и степени гидратации дают аргументы для обоснования той или иной модели комплексообразования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ю. Д. Нечипуренко, Биофизика **59** (1), 12 (2014).
2. R. Palchauthuri and P. J. Hergenrother, *Curr. Opin. Biotechnol.* **18** (6), 497 (2007).
3. L. B. Hendry, V. B. Mahesh, E. D. Bransome Jr., and D. E. Ewing, *Mutat. Res.* **623** (1–2), 53 (2007).
4. М. Д. Фаддеева и Т. Н. Беляева, *Цитология* **33** (10), 3 (1991).
5. L. R. Ferguson and W. A. Denny, *Mutat. Res.* **623** (1–2), 14 (2007).
6. H. H. Li, J. Aubrecht, and A. J. Fornace Jr., *Mutat. Res.* **623**(1–2), 98 (2007).
7. S. U. Rehman, T. Sarwar, M. A. Husain, et al., *Arch. Biochem. Biophys.* **576**, 49 (2015).
8. L. Strekowski and B. Wilson, *Mutat. Res.* **623** (1–2), 3 (2007).
9. Е. Г. Березняк, Е. В. Духопельников, Н. А. Гладковская и др., *Термодинамика комплексообразования лигандов с нуклеиновыми кислотами* (ИНФРА-М, М., 2015).
10. H. Yu, J. Ren, J. B. Chaires, and X. Qu, *J. Med. Chem.* **51**, 5909 (2008).
11. J. R. Neto and M. F. Colombo, *Biopolymers* **53** (1), 46 (2000).
12. Е. Д. Кудряшов, В. А. Букин, Ф. И. Брагинская и Л. А. Марки, *Биофизика* **43** (1), 40 (1998).
13. X. Qu and J. B. Chaires, *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 1 (2001).
14. В. В. Костюков, Н. М. Хомутова и М. П. Евстигнеев, *Биополимеры и клетка* **26** (1), 36 (2010).
15. X. Shi and R. B. J. Macgregor, *Biophys. Chem.* **125**, 471 (2007).
16. F. Han and T. V. Chalikian, *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 7219 (2003).
17. R. L. Mancera, *Current Opinion in Drug Discovery* **10** (3), 275 (2007).
18. А. В. Шестопалова, *Биофизика* **51** (3), 389 (2006).
19. D. Q. M. Craig, *Dielectric Analysis of Pharmaceutical Systems* (Taylor & Francis, London, 1995).
20. S. Mashimo, S. Kuwabara, S. Yagihara, and K. Higasi, *J. Phys. Chem.* **91**, 6337 (1987).
21. W. J. Ellison, K. Lamkaouchi, and J.-M. Moreau, *J. Molec. Liquids* **68**, 171 (1996).
22. В. Я. Малеев, М. А. Семенов и А. И. Гасан, *Биофизика* **38** (5), 768 (1993).
23. V. A. Kashpur, V. Ya. Maleev, and O. V. Khorunzhaya, *Telecommun. & Rad. Eng.* **69** (16), 1473 (2010).
24. U. Kaatz, *Meas. Sci. Technol.* **18**, 967 (2007).
25. А. Р. Хиппель, *Диэлектрики и волны* (Изд-во ИЛ, М., 1960).
26. T. R. Globus, D. L. Woolard, and T. Khromova, *J. Biol. Phys.* **29**, 89 (2003).
27. L. A. Marky, D. W. Kupke, and B. I. Kankia, *Methods Enzymol.* **340**, 149 (2001).
28. E. H. Grant, *Phys. Med. Biol.* **2**, 17 (1957).
29. S. Ray and J. Behari, *Phys. Med. Biol.* **31** (9), 1031 (1986).
30. С. Е. Бреслер, *Введение в молекулярную биологию* (Наука, М., 1970).
31. П. Л. Привалов, *Биофизика* **13** (1), 163 (1968).
32. M. Harmouchi, G. Albiser, and S. Premilat, *Eur. Biophys. J.* **19** (2), 87 (1990).
33. В. Зенгер, *Принципы структурной организации нуклеиновых кислот* (Мир, М., 1987).
34. T. J. Buchanan, G. H. Haggis, J. B. Hasted, and D. G. Robinson, *Proc. Roy. Soc.* **A213** (1114), 379 (1952).
35. E. Ermilova, F. F. Bier, and R. Hölzel, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **16**, 11256 (2014).
36. Я. Ю. Ахадов, *Диэлектрические свойства бинарных растворов* (Наука, М., 1977).
37. R. H. Dashwood, *Int. J. Oncology* **10** (4), 721 (1997).
38. A. A. Ouameur and H.-A. Tajmir-Riahi, *J. Biol. Chem.* **279**, 42041 (2004).
39. Т. Н. Грохлина, Н. А. Полтева, Э. Гонзалез и др., *Биофизика* **50** (5), 818 (2005).
40. B. Schneider, S. L. Ginell, and H. M. Berman, *Biophys. J.* **63**, 1572 (1992).

Hydration Effects at Formation of DNA Complexes with Some Ligands

V.A. Kashpur, O.V. Khorunzhaya, D.A. Pesina, A.V. Shestopalova, and V.Ya. Maleev

*Usikov Institute for Radiophysics and Electronics, National Academy of Sciences of Ukraine,
ul. Akad. Proskury 12, Kharkov, 61085 Ukraine*

In the range of millimeter wavelengths the dielectric properties of aqueous solutions of some biologically active ligands (potential anticarcinogen chlorophyllin; pharmacological drug caffeine; polyamine putrescine; mutagens proflavine and ethidium bromide; actinocin derivative, an analogue of antitumor antibiotic actinomycin D) and DNA complexes with these substances have been studied. It is shown that complex formation is accompanied by the change in dielectric properties of solution. These changes during interaction of DNA with the first three compounds correspond to a decrease in hydration (compared with the total hydration of free components), and in other cases they cause an increase in hydration. The number of water molecules bound with both the ligand and DNA nucleotide in the complex has been estimated. The results are compared with existing models of DNA interaction with the substances studied.

Key words: DNA, ligand, complex formation, dielectric permeability, hydration