

Связывание антибиотиков актиноцинового ряда с матрицей полифосфата

Е. Б. Круглова, Т. В. Больбух, Н. А. Гладковская, Ю. Н. Близинок

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

E-mail: glad@ire.kharkov.ua.

Методами УФ и Рамановской спектроскопии исследованы комплексы полифосфата (ПФ) с аналогами актиномицина D, производными актиноцина ActII и ActIII. Все исследования проводили в фосфатном буферном растворе (рН 6,86) с суммарной концентрацией ионов Na^+ и K^+ , равной $7 \cdot 10^{-3}$ М. Для расчетов спектров образующихся комплексов и термодинамических параметров связывания лигандов с ПФ использована программа оптимизации спектрофотометрических концентрационных зависимостей DALSPH. Для двух типов лигандов методом спектрофотометрии получены величины констант и мест связывания, а также спектры мономерно связанных и агрегированных актиноциновых производных. С помощью Рамановской спектроскопии определены основные группы атомов, участвующие в образовании разных типов комплексов. Показано, что при мономерном связывании ActII и ActIII с ПФ аминогруппа актиноцинового производного связывается с Р=О группой матрицы ПФ.

Ключевые слова: спектрофотометрия, Рамановская спектроскопия, полифосфат, актиноциновые производные.

Введение. При связывании лекарственных препаратов с ДНК наряду с образованием комплексов по типу интеркаляции и/или их размещением в большой или малой бороздках ДНК [1, 2] проявляется неспецифический внешний тип связывания [3, 4]. Такие комплексы образуются в области низких концентраций ДНК и приводят к значительным изменениям спектров смесей ДНК—лиганд, что необходимо учитывать при построении изотерм связывания и вычислении термодинамических параметров комплексообразования [5].

Особый интерес при изучении комплексов по внешнему типу связывания представляют исследования взаимодействия лекарственных препаратов с заряженными полимерными матрицами, не содержащими нуклеотидов, например, с матрицей полифосфата (ПФ) [6]. В системах лиганд—полифосфат можно по простым моделям комплексообразования рассчитывать величины констант и мест

связывания, спектральные характеристики всех образующихся комплексов, величину фактора кооперативности ω , характеризующую взаимодействие связанных друг с другом лигандов. Результаты таких исследований могут быть использованы в дальнейшем при анализе связывания тех же лигандов с полинуклеотидными матрицами разного типа и конформаций, как, например, с одонитчатыми рибонуклеиновыми кислотами [7] или молекулами ДНК разного АТ- и GC-состава [8].

В представленной работе методами спектрофотометрии и Рамановской спектроскопии исследовано комплексообразование вновь синтезированных актиноциновых производных ActII и ActIII с ПФ. Получена детальная информация о термодинамических и спектральных параметрах связывания в этих системах и определены группы атомов лигандов, участвующих в образовании каждого типа комплексов.

Материалы и методы. В работе использован ПФ фирмы «Serva» (Германия). Все исследования

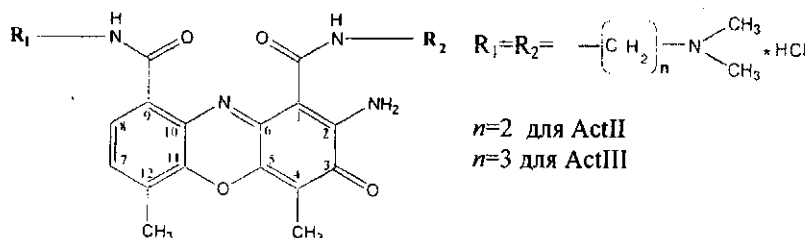


Рис. 1. Структурная формула производных актиноцина ActII и ActIII

проводили в фосфатном буферном растворе ($2,5 \cdot 10^{-3}$ М KH_2PO_4 , $2,5 \cdot 10^{-3}$ М Na_2HPO_4 , pH 6,86) при температуре 23 °С.

Производные актиноцина с двумя (ActII) и тремя (ActIII) метиленовыми группами в боковых цепях хромофора (рис. 1) синтезированы Глибинным и др. [9]. Их применяли без дополнительной очистки. При определении концентрации ActII и ActIII использовали значение молярного коэффициента экстинкции в изобестической точке $\epsilon_{400} = 1,6 \cdot 10^4$ М⁻¹см⁻¹.

Спектры поглощения смесей Act—ПФ при разных значениях P/D (где P/D — отношение концентрации фосфатов (C_p^0) к концентрации лиганда (C_D^0)) измеряли в термостатированных кварцевых кюветах с длиной оптического пути 1, 2 и 10 мм на спектрофотометре «Specord M40» (Германия). Константы димеризации и молярные коэффициенты экстинкции мономерной (ϵ_m) и димерной (ϵ_d) форм производных актиноцина рассчитаны ранее по оригинальной программе оптимизации DALS [11] с учетом мономерно-димерного равновесия [12]. Проведенный нами анализ кривых рН-титрования растворов ActII и ActIII показал, что первый в нейтральном растворе находится в виде двухзарядного (ActII²⁺), а второй — однозарядного катиона (ActIII⁺).

Константы комплексообразования в системах ПФ—лиганд рассчитаны с помощью программы оптимизации DALS, модифицированной заменой простых уравнений закона действующих масс на систему уравнений, описывающих процессы связывания лигандов на полиэлектролитных матрицах (DALSPH) [13—15]. Критерии выбора оптимальной модели связывания и соответствующие им системы уравнений подробно описаны в [11, 16].

Рамановские спектры лигандов ActII, ActIII и их комплексов с ПФ получены с помощью Рамановского спектрометра DILOR Z-16 (Франция) с двойным монохроматором. Градуировку монохроматора Рамановского спектрометра осуществляли по частотам спектра CCl_4 [17]. Источником возбуждающего света был аргоновый лазер фирмы

«Innova-70» (Англия) с $\lambda_{\text{возб}} = 488$ нм, соответствующей длинноволновой полосе собственных электронных переходов лигандов ActII и ActIII [18].

Растворы лигандов ActII и ActIII и их смесей с ПФ помещали в квадратные кварцевые кюветы длиной 10 мм и герметизировали. Для предотвращения фоторазрушения образцов использовали мощность лазерного излучения не более 50 мВт [19]. Данные накопления пяти сканов получены со скоростью сканирования 50 см⁻¹ за 1 мин с постоянной времени 0,5 с и спектральной шириной щели ~ 3 см⁻¹ [20].

Результаты и обсуждение. Спектры поглощения смесей ActII—ПФ в видимой и УФ областях при разных концентрациях ПФ и постоянной концентрации лиганда приведены на рис. 2. Видно, что в зависимости от величины P/D значения кажущихся молярных коэффициентов экстинкции (ϵ) смесей меняются. В видимой области (рис. 2, а) при увеличении P/D от 0 до 3 появляется изобестическая точка при $\lambda = 472$ нм. Поскольку раствор ПФ не поглощает ни в видимой, ни в УФ областях, мы можем наблюдать за изменениями спектральных характеристик свободного и связанного лиганда также в УФ области (рис. 2, б). В этой области спектра изобестическая точка для тех же смесей не проявляется и, так же как в видимой области, с ростом концентрации ПФ наблюдается вначале падение уровня поглощения смесей, а затем его рост.

На рис. 3, а, б, приведены спектры поглощения смесей другого актиноцинового производного ActIII с ПФ в видимой и УФ областях. Отмечено, что особых различий в спектрах поглощения смесей ActII—ПФ и ActIII—ПФ в видимой области не наблюдается. Для смесей ActIII—ПФ в области P/D от 0 до 3 появляется изобестическая точка как в видимой ($\lambda = 470$ нм), так и в области спектра ($\lambda = 267$ нм) (рис. 3, а, б).

При сравнении концентрационных зависимостей спектров поглощения смесей ActII—ПФ и ActIII—ПФ в максимуме поглощения Act (рис. 4) можно предположить, что в области $P/D < 3$ лиганд

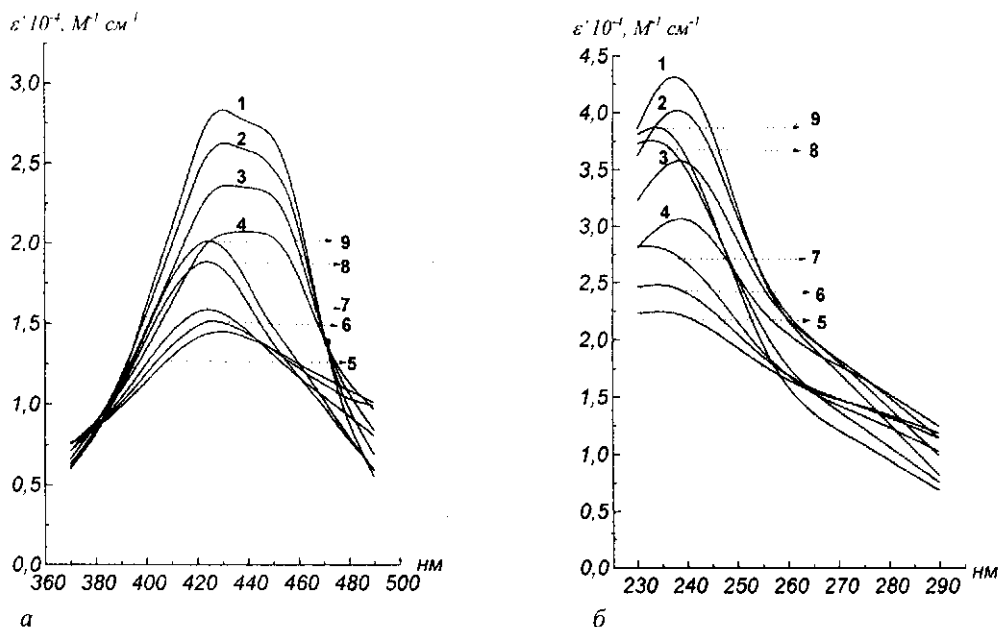


Рис. 2. Спектры поглощения смесей ActII—полифосфат в видимой (а) и ультрафиолетовой (б) областях при постоянной концентрации лиганда $C_{ActII} = 4,69 \cdot 10^{-5}$ М и разных концентрациях полифосфата: $P/D = 0$ (1); 0,63 (2); 1,25 (3); 1,85 (4); 3,6 (5); 4,71 (6); 10 (7); 66 (8); 200 (9)

ды образуют плотно упакованные стопки агрегатов. С ростом концентрации ПФ на матрице образуются агрегаты с менее плотной упаковкой, ϵ которых отличаются от таковых агрегатов в стопках. В области $P/D > 200$ лиганды ActII и ActIII связываются с ПФ, образуя комплексы по мономерному типу. Разный ход кривых 1 и 2 на рис. 4 в промежуточной области P/D ($3 < P/D < 200$) свидетельствует о большей склонности лиганда ActIII к агрегации на ПФ по сравнению с ActII.

Для вычисления параметров связывания (констант связывания K и величин мест связывания n) рассмотренных актиноциновых производных с ПФ мы использовали программу оптимизации спектрофотометрических концентрационных зависимостей DALSPH [21]. Необходимым условием здесь является постоянство значений ϵ для всех по-разному поглощающих типов комплексов во всем диапазоне добавленных концентраций ПФ. Как видно из рис. 2 и 3, при разной степени заполнения матрицы спектры агрегатов в широкой области P/D претерпевают значительные изменения, поэтому мы рассчитывали параметры связывания лигандов с ПФ в трех отдельных областях P/D , отмеченных на рис. 4. В промежуточной области P/D от 3 до 200 значения ϵ непрерывно меняются, поэтому рассчитанные величины оптимальных молярных коэффициентов экстинкции для агрегатов в этой области являются усредненными. Оптимальные значения ActII и ActIII, связанных с ПФ, рассчитаны по программе оптимизации DALSPH при низких и высоких значениях P/D и приведены на рис. 5.

Хорошо видно, что спектр агрегатов в стопке (при высокой степени заполнения лигандом матрицы) (рис. 5, а, в) как для ActII, так и для ActIII существенно отличается от такового при менее плотной упаковке (область высоких P/D) (рис. 5, б, г). Также не похожи спектры стопочных агрегатов на спектр поглощения свободного димера [12] (рис. 5, а, пунктир). Отличия проявляются как в интенсивности, так и в форме спектров.

Вычисленные значения параметров связывания ActII и ActIII с ПФ в трех описанных выше областях P/D приведены в таблице. Из ее данных следует, что параметры связывания ActII и ActIII с ПФ непрерывно меняются в зависимости от P/D . Об этом свидетельствуют разные величины констант и мест связывания. С ростом P/D значения n и K увеличиваются, что мы связываем с разворачиванием лиганда относительно оси ПФ при образовании комплексов по типу мономерного связывания, как показано на вставке м, рис. 4. Величина фактора кооперативности ω , характеризующая взаимодействие связанных лигандов друг с другом, во всех рассмотренных областях P/D для ActIII выше, чем для ActII, что служит доказательством большей склонности к агрегации этого лиганда (рис. 4).

Рамановские спектры актиноциновых производных ActII, ActIII и их комплексов с ПФ записывали в спектральной области $1200\text{--}1700\text{ см}^{-1}$. Более детально проанализированы фрагменты Рамановских спектров, относящиеся к области колебаний группы $C2-N25H_2$ ($\nu \sim 1370\text{--}1440\text{ см}^{-1}$) [22] и к области колебаний карбонильных групп

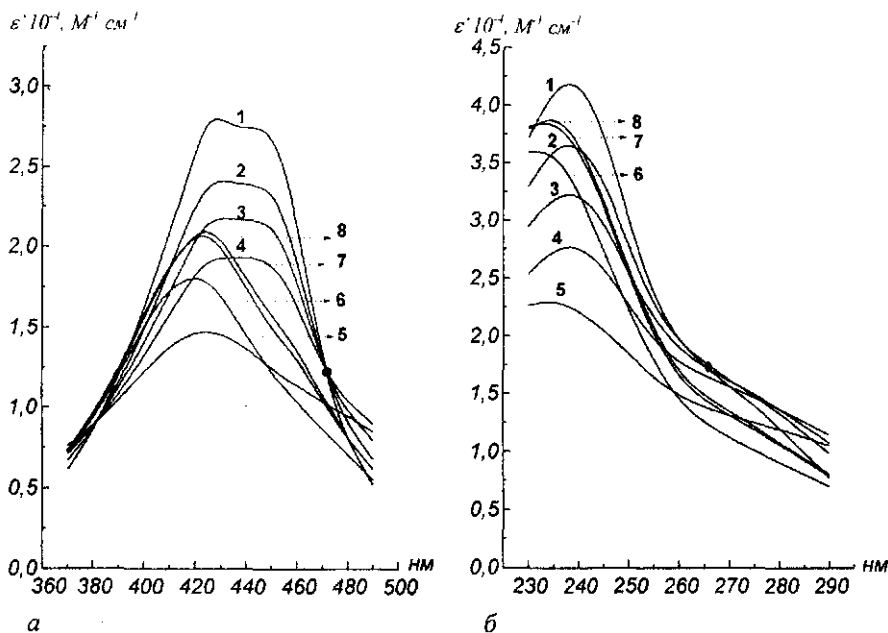


Рис. 3. Спектры поглощения смесей ActIII—полифосфат в видимой (а) и ультрафиолетовой (б) областях при постоянной концентрации лиганда $C_{\text{ActIII}} = 3,99 \cdot 10^{-5}$ М и разных концентрациях полифосфата: $P/D = 0$ (1); 0,61 (2); 1,51 (3); 2,09 (4); 4,86 (5); 34 (6); 254 (7); 814 (8)

ActII и ActIII ($\nu \sim 1610\text{--}1680$ cm^{-1}) (см. рис. 4, вставки). Выбор именно этих областей Рамановских спектров обоснован тем, что, как следует из работы [23], области колебаний группы C2-N25H_2 и карбонильных атомных групп являются наиболее информативными при изучении процессов связывания актиноциновых производных с полиэлектролитными матрицами.

На рис. 6, а, б, приведены Рамановские спектры свободных ActII и ActIII, а также их смесей с ПФ в тех областях P/D , где преобладают разные типы комплексов, исследованные спектрофотометрическим методом.

Как видно из Рамановского спектра, полученного для свободного ActII (рис. 6, а, спектр 1), в области полосы C2-N25H_2 наибольший вклад дают полосы с максимумами при 1418 и 1400 cm^{-1} . Полосу с $\nu \sim 1418$ cm^{-1} мы относим к колебанию группы C2-N25H_2 , связанной внутримолекулярной водородной связью с C3-O28 . Появление полосы с $\nu \sim 1400$ cm^{-1} характеризует образование межмолекулярных водородных связей между лигандами в свободных димерах, в значительном количестве присутствующих в исследуемых растворах.

Для свободного ActIII (рис. 6, б, спектр 1) вклад низкочастотных компонент значительно меньше, чем у ActII, тем не менее, возрастает вклад компоненты с $\nu \sim 1388$ cm^{-1} . Это можно объяснить высокочастотным смещением полосы с $\nu \sim 1378$ cm^{-1} , соответствующей колебанию фенильных колец при стэкинге хромофоров в димерах. Видно, что стэ-

кинг-взаимодействие более характерно для ActIII, чем для ActII. Этот вывод подтверждается и результатами спектрофотометрических исследований процесса димеризации ActII и ActIII (данные не приведены).

При добавлении ПФ в Рамановском спектре ActII (рис. 6, а, спектр 2) также появляется низкочастотная компонента с максимумом 1385 cm^{-1} , характеризующая образование стэкин-агрегатов в стопке лигандов. Одновременно с этим наблюдается высокочастотный сдвиг всех полос колебаний карбонильных групп, свидетельствующий о разрыве внутримолекулярных водородных связей при таком стэкинге. При дальнейшем увеличении P/D до ~ 52 , когда в смесях ActII—ПФ все еще присутствует достаточное количество агрегатов, но менее плотно упакованных, возрастает вклад компоненты C2-N25H_2 с $\nu \sim 1403$ cm^{-1} и уменьшается вклад компоненты с $\nu \sim 1423$ cm^{-1} . Параллельно с этим отмечен обратный низкочастотный сдвиг в области фенильной полосы, что мы связываем с уменьшением стэкинга фенильных колец в таких агрегатах.

При исследовании Рамановских спектров смесей ActIII—ПФ, полученных в промежуточной области P/D ($P/D \sim 107$) (рис. 6, б, спектр 2), наблюдается низкочастотная интенсивная компонента ($\nu \sim 1397$ cm^{-1}), которая также свидетельствует об образовании агрегатов. Тем не менее, в этой области P/D молекулы ActIII в агрегатах связаны друг с другом только межмолекулярными водородными связями. Важно отметить, что Рамановские спек-

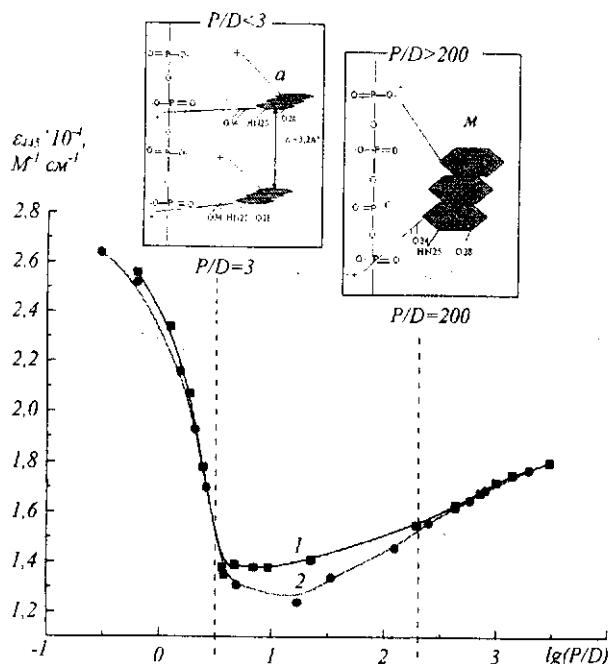


Рис. 4. Зависимости поглощения смесей ActII—полифосфат (ПФ) (1) и ActIII—ПФ (2) от концентрации ПФ. На вставках приведены модели образования разных типов комплексов актиноциновых производных на ПФ, использованные нами при расчетах параметров связывания: *a* — агрегаты на матрице ПФ в стопочных структурах; *M* — мономер на матрице ПФ

ры агрегатов ActIII при средних значениях *P/D* отличаются от таковых для ActII.

Анализ Рамановских спектров смесей ActII—ПФ и ActIII—ПФ в области низких и средних значений *P/D* позволяет различить разные типы агрегатов в этих смесях, что подтверждают данные спектродетометрии.

При очень больших значениях *P/D* (~1411) (рис. 6, *a*, спектр 4) на Рамановском спектре ActII—ПФ фиксируется полоса с максимумом при 1393 см⁻¹, свидетельствующая об образовании межмолекулярных водородных связей группы C2-N25H₂ с содержащими кислород группами полимерной матрицы. При мономерном связывании ActIII с ПФ (*P/D* ~ 3000, спектр 4, рис. 6, *b*), так же как и для ActII, остается значительным вклад компоненты, относящейся к межмолекулярным Н-связям. Поскольку в этой области *P/D* агрегаты практически отсутствуют (рис. 4), то появление таких полос мы связываем с образованием межмолекулярных водородных связей группы C2-N25H₂ с Р=О полифосфата. Одновременно полоса колебания хиноидного карбонила C3=O28 претерпевает небольшой высокочастотный сдвиг, что свидетельст-

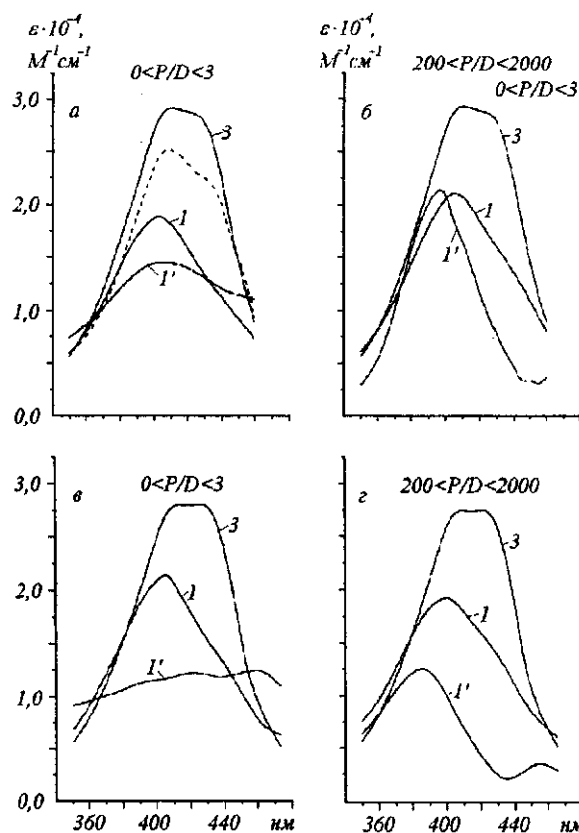


Рис. 5. Оптимальные значения молярных коэффициентов экстинкции разных типов комплексов (1 — связанный мономер; 1' — агрегаты; 3 — свободный лиганд) для смесей ActII—полифосфат (ПФ) (*a*, *б*) и ActIII—ПФ (*в*, *г*), полученные по программе оптимизации DALSPH в разных областях *P/D*. Пунктиром отмечен спектр поглощения свободного димера [12]

вует о разрыве внутримолекулярных водородных связей и ее частичном освобождении.

Таким образом, спектрофотометрические и Рамановские спектроскопические исследования комплексообразования ActII и ActIII с ПФ показали, что в процессе внешнего связывания этих лигандов с ПФ основные спектральные изменения можно объяснить образованием агрегатов разного типа.

Показано, что структура стопочных агрегатов (при очень высокой степени заполнения полимерной матрицы лигандом) значительно отличается от агрегатов, состоящих из двух—трех расположенных рядом адсорбированных молекул (при менее плотном заполнении). Рамановские спектры и спектры поглощения для таких двух групп агрегированных лигандов существенно различаются. Методом Рамановской спектроскопии продемонстрировано, что в стопках агрегатов наряду с образованием межмолекулярных водородных связей между

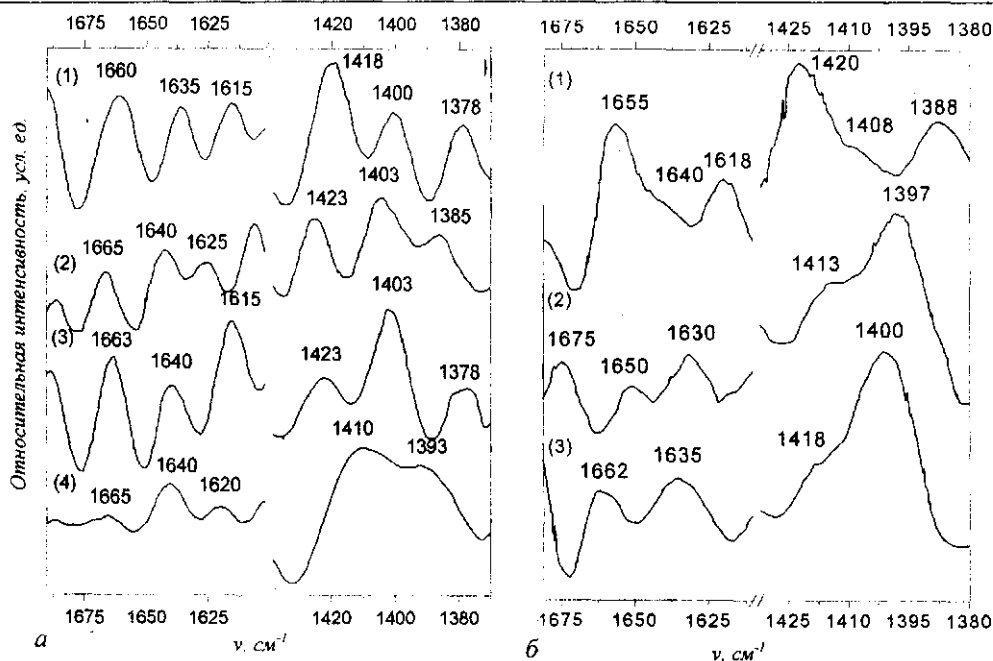


Рис. 6. Рамановские спектры смесей ActII—полифосфат (ПФ) (а) и ActIII—ПФ (б) при разных концентрациях полимера: а — $P/D=0$ (1); 2 (2); 52 (3); 1411 (4); $C_{\text{ActII}} = 6 \cdot 10^{-5}$ М; б — $P/D=0$ (1); 107 (2); 3000 (3); $C_{\text{ActIII}} = 9,8 \cdot 10^{-5}$ М

Параметры связывания лигандов ActII и ActIII с полифосфатом (ПФ) в трех разных областях P/D , вычисленные по программе оптимизации спектрофотометрических кривых титрования DALSPH

P/D	ActII—ПФ			ActIII—ПФ		
	ω	n	K	ω	n	K
0—3	10	2,6	$1,0 \cdot 10^4$	17	2,7	$7,0 \cdot 10^3$
10—80	5	3,4	$1,8 \cdot 10^5$	10	3,5	$2,0 \cdot 10^5$
200—2000	3	4,2	$3,2 \cdot 10^5$	8—10	4,2	$4,5 \cdot 10^5$

группами атомов лигандов-соседей существенный вклад в их стабилизацию вносят стэкинг-взаимодействия фенильных колец хромофоров актиноциновых производных.

Количественный анализ спектрофотометрических кривых титрования позволил получить величины мест мономерного связывания n для ActII и ActIII, которые также зависят от степени заполнения матрицы ПФ и с ростом P/D меняются от $n = 2,6$ до $n = 4,2$. Наблюдаемое увеличение n можно объяснить влиянием агрегатов-соседей на расположение лигандов на матрице и на оптимально возможное (максимальное по величине) место связывания (рис. 4, вставка м). Методом Рамановской спектроскопии также показано, что при мономерном связывании ActII и ActIII с ПФ появляются дополнительные межмолекулярные водородные связи между $C2-N25H_2$ группой актиноциновых производных и $P=O$ группой полифосфата.

Можно предположить, что наблюдаемые особенности связывания ActII и ActIII с ПФ проявля-

ются и в комплексах актиноциновых производных с полинуклеотидными матрицами. Тем не менее, спиральная структура полинуклеотидов препятствует образованию стопок агрегатов, а при мономерном связывании в образовании комплексов могут участвовать не только группы $P=O$ сахара-фосфатного остова, но и содержащие кислород группы рибозы, дезоксирибозы или оснований нуклеиновых кислот. Отметим также, что поскольку величины n могут меняться в зависимости от степени заполнения полимерной матрицы (как это отмечено нами для комплексов ActII и ActIII с ПФ), эти изменения необходимо учитывать в теоретических моделях, описывающих связывание лигандов с полиэлектролитными матрицами.

E. B. Kruglova, T. V. Bolbukh, N. A. Gladkovskaya, Ju. N. Bliznyuk

The binding of actinocin antibiotics to polyphosphate matrix

Summary

The complexes of actinocin derivatives ActII and ActIII (analogues of actinomycin D) with polyphosphate were studied by spectro-

photometry and Raman spectroscopy methods. All studies were carried out in a phosphatic buffer solution (pH 6,86) with total concentration of Na⁺ and K⁺ equal to 7·10⁻³ M. The DALSPH program of optimization of spectrophotometric concentration dependences was used for calculations of complexes spectra and thermodynamic binding parameters. The values of binding constants and binding site sizes, the spectra of monomeric and aggregated complexes of actinocin derivatives for ActII and ActIII were obtained by the analysis of spectrophotometrical titration curves. The basic groups of atoms participating in formation of different types of complexes were determined by the Raman spectroscopy method. The amino group of actinocin derivative was shown to be bound to P=O group of polyphosphate matrix at monomeric binding mode.

Key words: spectrophotometry, Raman spectroscopy, polyphosphate, actinocin derivatives.

Є. Б. Круглова, Т. В. Большух, Н. О. Гладковська,
Ю. М. Близнюк

Зв'язування антибіотиків актиноцинового ряду з матрицею поліфосфату

Резюме

Методами УФ та Раманівської спектроскопії досліджено комплекси поліфосфату (ПФ) з аналогами актиномицину D, похідними актиномицину ActII і ActIII. Всі дослідження виконували у фосфатному буферному розчині (рН 6,86) з сумарною концентрацією іонів Na⁺ і K⁺, яка дорівнює 7·10⁻³ М. Для розрахунків спектрів утворених комплексів та термодинамічних параметрів зв'язування лігандів з ПФ використано програму оптимізації спектrophотометричних концентраційних залежностей DALSPH. Для двох типів лігандів методом спектrophотометрії отримано значення констант і місць зв'язування, а також спектри агрегатів і мономерно зв'язаних похідних актиномицину. За допомогою Раманівської спектроскопії визначено основні групи атомів, які беруть участь в утворенні різних типів комплексів. Показано, що при мономерному зв'язуванні ActII та ActIII з ПФ, аміногрупа актиноцинового похідного зв'язується з групою P=O матриці ПФ.

Ключові слова: спектrophотометрія, Раманівська спектроскопія, поліфосфат, актиноцинові похідні.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Chaires J. B. Drug-DNA interactions // *Curr. Opin. Struct. Biol.*—1998.—8.—P. 314—320.
2. Graves D. E., Velea L. M. Intercalative binding of small molecules to nucleic acids // *Curr. Org. Chem.*—2000.—4.—P. 915—929.
3. Timcheva I., Maximova V. New asymmetric monomethine cyanine dyes for nucleic acid labelling: absorption and fluorescence spectral characteristics // *J. Photochem. and Photobiol. A: Chemistry.*—2000.—130.—P. 7—11.
4. Sovenyhazi K. M., Bolderon J. A., Petty J. T. Spectroscopic studies of the multiple binding modes of a trimethine-bridged cyanine dye with DNA // *Nucl. Acids Res.*—2003.—31.—P. 2561—2569.
5. Karapetian A. T., Vardevanian P. O., Tarzikian J. A., Frank-Kamenetskii M. D. Theory of helix-coil transition on DNA-ligand complexes: The affect of two types of interaction of ligand of the parameters of transition // *J. Biomol. Struct. and Dyn.*—1990.—8.—P. 123—130.
6. Zozulya V. N., Fyodorov V. F., Blagoy Yu. P. Cooperative binding of daunomycin and carminomycin to inorganic polyphosphate // *Stud. Biophys.*—1990.—137.—P. 17—28.
7. Круглова Е. Б., Ермак Е. Л. Конкурентное связывание

двух лигандов: актиноцинового производного и кофеина с полирибозитидиловой кислотой в разных конформационных состояниях // *Вісн. ХНУ. Біофіз. вісн.*—2004.—№ 1—2 (14).—С. 32—37.

8. Круглова Е. Б., Гладковская Н. А. Влияние АТ-, ГЦ-состава на связывание актиноциновых производных с ДНК // *Вісн. ХНУ. Біофіз. вісн.*—2004.—№ 1—2 (14).—С. 43—47.
9. Глибин Е. Н., Овчинников Д. В., Плеханова Н. Г. Синтез аналогов актиномицина // *Журн. орг. химии.*—1997.—33, № 10.—С. 1573—1576.
10. *Anticancer drug desing* / Eds A. N. Veselkov, D. B. Davies.—London: Sevntu press, 2002.—259 p.
11. Hartley F., Burgess C., Alcock R. *Solution equilibria.*—London: Ellis Horwood, 1980.—360 p.
12. Круглова Е. Б., Малеев В. Я., Глибин Е. Н., Веселков А. Н. Спектрофотометрический анализ димеризации производных актиномицина с разной длиной боковых цепей // *Вісн. ХНУ. Біофіз. вісн.*—2002.—№ 1 (10).—С. 12—20.
13. Нечипуренко Ю. Д. Кооперативные эффекты при связывании протяженных лигандов с ДНК. II. Кооперативное взаимодействие между адсорбированными лигандами // *Молекуляр. биология.*—1984.—18.—С. 1066—1080.
14. Заседателев А. С., Гурский Г. В., Волькенштейн М. В. Теория одномерной адсорбции. 1. Адсорбция малых молекул на гомополимерах // *Молекуляр. биология.*—1971.—5.—С. 245—490.
15. McGhee J. D., von Hippel P. H. Fluoretical aspects of DNA-protein interaction: cooperative and non-cooperative binding of large ligands to a one-dimensional homogenous lattice // *J. Mol. Biol.*—1974.—86.—P. 469—489.
16. Круглова Е. Б., Гладковская Н. А., Малеев В. Я. Моделирование процессов связывания актиноциновых антибиотиков с ДНК при разных ионных силах и температурах // *Вісн. ХНУ. Біофіз. вісн.*—2003.—№ 1 (12).—С. 53—63.
17. Граселли Дж., Снейвилли М., Балкин Б. Применение спектроскопии КР в химии.—М.: Мир, 1984.—216 с.
18. Круглова Е. Б., Малеев В. Я., Глибин Е. Н., Веселков А. Н. Спектрофотометрическое исследование комплексов ДНК с производными актиномицина с разной длиной метиленовых цепей // *Вісн. ХНУ, Біофіз. вісн.*—2002.—№ 1 (10).—С. 21—29.
19. Набиев И. Р., Ефремов Р. Г., Чуманов Г. Д. Гигантское комбинационное рассеяние и его применение к изучению биологических молекул // *Успехи физ. наук.*—1988.—154, № 3.—С. 459—496.
20. Ueda T., Ushizava K., Tsuboi M. Depolarization of Raman scattering from some nucleotides of RNA and DNA // *Biopolymers.*—1993.—33.—P. 1791—1802.
21. Kруглова Е. В. Spectrophotometric analysis of the processes of cooperative binding in the polyphosphate-coloured ligand system // *Biophysics.*—1994.—39.—P. 247—255.
22. Smulevich G., Angeloni L., Marzocchi M. Raman excitation profiles of actinomycin D // *Biochim. et Biophys. Acta.*—1980.—610.—P. 384—391.
23. Большух Т. В., Близнюк Ю. Н., Круглова Е. Б., Духопельников Е. В., Семенов М. А., Малеев В. Я. Физические механизмы взаимодействия производных актиномицина с ДНК. 9. Физические свойства комплекса актиноцил-бис-(3-диметиламинопропил)амина — односпиральная полирибозитидиловая кислота по данным Раман спектроскопии и спектrophотометрии // *Вісн. ХНУ. Біофіз. вісн.*—2004.—№ 1—2 (14).—С. 38—42.

УДК 5.77.32:5396.199

Надійшла до редакції 12.10.04