

УДК 577.32:5396.199

**ФИЗИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ АКТИНОЦИНА С ДНК**  
**5. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДИМЕРИЗАЦИИ ПРОИЗВОДНЫХ АКТИНОЦИНА С РАЗНОЙ ДЛИНОЙ БОКОВЫХ ЦЕПЕЙ**

**Е.Б. Круглова, В.Я. Малеев, Е.Н. Глибин<sup>1</sup>, А.Н. Веселков<sup>2</sup>**

*Институт радиофизики и электроники НАН Украины, ул. Ак. Проскуры, 12, г. Харьков, 61085.*

<sup>1</sup>*Санкт-Петербургский государственный технический университет, Россия.*

<sup>2</sup>*Севастопольский государственный технический университет, Севастополь, 335053*

*e-mail: kruglova@ire.kharkov.ua*

Поступила в редакцию 4 апреля 2002 г.

Методом спектрофотометрии в видимой и УФ-областях исследована димеризация синтетических феноксазоновых антибиотиков, производных актиноцина, с разной длиной метиленовых цепочек в боковых цепях хромофора в зависимости от ионной силы и температуры растворов. С помощью программы оптимизации спектрофотометрических концентрационных зависимостей получены спектры поглощения мономерной и димерной форм каждого из антибиотиков и константы димеризации при разных температурах. Показано, что агрегация рассмотренных антибиотиков зависит от концентрации соли в растворе и существенно выше в растворах с большей ионной силой. Обнаруженные изменения энтальпии и энтропии димеризации молекул в бессолевом водном растворе зависят от количества метиленовых групп в молекуле антибиотика. Вычисленные величины констант димеризации и молярных коэффициентов экстинкции мономерной и димерной форм антибиотика с двумя метиленовыми группами в боковой цепи были использованы при определении параметров его связывания с кофеином.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** актиноциновые антибиотики, димеризация, термодинамические параметры, кофеин.

При разработке новых антиопухолевых препаратов необходимо понимание механизмов, лежащих в основе их биологической активности, на молекулярном и клеточном уровне [1,2]. Для успешного решения этой проблемы необходимо учитывать индивидуальные характеристики исследуемых биологически активных веществ и, в частности, их способность к самоассоциации в свободном состоянии в различных условиях [3,4]. Способность ряда лекарственных препаратов менять спектр поглощения в видимой и УФ-областях с ростом концентрации связывают с их димеризацией [5-7]. Корректный учет вклада димерных форм таких веществ в спектры поглощения смесей ДНК-лиганд может существенно влиять на определяемые параметры комплексообразования. Известный интеркалятор актиномицин D и его аналоги, актиноциновые антибиотики, являются одними из наиболее важных биологически активных лигандов, способных проявлять сиквенс-специфичность связывания как с одонитевыми, так и двухнитевыми нуклеиновыми кислотами [8-11]. В настоящей работе исследованы спектрофотометрические и термодинамические характеристики актиноциновых антибиотиков с разной длиной боковых цепей с целью их дальнейшего использования при анализе взаимодействий с ДНК и другими биологически активными лигандами.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Антибиотики актиноцинового ряда с разной длиной метиленовых цепочек в заместителях (рис.1) были синтезированы Глибиным и др. [12, 13] и использовались без дополнительной очистки. При определении концентраций всех исследуемых красителей\*) использовали значение молярного коэффициента экстинкции  $\epsilon_{400} = 1,6 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Полученные значения концентраций использовались в дальнейшем для определения молярных коэффициентов экстинкции обоих антибиотиков в УФ-области спектра. Спектрофотометрические измерения проводили в термостатированных кварцевых кюветах с длиной оптического пути 1, 2 и 10 мм на спектрофотометре Specord M40 (Германия). Для более точного определения положения изобестических точек замеры спектров поглощения проводили для растворов, концентрации которых отличались в определенное количество раз, что достигалось путем соответствующего разведения исходных растворов антибиотиков.

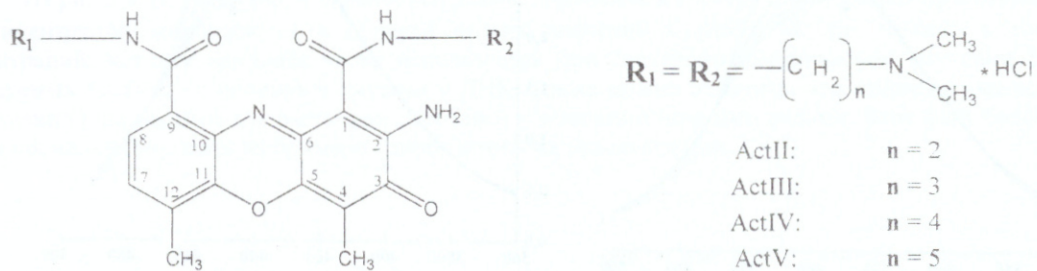


Рис.1. Структурная формула и использованные обозначения для производных актиноцина.

\*) Термин "краситель", наряду с терминами "лиганд" и др., используется нами для обозначения лекарственных ароматических соединений, имеющих интенсивные полосы поглощения в видимой области спектра.

Для численного анализа получаемых спектральных зависимостей в широкой области длин волн и концентраций реагирующих компонентов и определения индивидуальных спектров поглощения и констант связывания в простых и более сложных (ДНК-лиганд) системах химических равновесий, нами была разработана серия программ оптимизации. Так, для расчета равновесия мономер-димер и любых химических равновесий, в которых выполняются законы действующих масс (ЗДМ)  $\lg K = \sum a_i \times [C_i]$ , где  $a_i$  – стехиометрические коэффициенты со знаком (+) для реагирующих компонентов и со знаком (-) для продуктов реакции, а  $[C_i]$  – равновесные концентрации компонентов, был использован оригинальный вариант программы DALIS, предложенный Хартли и др. [14]. Эта программа позволяет вычислять оптимальные значения молярных коэффициентов экстинкции компонентов реакции и константы связывания путем минимизации суммы квадратов отклонений наблюдаемых оптических плотностей от расчетных, вычисляемых по закону Ламберта-Бера с учетом ЗДМ и закона сохранения общих концентраций. В качестве расчетных значений поглощений  $A_{ij}$  для  $i$ -го раствора и  $j$ -ой длины волны для химического равновесия димеризации  $D + D \leftrightarrow D_2$  использовались величины  $A_{ij}$ , вычисляемые по закону Ламберта-Бера как  $A_{ij} = (\epsilon_{jm} \times m_i + \epsilon_{jd} \times d_i)$ , где  $m_i$  и  $d_i$  – равновесные концентрации мономерной и димерной форм лиганда в  $i$ -ом растворе, а  $\epsilon_{jm}$  и  $\epsilon_{jd}$  – молярные коэффициенты экстинкции этих двух форм при  $j$ -ой длине волны. Равновесные концентрации  $m_i$  и  $d_i$  для каждого раствора рассчитывались с учетом закона действующих масс как  $K_D = \frac{m}{d^2}$  и закона сохранения общей концентрации –  $C_{D_i} = m_i + 2d_i$ . Аналогичная программа использовалась при расчете констант комплексообразования рассматриваемых антибиотиков с кофеином с учетом мономер-димерного равновесия, как будет описано ниже.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

Процедура спектрофотометрического определения констант, а затем и термодинамических параметров димеризации, хорошо известна и может отличаться только методиками вычисления молярных коэффициентов экстинкции мономерной ( $\epsilon_m$ ) и димерной ( $\epsilon_d$ ) форм лигандов [5, 15]. С этой целью анализируются спектры поглощения исследуемых лигандов в широкой области концентраций, вычисляются величины кажущихся молярных коэффициентов экстинкции ( $\epsilon$ ), определяемые как частное от деления поглощения раствора при каждой длине волны на его концентрацию, и определяются положения изобестических точек, в которых  $\epsilon_m = \epsilon_d/2$ .

Для рассматриваемого нами ряда синтетических антибиотиков с разной длиной метиленовой цепочки ActII – ActV (рис.1), спектры поглощения антибиотиков заметно меняются с ростом концентрации, что указывает на процессы агрегации в таких системах. Так, при увеличении общей концентрации ( $C_D$ ) для каждого из исследуемых лигандов, в видимой области спектра наблюдается одновременное уменьшение поглощения в области двух максимумов и перераспределение интенсивности максимума поглощения в сторону более коротких длин волн. На рис.2 этот процесс продемонстрирован на примере красителя ActII в условиях водного бессолевого раствора и фосфатного буферного раствора с рН 6.86.

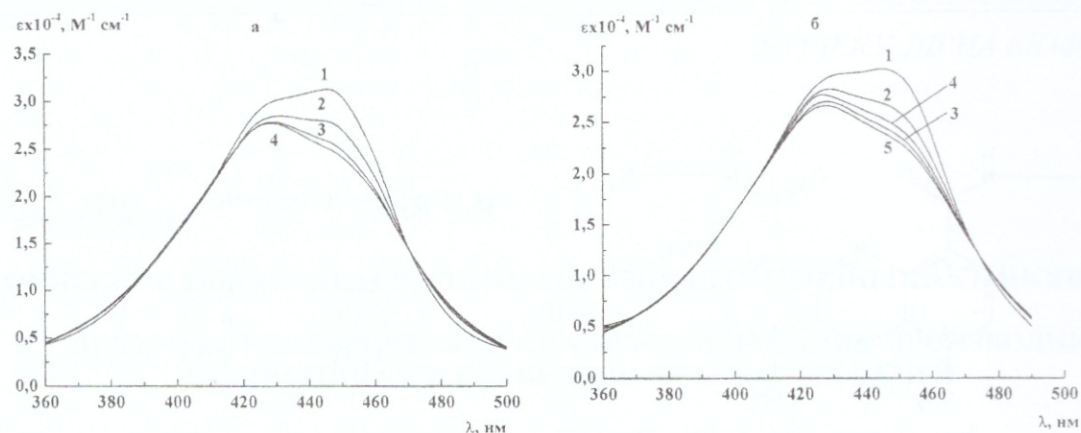


Рис.2. Поглощения растворов антибиотика ActII в зависимости от концентрации  $C_D$  в бессолевом водном растворе: 1 –  $C_D = 1,75 \times 10^{-5}$  М; 2 –  $C_D = 7,68 \times 10^{-5}$  М; 3 –  $C_D = 2,1 \times 10^{-4}$  М; 4 –  $C_D = 3,23 \times 10^{-4}$  М при  $t = 19$  °С (а) и в стандартном фосфатном буферном растворе pH=6.86: 1 –  $C_D = 8,93 \times 10^{-6}$  М; 2 –  $C_D = 1,03 \times 10^{-4}$  М; 3 –  $C_D = 1,91 \times 10^{-4}$  М; 4 –  $C_D = 2,77 \times 10^{-4}$  М; 5 –  $C_D = 3,56 \times 10^{-4}$  М при  $t = 28$  °С (б).

Как видно из рис.2, а, б, в результате таких изменений поглощений появляются сразу две изобестические точки, в коротковолновой и длинноволновой областях спектра. Изобестическая точка в коротковолновой области слабо выражена и представляет собой скорее некоторую область изобестических точек, что свидетельствует о том, что молярные коэффициенты экстинкции мономерной ( $\epsilon_m$ ) и димерной ( $\epsilon_d/2$ ) форм красителя в этой области длин волн практически совпадают. В длинноволновой области изобестическая точка выражена более четко и для ActII равна  $\lambda = 472$  нм в бессолевом растворе (рис.2, а) и  $\lambda = 475$  нм в фосфатном буферном растворе (рис.2, б). Для других антибиотиков рассмотренного ряда ActII – ActV характерны аналогичные спектральные изменения с небольшими различиями в положении изобестических точек. Появление второй изобестической точки в длинноволновой области спектра свидетельствует о том, что спектр димера пересекает спектр мономера в двух (коротковолновой и длинноволновой по отношению к максимуму мономерной полосы) областях. Этот факт подтверждается, как мы увидим ниже, при вычислении индивидуальных спектров мономерной и димерной форм антибиотиков путем оптимизации их спектров поглощения при разных концентрациях по уравнению димеризации  $D + D \leftrightarrow D_2$  с использованием программы DALIS.

Проследить за различиями в характере изменений поглощения в области длинноволнового максимума в зависимости от концентрации для всех исследованных антибиотиков можно по изменению отношения поглощения соответствующего красителя при  $\lambda = 450$  нм к его поглощению в одной из изобестических точек (рис.3, а, б).

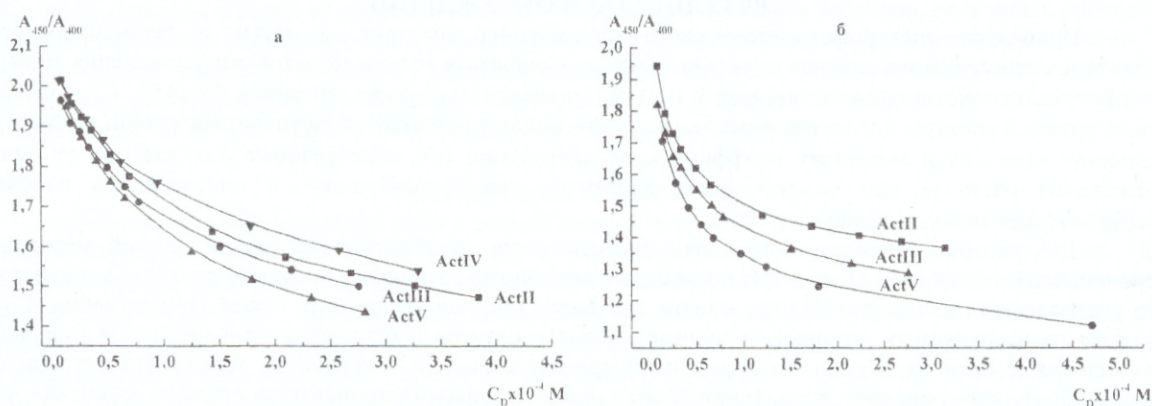


Рис.3. Зависимость отношения поглощения красителей ActII – ActV в области длинноволнового максимума к поглощению в изобестической точке ( $\lambda = 400$  нм) от концентрации красителя в водном бессолевом растворе (а) и в 0.2 М растворе NaCl (б). Температура всех растворов 19 °С, за исключением ActIV ( $T = 27$  °С).

Из рис.3 хорошо видно, что наиболее резкие изменения в спектрах поглощения красителей с ростом их концентраций наблюдаются в области низких значений  $C_D \leq 1 \times 10^{-4} \text{ M}$ , т.е. именно в той области концентраций, которая наиболее часто используется при спектрофотометрическом изучении связывания исследуемых лигандов с полинуклеотидами и ДНК. Также можно отметить, что наблюдаемые зависимости существенно различаются для растворов с низкими и высокими ионными силами. Этот факт более наглядно можно проиллюстрировать на примере одного и того же красителя (рис.4 и 5).

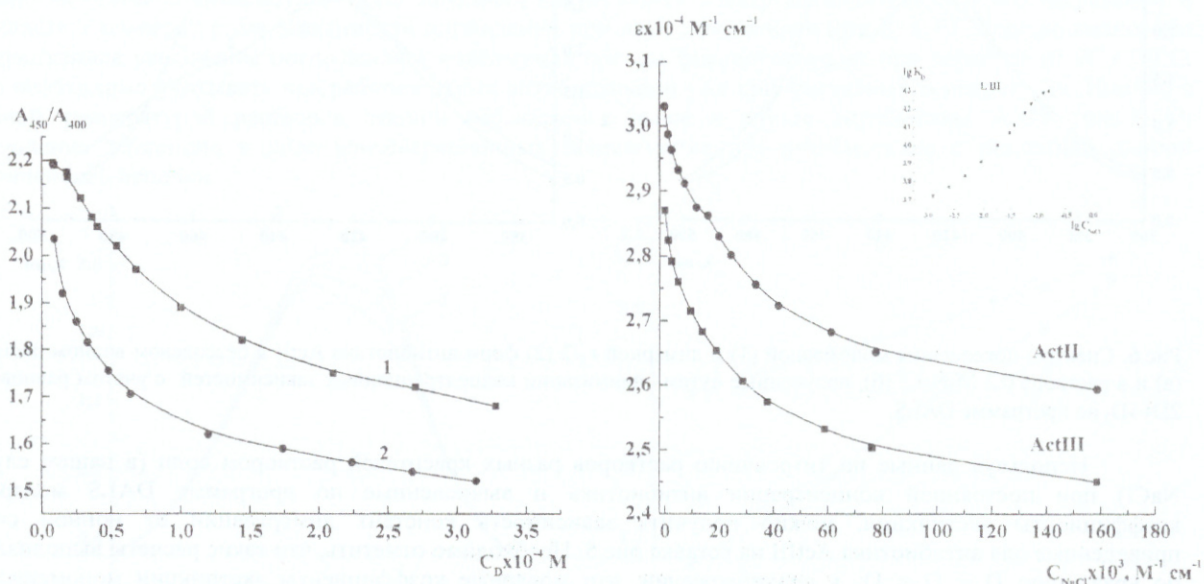


Рис.4. Зависимость отношения поглощения антибиотика ActII в максимуме длинноволновой полосы к поглощению в изобестической точке ( $\lambda = 400 \text{ nm}$ ) от концентрации антибиотика в бессолевом растворе (1) и в растворе 0,2 M NaCl (2) при  $T = 19^\circ \text{C}$ .

Рис.5. Зависимость поглощения антибиотиков ActII ( $C_{\text{ActII}} = 2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$ ) и ActIII ( $C_{\text{ActIII}} = 3.8 \times 10^{-5} \text{ M}$ ) в максимуме длинноволновой полосы от концентрации добавляемой соли. На вставке: Зависимость константы димеризации красителя ActIII от  $\lg C_{\text{NaCl}}$ , рассчитанная с помощью программы DALС при фиксированных молярных коэффициентах экстинкции мономерной и димерной форм антибиотика, полученных для ActIII в 0,2M NaCl.

Анализируя приведенные выше данные можно предположить, что константы димеризации рассмотренных антибиотиков в растворах с низкой ионной силой должны быть меньше, чем в растворах с более высокими ионными силами, что подтверждается вычислениями с использованием программы DALС (Таблица.1). Тенденция к уменьшению отношения поглощений  $A_{450}/A_{400}$  в ряду лигандов ActII-ActV (рис.3), фиксируемая нами для одних и тех же концентраций красителей, вероятнее всего связана с некоторыми различиями в величинах констант димеризации и молярных коэффициентов экстинкции, в основном, димерной формы антибиотика. Также это может быть связано с тем фактом, что при определении концентраций всех антибиотиков мы использовали одно и то же значение коэффициента экстинкции  $\epsilon_{400} = 1.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

При вычислении оптимальных значений молярных коэффициентов экстинкции мономерной и димерной форм и констант димеризации каждого из антибиотиков мы одновременно учитывали спектры поглощения антибиотиков в широкой концентрационной области при 19 длинах волн в интервале  $\lambda = 360 - 500 \text{ nm}$ . Полученные из анализа концентрационных зависимостей значения  $\epsilon_M$  и  $\epsilon_D$  для антибиотика ActII в бессолевом растворе и в 0,2 M растворе NaCl приведены на рис.6, а найденные величины  $K_D$  для всех исследованных антибиотиков - в таблице 1. Из рисунка видно, что спектры поглощения мономерной и димерной форм антибиотика в бессолевом водном растворе и в растворах с более высокими ионными силами слабо различимы. Величины констант димеризации для ActII-ActV с ростом ионной силы меняются более существенно, что подтверждает выводы, сделанные ранее для ароматических лигандов разных типов [6].

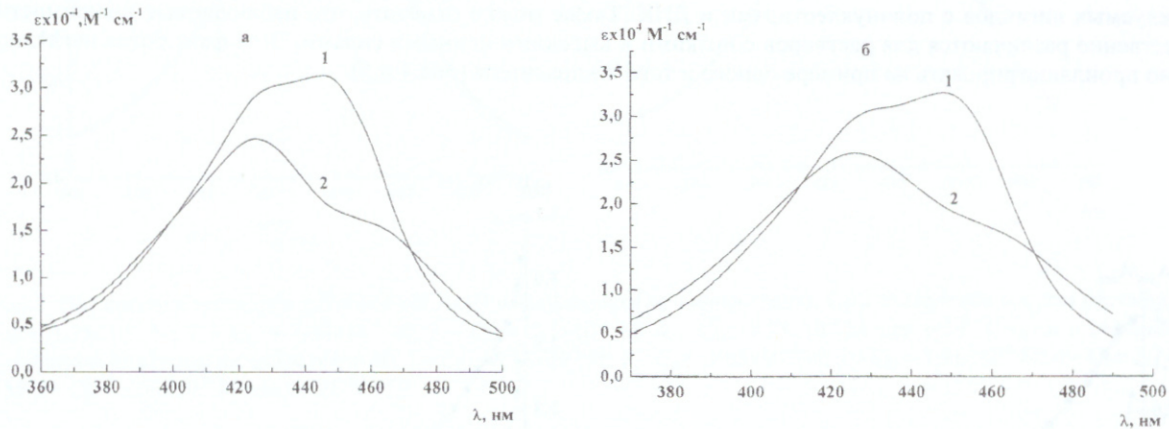


Рис.6. Спектры поглощения мономерной (1) и димерной  $\epsilon_d/2$  (2) форм антибиотика ActII в бессолевом водном растворе (а) и в растворе 0,2 М NaCl (б), полученные путем оптимизации концентрационных зависимостей с учетом равновесия  $2D \leftrightarrow D_2$  по программе DALС.

Используя данные по титрованию растворов разных красителей раствором соли (в нашем случае NaCl) при постоянной концентрации антибиотика и вычисленные по программе DALС молярные коэффициенты экстинкции, можно получить зависимость констант димеризации от ионной силы, приведенные для антибиотика ActIII на вставке рис.5. Необходимо отметить, что такие расчеты выполнялись по уравнению  $D + D = D_2$  в предположении, что молярные коэффициенты экстинкции мономерной и димерной форм антибиотика не меняются с ростом концентрации соли. В общем случае это может быть и неверным, например, тогда, когда ионы  $Cl^-$  принимают непосредственное участие в образовании димерных комплексов. На такую возможность указывают резкие изменения в спектрах поглощения красителей при очень низких концентрациях и некоторые особенности на кривых титрования, в частности, раствора антибиотика ActII раствором антибиотика той же концентрации в соли NaCl (рис.5). Наблюдаемая особенность на кривой титрования этого красителя в области  $(20-30) \times 10^{-2}$  М NaCl неоднократно воспроизводится при разных концентрациях красителя и требует более детального экспериментального и численного изучения.

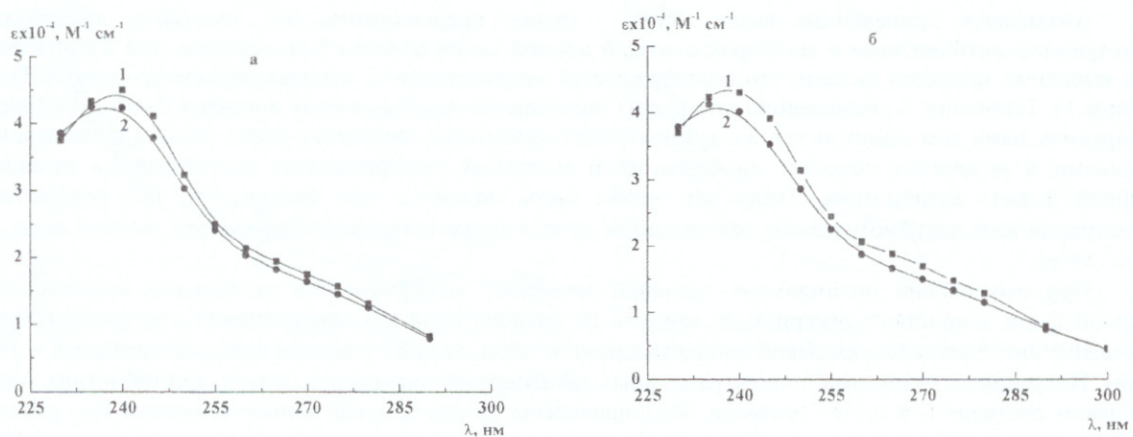


Рис.7. Зависимость поглощений антибиотика ActIII от его концентрации в УФ области спектра в бессолевом водном растворе (а) и в 0,2 М растворе NaCl (б): 1 –  $C_{ActIII} = 8,9 \times 10^{-6}$  М; 2 –  $C_{ActIII} = 2,27 \times 10^{-4}$  М.

В УФ области спектра концентрационные эффекты для антибиотиков ActII-ActV выражены в меньшей степени и проявляются в незначительном падении интенсивности полосы антибиотика в максимуме поглощения с одновременным коротковолновым смещением, как видно из рис.7 на примере антибиотика ActIII.

С ростом температуры растворов в спектрах поглощения антибиотиков ActII – ActV наблюдается непрерывное увеличение поглощения как в области длинноволнового, так и коротковолнового максимумов. Характер перераспределения интенсивностей поглощений в этом случае обратный тому, который наблюдался при росте концентрации, что свидетельствует о температурном разрушении димерных агрегатов. Ниже, на примере антибиотика ActII, показано, как меняется спектр антибиотика при его нагревании и приведены температурные зависимости поглощений при двух длинах волн (рис.8, а, б). Хорошо видно, что существенное увеличение поглощения в максимумах полосы фиксируется уже при переходе от 20 к 30°C, что необходимо учитывать при работе с этими антибиотиками уже при комнатных температурах. Именно с разной температурой растворов связано наблюдаемое выше в случае антибиотика ActIV (рис.3, а), нарушение тенденции в ходе концентрационных зависимостях для антибиотиков с различной длиной метиленовой цепочки.

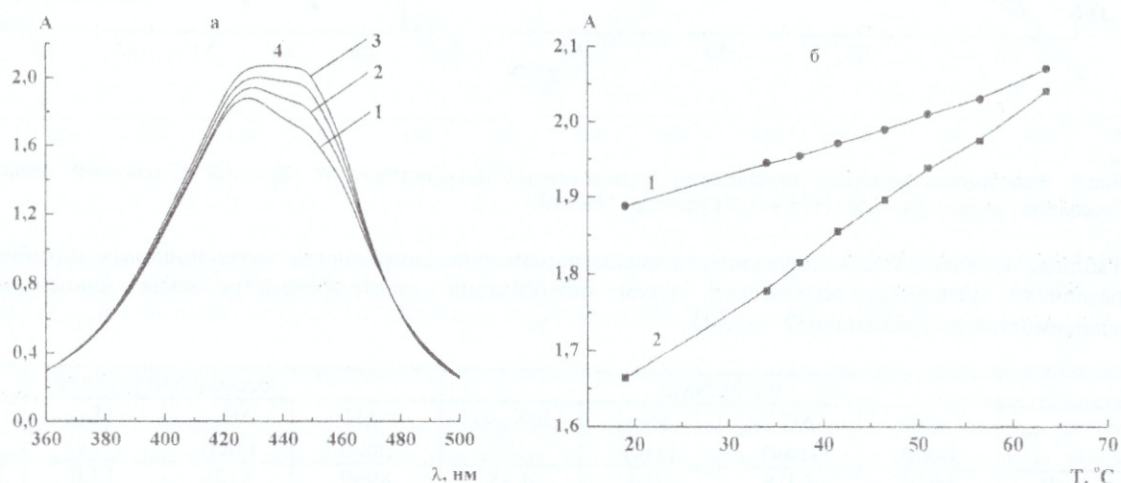


Рис.8. Температурная зависимость спектров поглощения антибиотика ActII в бессолевом водном растворе: 1 – 19 °С; 2 – 37,5 °С; 3 – 51 °С; 4 – 63,5 °С.  $C_{ActII} = 3,42 \times 10^{-4}$  М (а). Зависимость поглощений бессолевого водного раствора антибиотика ActII в  $\lambda = 430$  нм (1) и  $\lambda = 450$  нм (2) от температуры (б). По оси у отложена величина оптической плотности А.

Используя найденные зависимости спектров поглощения рассмотренных антибиотиков от температуры и соответствующие молярные коэффициенты экстинкции мономерной и димерной форм, вычисленных с помощью программы DALIS, были рассчитаны константы димеризации исследованных лигандов при разных температурах. На рис.9 приведены полученные значения констант димеризации в бессолевом водном растворе и в растворе 0,2 М NaCl в виде зависимости логарифмов констант от обратной абсолютной температуры. Полученные зависимости практически линейны для всех исследованных антибиотиков, что позволило в дальнейшем определить термодинамические параметры  $\Delta H$ ,  $\Delta G$  и  $\Delta S$  для мономер-димерного равновесия, используя уравнения Гиббса-Гельмгольца и Вант-Гоффа

$$-RT \ln K = \Delta H - T \Delta S \quad (1)$$

$$d \ln K / dT = -\Delta H / (RT^2) \quad (2)$$

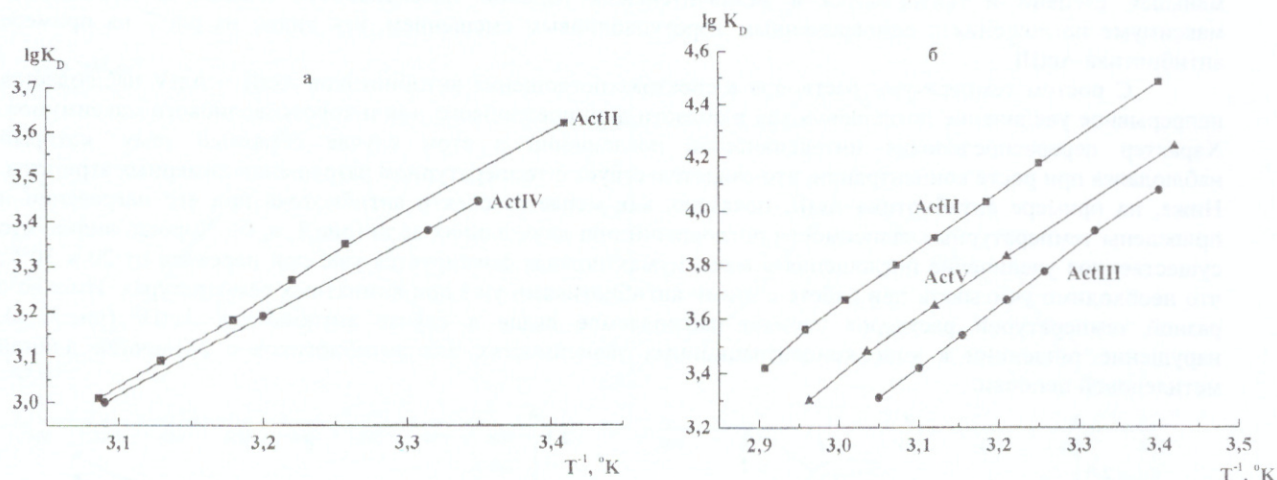


Рис.9. Зависимость констант димеризации исследованных антибиотиков от обратной абсолютной температуры в бессолевом водном растворе (а) и в 0,2М растворе NaCl (б)

Таблица 1. Зависимость термодинамических параметров димеризации актиноциновых антибиотиков в различных условиях, полученных путем оптимизации спектрофотометрических концентрационных зависимостей по уравнению  $D + D \leftrightarrow D_2$

	0,2 М NaCl				бессолевой раствор			
	$-\Delta H$ (кал)	$-\Delta G_{298}$ (кал)	$-\Delta S_{298}$ (э.е.)	$\lg K_{D298}$	$-\Delta H$ (кал)	$-\Delta G_{298}$ (кал)	$-\Delta S_{298}$ (э.е.)	$\lg K_{D298}$
ActII	9019	5918	10,4	4,35	8999	5129	13,0	3,53
ActIII	9152	5359	12,7	3,93	8784	4712	13,7	3,47
ActIV	-	-	-	-	8000	4711	11,0	3,46
ActV	8923	5597	11,2	4,11	8008	4930	10,3	3,61

Рассчитанные значения равновесных констант и термодинамических параметров (табл.1) находятся в хорошем согласии с результатами, полученными методом ЯМР-спектроскопии для агрегации синтетических актиноциновых антибиотиков [16].

На примере анализа связывания рассмотренных антибиотиков с кофеином можно также показать, что мономер-димерное равновесие должно учитываться и в этом случае. Так из рис.10 следует, что спектры поглощения смесей ActII – кофеин существенно различаются при разных концентрациях антибиотика. Тем не менее расчеты констант комплексообразования ActII с кофеином по модели двух равновесий дают мало различающиеся значения констант связывания, приведенные в таблице 2.

Модель, по которой оценивалось связывание кофеина (CAF) с производным актиномицина ActII, может быть представлена, с учетом сравнительно небольших концентраций взаимодействующих молекул, двумя химическими равновесиями:  $D + CAF = D\text{-CAF}$  и  $D + D = D_2$ , где D-CAF – комплекс кофеина с красителем а D и  $D_2$  – обозначения для мономера и димера ActII. Исходя из этой модели, мы полагаем, что кофеин связывается только с мономерной формой антибиотика и не связывается с димерами ActII, смещая равновесие мономер-димер в сторону уменьшения концентрации димерных агрегатов в системе. Это предположение можно проверить путем оптимизации спектров поглощения смесей краситель-кофеин при двух концентрациях (большой и малой) красителя, с использованием программы DALIS.

Для такой модели закон сохранения общей концентрации в любом i-ом растворе записывается как  $C_{CAF}^0 = [CAF]_i + [D\text{-CAF}]_i$ , а антибиотика как  $C_D^0 = [D]_i + 2[D_2]_i + [D\text{-CAF}]_i$ , где [CAF] и [D-CAF] – концентрации свободного и связанного кофеина с антибиотиком. ЗДМ для такой системы химических равновесий запишется в виде двух уравнений:  $K_D = [D]/[D_2]^2$  и  $K_{caf} = [D\text{-CAF}]/([D] \times [CAF])$ . Расчеты

оптимальных значений молярных коэффициентов экстинкции комплекса D-CAF и константы  $K_{caf}$  проводились по программе DALС, как описывалось выше, с учетом уже ранее найденных и фиксируемых значений  $\epsilon_D$ ,  $\epsilon_{D_2}$  и  $K_D$ .

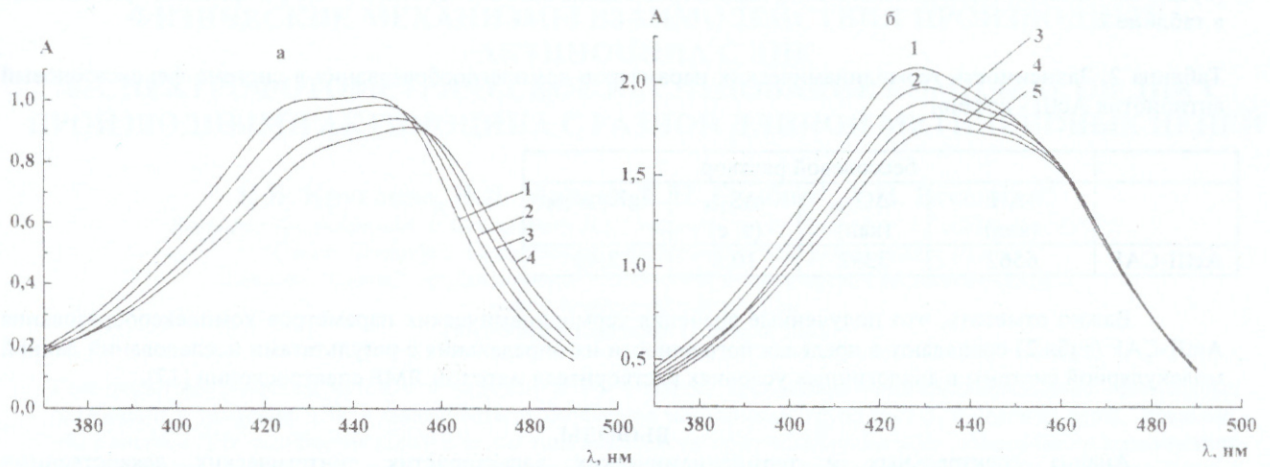


Рис. 10. Поглощение смесей ActII – кофеин в бессолевом водном растворе при  $C_{ActII} = 3,58 \times 10^{-5}$  М (а) и  $C_{ActII} = 3,85 \times 10^{-4}$  М (б) в присутствии кофеина: 1 -  $C_{CAF} = 0$  М; 2 -  $C_{CAF} = 1,34 \times 10^{-3}$  М; 3 -  $C_{CAF} = 5,24 \times 10^{-3}$  М; 4 -  $C_{CAF} = 1,48 \times 10^{-2}$  М (а) и: 1 -  $C_{CAF} = 0$  М; 2 -  $C_{CAF} = 9,19 \times 10^{-4}$  М; 3 -  $C_{CAF} = 1,77 \times 10^{-3}$  М; 4 -  $C_{CAF} = 2,5 \times 10^{-3}$  М; 5 -  $C_{CAF} = 3,3 \times 10^{-3}$  М (б)

На рис.11 приведен спектр поглощения комплекса ActII-CAF, полученный при оптимизации спектральных данных при двух рассмотренных концентрациях красителя, а в таблице 2 – соответствующие величины констант комплексообразования. Небольшие различия в величинах констант указывают на то, что выбранная модель адекватно описывает протекающие в такой системе процессы, а найденные выше константы димеризации и молярные коэффициенты экстинкции для мономерной и димерной форм антибиотика ActII хорошо согласуются с выбранной моделью.

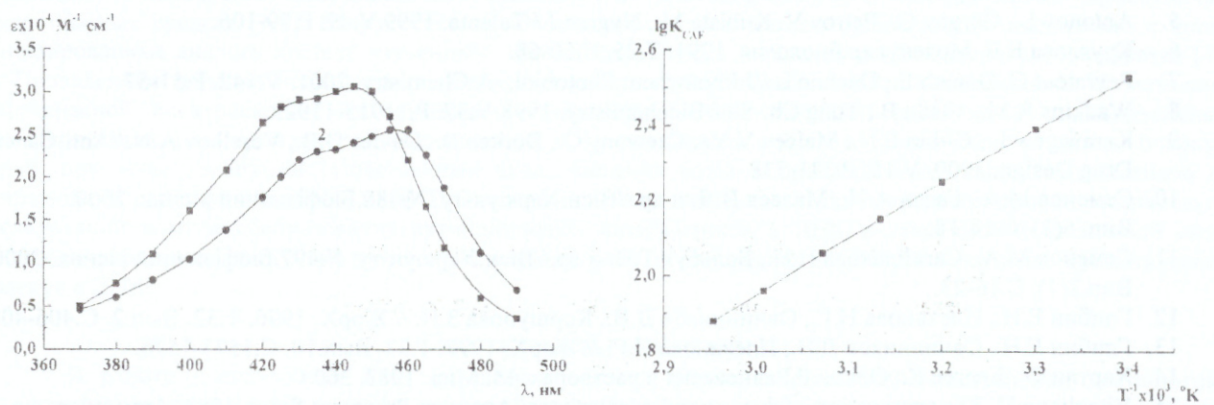


Рис.11. Оптимальные значения молярных коэффициентов экстинкции мономерной формы антибиотика ActII (1) и комплекса ActII-CAF (2), вычисленные по программе DALС с учетом двух равновесий  $D + CAF = D-CAF$  и  $D + D = D_2$ , в бессолевом растворе.

Рис.12. Зависимость логарифма константы комплексообразования  $K_{caf}$  от обратной абсолютной температуры, полученная по программе DALС с учетом температурной зависимости константы димеризации ActII в бессолевом растворе (рис.9. а).



Фиксируя молярные коэффициенты экстинкции комплекса  $\epsilon_{caf}$  (рис.11), димерной и мономерной форм антибиотика, можно определить зависимость константы комплексообразования  $K_{caf}$  от температуры, учитывая температурную зависимость  $K_D$ , определенную для антибиотика ActII ранее. Полученная линейная зависимость  $\lg K_{caf}$  от обратной абсолютной температуры (рис.12) позволяет использовать уравнения (1) и (2) для вычисления термодинамических параметров связывания антибиотика ActII с кофеином, приведенные в таблице 2.

Таблица 2. Зависимость термодинамических параметров комплексообразования в системе феноксазоновый антибиотик ActII - кофеин

	бессолевого раствора			
	$-\Delta H$ (кал)	$-\Delta G_{298}$ (кал)	$-\Delta S_{298}$ (э. е)	$\lg K_{CAF 298}$
ActII-CAF	6562	3392	10,8	2,46

Важно отметить, что полученные значения термодинамических параметров комплексообразования ActII-CAF (табл.2) совпадают в пределах погрешности их определения с результатами исследований данной молекулярной системы в аналогичных условиях растворителя методом ЯМР спектроскопии [17].

#### ВЫВОДЫ.

Анализ спектральных и термодинамических характеристик синтетических лекарственных препаратов актиноцинового ряда показал, что для них весьма существенным фактором является агрегация в растворе, которая зависит от ионной силы и в меньшей степени от числа метиленовых групп в боковой цепи феноксазонового хромофора. Мономер-димерное равновесие существенным образом влияет на спектральные характеристики растворов, что необходимо учитывать при исследовании комплексообразования молекул в системах ДНК-антибиотик.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке по программе INTAS'97, грант 31753.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Graves D.B., Velea L.M. // *Curr. Org. Chem.* 2000. V.4. P.915-929.
- Chaires J.B.//*Curr.Opin.Struct.Biol.* 1998. V.8. P.314-320.
- Prodhomme S., Demaret J.-P., Asseline U., Morin-Allory L., Vigny P.// *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1999. V.53. P.60-69.
- Svanvik N., Nygren J., Westman G., Kubista M.// *J.Am.Chem.Soc.* 2001. V.123. P.803-809.
- Antonov L., Gergov G., Petrov V. Kubista M., Nygren J.//*Talanta.* 1999.V.49. P.99-106.
- Круглова Е.Б. Молекуляр.биология. 1991. Т.25. С.60-68.
- Peyratout C, Donath E., Daehne L.//*J.Photochem.Photobiol. A:Chemistry.* 2001. V.142. P.51-57.
- Wadkins R.M., Vladu B., Tung Ch.-Sh.//*Biochemistry.* 1998.V.37. P.11915-11923.
- Karawajew L., Glibin E.N., Maleev V.Ya. Czewony G., Dorken B., Davies D.B., Veselkov A.N.//*Anti-Cancer Drug Design.* 2000. V.15. P.331-338.
- Семенов М.А., Гасан А.И., Малеев В.Я. и др.//*Вісн.Харк.ун-ту. №488.Біофізичний вісник.* 2000. Вип..6(1). С.14-18.
- Семенов М.А., Сагайдакова Н.Н., Большух Т.В. и др.//*Вісн.Харк.ун-ту. №497.Біофізичний вісник.* 2000. Вип.2(7). С.16-23.
- Глибин Е.Н., Плеханова Н.Г., Овчинников Д.В., Коршунова З.И. // *ЖорХ.* 1996. Т.32. Вып.2. С.406-408.
- Глибин Е.Н., Овчинников Д.В., Плеханова Н.Г. // *ЖорХ.* 1997. Т.33. Вып.10. С.1573-1576.
- Хартли Ф., Бергес К., Оллок Р.Равновесия в растворах. М.:Мир. 1983. 360 С.
- Vitagliano V. The aggregation of dyes on polyelectrolytes//*Aggregat.Processes Solut.* 1983. Amsterdam e.a. P.271-308.
- Веселков Д.А., Лантушенко А.О., Дэвис Д.Б., Веселков А.Н. // *Биоорг. химия.* 2002. (в печати)
- Веселков А.Н., Лантушенко А.О., Веселков Д.А., Дэвис Д.Б. // *Биоорг. химия.* 2002. (в печати)