

УДК 577.322

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

СВЯЗАННАЯ ВОДА В КОМПЛЕКСЕ ДНК–ХЛОРОФИЛЛИН*Институт радиофизики и электроники имени А.Я. Усикова Национальной академии наук Украины
ул. Академика Проскуры, 12, Харьков, 61085, Украина, E-mail: darynapesina@gmail.com*

Для изучения взаимодействия ДНК и хлорофиллина (ХЛН) в диапазоне крайне высоких частот измерена комплексная диэлектрическая проницаемость растворов хлорофиллина и комплекса ДНК–хлорофиллин. Это позволило определить степень гидратации и вероятные гидратно-активные центры ХЛН. Обнаружено, что комплексообразование сопровождается изменением диэлектрических свойств раствора нуклеиновой кислоты. Показано, что эти изменения обусловлены уменьшением количества связанной воды на поверхности нуклеиновой кислоты и лиганда. Сделан вывод о том, что комплекс ДНК–ХЛН характеризуется достаточно сильным связыванием нуклеиновой кислоты с хлорофиллином.

Ключевые слова: ДНК, хлорофиллин, комплекс, диэлектрическая проницаемость, гидратация

ВВЕДЕНИЕ

В противоопухолевой защите организма большое значение имеет использование эффективных антиканцерогенов, то есть соединений, которые препятствуют проникновению в клетку канцерогенов или подавляют их действие. Исследования показали, что такого рода вещества содержатся во многих натуральных продуктах питания (фруктах и овощах). Однако содержание естественных антиканцерогенов в потребляемых человеком продуктах, как правило, слишком мало для того, чтобы при рациональном питании проявился тот защитный эффект, который наблюдается у подопытных животных [1]. Важным исключением оказывается хлорофилл, который является существенным компонентом зеленых растительных продуктов, входящих в пищу человека. Хлорофилл и такие его производные, как хлорофиллин (ХЛН), обладают сильным антиоксидантным, анти-мутагенным и антиканцерогенным действием [1, 2]. ХЛН представляет особый интерес, поскольку он не токсичен и, в отличие от хлорофилла, хорошо растворяется в воде, что делает его более удобным объектом изучения.

ХЛН – это натриевая соль хлорофилла, в которой атом магния в центре молекулы хлорофилла заменен на атом меди (или другого металла), а группы COOCH_3 , COOR и C=O – на группы COONa (рис. 1).

Молекулярный механизм защитного действия хлорофиллина в клеточных культурах и в живых организмах неясен. Высказаны предположения, что вследствие связывания ХЛН с мутагенами из организма удаляются свободные радикалы и другие биологически активные вещества [1, 3]. Однако факторы, от воздействия которых ХЛН защищает клетки, разнообразны (афлатоксин, мутагены с гетероциклической структурой, бензопирен, хинолин, оксиданты, радиационная деструкция, тяжелые металлы и другие) и имеют отличающиеся способы активности.

Поэтому возникает вопрос: является ли это взаимодействие единственным возможным механизмом протекторной функции ХЛН? Действительно, известно, что активность порфиринов и их металлопроизводных (к числу последних относится и ХЛН) осуществляется во многом благодаря сильному взаимодействию с ДНК, которая является их главной мишенью [4, 5]. Показано также, что в клетках печени форели, в которых с помощью канцерогена афлатоксина индуцировался рак, применение ХЛН ингибировало развитие опухоли и в то же время значительно уменьшало связывание ДНК с афлатоксином [6]. Поэтому роль ХЛН как протектора может быть в большой мере обусловлена и изменениями в структуре и/или функционировании ДНК.

Для выяснения возможности данного механизма нами в водном растворе изучались

изменения в состоянии воды, находящейся на поверхности ДНК, которые происходят в результате взаимодействия нуклеиновой кислоты с ХЛН. Вода в такой гидратной оболочке тесно связана с ДНК и, по сути, является элементом структуры нуклеиновой кислоты. Термодинамика взаимодействия ДНК с лигандом, происходящего через приповерхностный слой воды, зависит от состояния растворителя столь же значительно, как и от ионной силы, рН, температуры [7–10]. Поэтому изменение величины гидратации ДНК при взаимодействии с ХЛН характеризует степень взаимодействия нуклеиновой кислоты с лигандом. С другой стороны, получение сведений о состоянии воды на поверхности ДНК, находящейся в составе комплекса, важно для конструирования гидратно-активных сайтов при создании биологически активных веществ, включая лекарства [11].

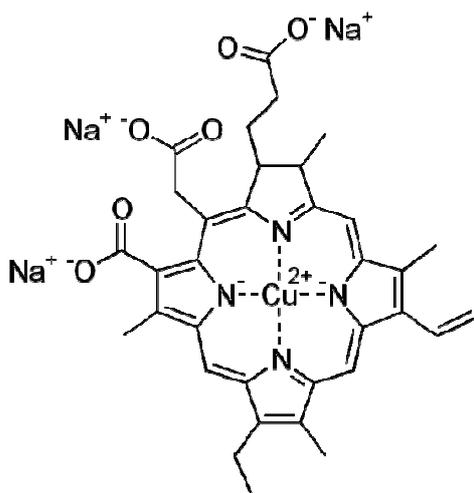


Рис. 1. Структурная формула хлорофиллина ($C_{34}H_{31}CuN_4Na_3O_6$)

Настоящее исследование является продолжением работ, посвященных выяснению состояния растворителя на поверхности компонентов комплексов ДНК–биологически активное вещество [12, 13].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали хлорофиллин производства фирмы Sigma-Aldrich (натриевая соль, молекулярная масса 724.1 Да) и ДНК из тимуса теленка производства фирмы Sigma (натриевая соль, молекулярная масса свыше 10^7 Да). Для точного определения концентрации препаратов в растворах

находили содержание влаги в обоих исходных препаратах.

Образование комплекса ДНК–ХЛН с требуемым Р/D (отношение числа молей фосфатных групп ДНК к числу молей хлорофиллина) осуществляли многократным добавлением к раствору нуклеиновой кислоты небольших объемов (капель) раствора лиганда. Для обеспечения гомогенности тщательно размешивали как исходный раствор ДНК, так и раствор комплекса. Растворы были стабильными, осаждение не наблюдалось.

Гидратацию исследовали методом диэлектротометрии в области крайне высоких частот (КВЧ), то есть в диапазоне миллиметровых длин электромагнитных волн. Измерения комплексной диэлектрической проницаемости $\epsilon^* = \epsilon' - i\epsilon''$ выполняли с помощью ранее описанного оригинального дифференциального метода, позволяющего надежно определять небольшие изменения величины ϵ^* [14, 15]. Рабочая длина волны λ составляла 7.6 мм (частота 39.5 ГГц), температура $T = 23$ °С.

Непосредственно измеряли разности $\Delta\alpha$ и $\Delta\beta$ между коэффициентами затухания α и фазовыми постоянными β растворителя и аналогичными параметрами изучаемого раствора.

Из них, используя известные электродинамические соотношения

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

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

где λ_{cr} – критическая длина волны волновода, находили разности $\Delta\epsilon'$ и $\Delta\epsilon''$.

Необходимые для расчета значения диэлектрических характеристик воды при рабочих λ и T определяли с помощью экспериментальных данных и интерполяционной схемы, приведенных в обзоре Эллисона и др.: $\alpha = 2.75$; $\beta = 5.13$; $\epsilon' = 18.8$; $\epsilon'' = 28.2$ [16]. Здесь и далее значения α и β приведены умноженными на коэффициент $\lambda/2\pi$. Дополнительный вклад в $\Delta\epsilon''$ компонента $\delta\epsilon''$, обусловленный проводимостью растворов, учитывали с помощью измерения величины электропроводности σ : $\delta\epsilon'' = \sigma\lambda/c$, где c – скорость света [17, 18].

Измерения проводили многократно, полученные данные усредняли. Метод обеспечивает измерение $\Delta\alpha$ и $\Delta\beta$ с погрешностями (стандартными, среднеквадратическими отклонениями) не более, чем ± 0.0006 Нп/мм и ± 0.0004 радиан/мм, что соответствует погрешностям нахождения $\Delta\epsilon'$ и $\Delta\epsilon''$ в ± 0.005 и ± 0.01 , соответственно. Точность определения σ составляет 1 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время отсутствуют данные как о гидратации хлорофиллина, так и о диэлектрической проницаемости (ДП) его водных растворов. Поэтому первым этапом работы было определение ДП раствора ХЛН. В таблице приведены измеренные разности между диэлектрическими параметрами воды (уменьшаемое) и водного раствора ХЛН (концентрация $k = 1.9\%$): $\Delta\alpha$, $\Delta\beta$, $\Delta\epsilon'$ и $\Delta\epsilon''$.

Раствор ХЛН обладает заметной электропроводностью, обусловленной наличием в молекуле лиганда ионов натрия. На основании кондуктометрических измерений, определения электропроводности калибровочных растворов NaCl и использования справочных данных о ионной подвижности [19, 20] нами найдено, что раствор ХЛН содержал 0.064 М Na⁺, а вклад $\delta\epsilon''$ в ϵ'' составляет 0.13.

Так как мм диапазон является областью дисперсии дипольной поляризации воды, то и ϵ' , и ϵ'' образцов зависят от двух параметров: величины поляризации и времени релаксации поляризации τ . Поэтому целесообразно описывать диэлектрические свойства образцов с помощью параметров ϵ_s (низкочастотный предел ϵ' в области дисперсии, зависит только от степени поляризации) и τ , используемых в теории полярных жидкостей Дебая, которая с высокой точностью справедлива как для воды, так и для водных растворов биомолекул [21, 22]. Для воды при 23 °С $\epsilon_s = 79.4$. Параметры ϵ_s и τ связаны с ϵ' и ϵ'' соотношениями Дебая:

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

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

где ϵ_∞ – высокочастотный предел ϵ' в области дисперсии.

Наличие ионов натрия в ХЛН не только обуславливает проводимость раствора, но и приводит к понижению значения ϵ_s . Известно [23], что один моль Na⁺ снижает ϵ_s воды на 8. Поэтому вклад ионов $\Delta\epsilon_s$ (Na⁺) в уменьшение ϵ_s для раствора ХЛН составляет 0.51. В таблице (второй столбец) приведены значения декремента $\Delta\epsilon_s$, являющегося разностью параметров ϵ_s воды и раствора, а также аналогичного декремента раствора $\delta\epsilon_s$, но величина которого обусловлена влиянием лишь самого лиганда (без ионов Na⁺).

В третьем и четвертом столбцах приведены результаты диэлектрических измерений раствора ДНК (концентрация $k = 0.576\%$) и раствора комплекса ДНК–хлорофиллин. Концентрация комплекса в весовых процентах $k = 0.704\%$ при R/D = 10 (для ДНК $k = 0.576\%$, для лиганда $k = 0.128\%$), ионная сила – 0.025М NaCl. Величины $\Delta\alpha$, $\Delta\beta$, $\Delta\epsilon'$, $\Delta\epsilon''$, $\Delta\epsilon_s$, $\delta\epsilon_s$ представляют собой разности соответствующих параметров воды (уменьшаемое) и ДНК (третий столбец) или ДНК (уменьшаемое) и раствора комплекса (четвертый столбец). Погрешность величины $\Delta\epsilon_s$, рассчитанная из погрешностей $\Delta\alpha$ и $\Delta\beta$, составляет 0.07, а аналогично рассчитанная погрешность разности между временами релаксации τ воды и раствора – 0.002 с.

Времена релаксации, соответствующие дипольной релаксации в растворах, как в случае лиганда, так и в случае комплекса, отличаются от времени релаксации растворителя лишь незначительно (для воды $\tau = 0.864 \cdot 10^{-11}$ с). В то же время известно, что значения τ для свободной и для связанной воды отличаются в 30 раз [22]. Следовательно, все изменения в динамических свойствах воды происходят лишь в тонком приповерхностном слое вокруг нуклеиновой кислоты.

Из проведенных измерений следует, что формирование комплекса, в котором ДНК присутствует в той же концентрации, что и в растворе только нуклеиновой кислоты, сопровождается уменьшением $\Delta\epsilon_s$ на 0.04. Следовательно, ϵ_s раствора комплекса меньше, чем ϵ_s растворителя на 0.95. В то же время измерения ДП раствора ХЛН указывают на то,

что хлорофиллин в вышеуказанной концентрации 0.128 % должен увеличить декремент раствора ДНК на 0.19. В таком случае ϵ_s раствора комплекса (при аддитивности декремента) должен быть

меньше, чем ϵ_s раствора ДНК, на 1.18. Это ожидаемое значение на 0.23 (при погрешности ϵ_s в 0.07) или на 24 % больше, чем экспериментальная величина.

Таблица. Диэлектрические параметры и гидратация растворов ХЛН и комплекса ДНК–ХЛН

Параметр	Раствор ХЛН	Раствор ДНК	Раствор ДНК–ХЛН
$\Delta\alpha$	0.050	0.0139	0.0006
$\Delta\beta$	0.067	0.0118	0.0127
$\Delta\epsilon'$	0.385	0.048	0.132
$\Delta\epsilon''$	0.85	0.21	0.08
$\delta\epsilon''$	0.13	0.074	0.082
τ (10^{-11} с)	0.862	0.858	0.863
$\Delta\epsilon_s$	2.84	0.99	-0.04
$\Delta\epsilon_s$ (Na^+)	0.51	–	0.03
$\delta\epsilon_s$	2.33	0.99	-0.08
ω	0.21	0.88	0.49

Поскольку в области КВЧ нет полос поглощения ДНК [24], то обнаруженное отличие следует объяснять увеличением при комплексообразовании диэлектрической проницаемости растворителя, что указывает на уменьшение количества связанной воды в результате частичной замены связей ДНК–вода и ХЛН–вода на связи ДНК–ХЛН (рис. 2).

Для количественной оценки дегидратации нами используется модель, согласно которой изучаемый раствор рассматривается как среда, в которой часть объема занята вкраплениями – биомолекулами и молекулами связанной воды, обладающими подвижностями значительно меньшими, чем подвижности молекул свободной воды. Диполи таких молекул, в отличие от диполей молекул свободной воды, не могут поворачиваться в КВЧ поле. Поэтому ДП биомолекул ϵ_∞^B и связанной воды ϵ_∞^W в миллиметровом диапазоне обусловлена лишь малыми величинами атомной и электронной поляризации [23]: $\epsilon_\infty^B = 4$ [22, 24] и $\epsilon_\infty^W = 5.7$ [16]. В то же время ДП воды имеет значительно бóльшую величину, что обусловлено проявлением в ней дополнительной, дипольной, поляризации. Следовательно, определяя «связанную воду» как такую, у которой частоты дипольной релаксации намного меньше аналогичных

частот свободной воды, мы можем с помощью измерений в мм диапазоне разницы $\Delta\epsilon_s$ между величинами ϵ_s воды и раствора оценить величину объема, занятого связанной водой [12, 13].

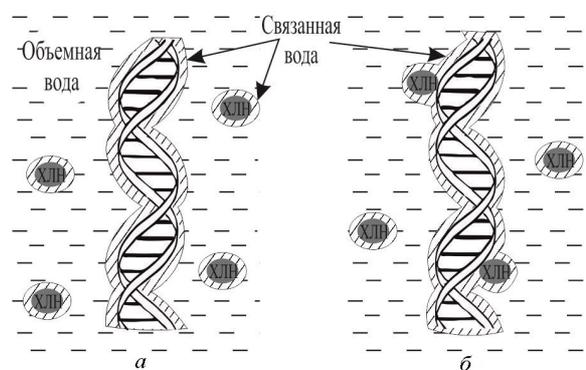


Рис. 2. Схематическое изображение гидратных оболочек ДНК, ХЛН (а) и их комплекса (б)

Так как в работе используются малые концентрации k биомолекул, то для разности $\Delta\epsilon_s$ справедливо линейное приближение:

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

где p – коэффициент пропорциональности, зависящий от формы вкрапления; v и ω – удельные парциальные объемы биомолекул и связанной воды (в $\text{см}^3/\text{г}$), соответственно. Так как у воды объем и масса численно совпадают,

то ω обозначает также число граммов воды, связанной с одним граммом растворенного вещества. Для хлорофиллина $\nu = 0.899 \text{ см}^3/\text{г}$ (определено нами с помощью пикнометрических измерений), для ДНК – $0.581 \text{ см}^3/\text{г}$ [25]. Для ρ используется значение 1.58, что соответствует числу гидратации n в 16 молекул воды на нуклеотид ДНК. Число 16 представляет собой среднее для величины гидратации ДНК, определенной разными методами (рентгеноструктурный анализ, ИК спектроскопия и калориметрия): $11 \leq n \leq 20$ [26–28]. С другой стороны, величина 1.58 является средней между значениями ρ , которые вычислены в теории смеси диэлектриков при рассмотрении двух предельных идеализированных случаев вкраплений: в виде сферы ($\rho = 1.50$) и в виде цилиндра ($\rho = 1.66$) [29].

Из расчета по соотношению (5) следует, что гидратации ω хлорофиллина составляет 0.21 г воды на 1 г лиганда. Учитывая, что молекулярная масса ХЛН равна 655 Да (без атомов натрия, гидратация которых уже учтена), такая величина соответствует 7–8 молекулам связанной воды на молекулу лиганда. Точность $\Delta\epsilon_s$, рассчитанная из погрешностей $\Delta\alpha$ и $\Delta\beta$, равна 0.07, что соответствует погрешности определения числа n в одну молекулу.

Так как группы СН и СН_2 , содержащиеся в ХЛН, не образуют достаточно сильных водородных связей [30] и не заряжены, то они не влияют на структуру воды. Единственными сайтами, связывающими молекулы растворителя, могут быть четыре атома азота и три группы С=О . Поскольку число гидратации ХЛН соответствует количеству его гидратно-активных центров, то можно полагать, что каждый из них образует одну водородную связь с молекулой воды. Этот вывод коррелирует с некоторыми расчетными и экспериментальными оценками (сделанными при анализе объемных эффектов, вызванных установлением водородной связи), согласно которым между каждым указанным сайтом и молекулами воды образуется одна водородная связь [31–33].

Для комплекса ДНК–ХЛН аналогичный расчет показывает, что степень гидратации ω составляет 0.49 г воды на 1 г комплекса. Так как молекулярная масса нуклеотида в среднем около 330 Да, а соотношение масс ДНК и ХЛН

в работе равно 4.9, то очевидно, что в растворе комплекса ДНК–ХЛН с каждым нуклеотидом связано в среднем 11 молекул воды. Таким образом, согласно диэлектрическим измерениям, комплексообразование сопровождается значительным (~30 %) освобождением тех молекул воды, которые были тесно связаны с ДНК в растворе, содержащем только нуклеиновую кислоту (рис. 3). Соответствующее изменение энергии должно приводить к дополнительной стабилизации.

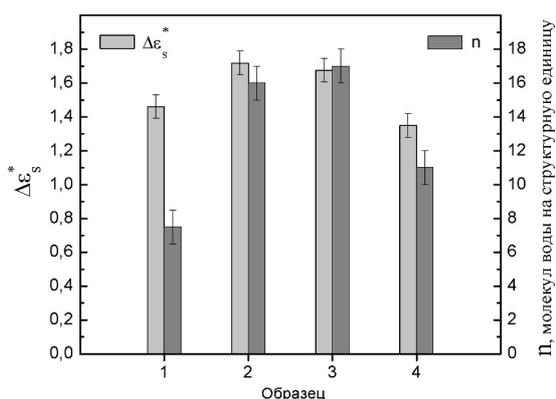


Рис. 3. Декремент $\Delta\epsilon_s^*$ (разность между величинами ϵ_s растворителя и раствора в пересчете на концентрацию в 1 %) и число гидратации образцов n : 1 – ХЛН; 2 – ДНК; 3 – ожидаемое значение $\Delta\epsilon_s^*$ и n для комплекса ДНК–ХЛН (при аддитивности декремента и учете концентрации компонентов комплекса); 4 – комплекс ДНК–ХЛН

В настоящее время нет ясности в вопросе о том, как хлорофиллин взаимодействует с ДНК. Петрак и др., изучавшие спектры поглощения (видимая область) и спектры флуоресценции водных растворов смесей ДНК–интеркалятор–хлорофиллин, не обнаружили таких спектральных изменений, которые указывали бы на заметное взаимодействие между ДНК и хлорофиллином [3]. В то же время Таджмир-Риахи и др. [6], исследуя растворы комплекса ДНК–ХЛН методом инфракрасной Фурье-спектроскопии, пришли к выводу, что ХЛН с помощью интеркаляции связывается с ДНК в районах пар G-C и A-T . Взаимодействие проявляется в сдвигах и изменениях интенсивности полос колебаний, относящихся к гуанину, аденину, тимину и группе PO_2 сахаро-фосфатного остова ДНК. Однако хлорофиллин оказывается слабым интеркалятором, так как константа связывания комплекса

ДНК–ХЛН существенно – на два порядка – меньше, чем константы связывания классических интеркаляторов (бромид этидия, акридиновый оранжевый и т. п.).

Ранее, также на основании диэлектрических измерений, мы нашли, что при образовании комплексов между ДНК и рядом интеркаляторов (бромид этидия, профлавин, иодид пропиция) происходит увеличение гидратации [12, 13]. С другой стороны, при связывании с ДНК некоторых лигандов, которые не интеркалируют (кофеин, путресцин), наблюдается дегидратация [13]. Поэтому, если считать, что ХЛН является интеркалятором, то при образовании комплекса с ДНК следовало бы ожидать увеличения количества связанной воды. Однако обнаруженная в настоящей работе дегидратация указывает на то, что взаимодействие ДНК с ХЛН отличается от взаимодействия ДНК с вышеуказанными интеркаляторами. Повидимому, не только интеркаляция, но и другие процессы играют важную роль в термодинамике взаимодействия нуклеиновой кислоты с хлорофиллином. Так, большую роль может иметь вышеупомянутое взаимодействие лиганда с группами PO_2 в ДНК, что

свидетельствует о присутствии в комплексе и внешнего связывания [6]. Кроме того, обнаруженная дегидратация подтверждает предположение Таджмира-Риахи и др. (в той же статье) о том, что в ДНК в составе комплекса ДНК–ХЛН происходит частичный переход ДНК из В-формы в А-форму. Действительно, известно, что нуклеотид в А-форме обладает существенно меньшей степенью гидратации, чем в В-форме (на шесть молекул меньше по данным Умехара и др. [34]). Поэтому такой переход должен способствовать дегидратации комплекса.

Полученные с помощью диэлектрических измерений данные предоставляют аргументы для выбора модели комплекса ДНК–ХЛН. Обнаруженное нами значительное уменьшение количества связанной воды, происходящее при формировании комплекса, указывает на достаточно сильное взаимодействие между компонентами комплекса и согласуется с результатами ИК спектроскопического исследования [6]. Поэтому имеются основания полагать, что одним из возможных механизмов протекторного действия ХЛН является его взаимодействие с нуклеиновой кислотой.

Зв'язана вода в комплексі ДНК-хлорофілін

В.А. Кашпур, Д.О. Песіна, О.В. Хорунжа, В.Я. Малєєв, А.В. Шестопалова

*Інститут радіофізики та електроніки імені О.Я. Усикова Національної академії наук України
вул. Академіка Проскури, 12, Харків, 61085, Україна, darynapesina@gmail.com*

Для вивчення взаємодії ДНК і хлорофіліну (ХЛН) в діапазоні надзвичайно високих частот виміряна комплексна діелектрична проникність розчинів хлорофіліну та комплекса ДНК–хлорофілін. З отриманих величин визначені ступінь гідратації та ймовірні гідратно-активні центри ХЛН. Виявлено, що процес утворення комплекса супроводжується зміною діелектричних властивостей розчину ДНК. Показано, що ці зміни обумовлені зменшенням кількості зв'язаної води на поверхні нуклеїнової кислоти і ліганда. Зроблено висновок про те, що комплекс ДНК – ХЛН характеризується досить сильним зв'язуванням нуклеїнової кислоти з хлорофіліном.

Ключові слова: ДНК, хлорофілін, комплекс, діелектрична проникність, гідратація

Bound water in DNA-chlorophyllin complex

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

A.Ya. Usikov Institute for Radiophysics and Electronics of National Academy of Sciences of Ukraine
12 Academician Proskury Str., Kharkiv, 61085, Ukraine, darynapesina@gmail.com

For studying the interaction between DNA and chlorophyllin (CHLN), the complex dielectric permittivity in the range of extremely high frequencies has been measured for solutions of chlorophyllin and DNA–chlorophyllin complex. From the values obtained the degree of hydration and the probable hydration centers have been determined for CHLN. It has been also found that formation of the complex is accompanied by changes in dielectric parameters of DNA solution. It has been shown that these changes are caused by some decrease in the bound water amount on the surfaces of nucleic acid and ligand. From the analysis of the effects revealed, it has been concluded that the DNA–CHLN complex is characterized by a sufficiently strong binding between nucleic acid and chlorophyllin.

Keywords: DNA, chlorophyllin, complex, dielectric permittivity, hydration

ЛИТЕРАТУРА

1. Dashwood R.H. Chlorophylls as anticarcinogens (Review) // *Int. J. Oncol.* – 1997. – V. 10, N 4. – P. 721–727.
2. Vesenick D.C., De Paula N.A., Niwa A.M., Mantovani M.S. Evaluation of the effects of chlorophyllin on apoptosis induction, inhibition of cellular proliferation and mRNA expression of CASP8, CASP9, APC and β -catenin // *Curr. Res. J. of Biol. Sci.*– 2012. – V. 4, N 3. – P. 315–322.
3. Pietrzak M., Wieczorek Z., Wieczorek J., Darzynkiewicz Z. The «interceptor» properties of chlorophyllin measured within the three-component system: Intercalator–DNA–chlorophyllin // *Bioph. Chem.* – 2006. – V. 123, N 1. – P. 11–19.
4. Neault J.F., Tajmir-Riahi H.A. Structural analysis of DNA-chlorophyll complexes by Fourier transform infrared difference spectroscopy // *Biophys. J.* – 1999. – V. 76. – P. 2177–2182.
5. Костюков В.В., Хомутова Н.М., Евстигнеев М.П. Изменение гидратации при комплексообразовании ароматических лигандов с ДНК: моделирование методом молекулярной динамики // *Biopolymers and Cell.* – 2010. – V. 26, N 1. – P. 36–44.
6. Tajmir-Riahi H.A., Neault J.F., Diamantoglou S. DNA adducts with chlorophyll and chlorophyllin as antimutagenic agents: synthesis, stability, and structural features // *Methods Mol. Biol.* –

REFERENCES

1. Dashwood R.H. Chlorophylls as anticarcinogens (Review). *Int. J. Oncol.* 1997. **10**(4): 721.
2. Vesenick D.C., De Paula N.A., Niwa A.M., Mantovani M.S. Evaluation of the effects of chlorophyllin on apoptosis induction, inhibition of cellular proliferation and mRNA expression of CASP8, CASP9, APC and β -catenin. *Curr. Res. J. of Biol. Sci.* 2012. **4**(3): 315.
3. Pietrzak M., Wieczorek Z., Wieczorek J., Darzynkiewicz Z. The «interceptor» properties of chlorophyllin measured within the three-component system: Intercalator–DNA–chlorophyllin. *Bioph. Chem.* 2006. **123**(1): 11.
4. Neault J.F., Tajmir-Riahi H.A. Structural analysis of DNA-chlorophyll complexes by Fourier transform infrared difference spectroscopy. *Biophys. J.* 1999. **76**(4): 2177.
5. Kostjukov V.V., Khomutova N.M., Evstigneev M.P. Hydration change on complexation of aromatic ligands with DNA: molecular dynamics simulations. *Biopolymers and Cell.* 2010. **26**(1): 36 [in Russian].
6. Tajmir-Riahi H.A., Neault J.F., Diamantoglou S. DNA adducts with chlorophyll and chlorophyllin as antimutagenic agents: synthesis, stability, and structural features. *Methods Mol. Biol.* 2004. **274**: 159.

2004. – V. 274. – P. 159–171.
7. *Poornima C.S., Dean P.M.* Hydration in drug design. 1. Multiple hydrogen-bonding features of water molecules in mediating protein-ligand interactions // *J. Comput. Aided Mol. Des.* – 1995. – V. 9, N 6. – P. 500–512.
 8. *Qu X., Chaires J.B.* Hydration changes for DNA intercalation reactions // *J. Amer. Chem. Soc.* – 2001. – V. 123, N 1. – P. 1–7.
 9. *Han F., Chalikian T.V.* Hydration changes accompanying nucleic acid intercalation reactions: volumetric characterizations // *J. Amer. Chem. Soc.* – 2003. – V. 125, N 24. – P. 7219–7229.
 10. *Cuya Guizado T.R., Louro S.R.W., Anteneodo C.* Hydration of hydrophobic biological porphyrins // *J. Chem. Phys.* – 2011. – V. 134, N 5. – P. 055103.
 11. *Mancera R.L.* Molecular modeling of hydration in drug design // *Curr. Opin. Drug Disc. Devel.* – 2007. – V. 10, N 3. – P. 275–280.
 12. *Хорунжая О.В., Кашпур В.А., Песина Д.А., Малеев В.Я.* Изменения гидратации при образовании комплексов ДНК с некоторыми интеркаляторами // *Біофізичний вісник.* – 2010. – Вип. 1(24). – С. 5–13.
 13. *Кашпур В.А., Хорунжая О.В., Малеев В.Я.* Изменения гидратации при образовании комплексов ДНК–лиганд по данным диэлектротрии // *Доп. НАН України.* – 2010. – № 7. – С.170–175.
 14. *Кашпур В.А., Малеев В.Я., Щеголева Т.Ю.* Исследования гидратации глобулярных белков дифференциальным диэлектротрическим методом // *Молек. биология.* – 1976. – Т. 10, № 3. – С. 568–575.
 15. *Кашпур В.А., Малеев В.Я., Хорунжая О.В.* Применение метода дифференциальной КВЧ диэлектротрии в молекулярной биофизике // *Радиофизика и электроника.* – 2008. – Т. 13, Спец. вып. – С. 446–454.
 16. *Ellison W.J., Lamkaouchi K., Moreau J.-M.* Water: A dielectric reference // *J. Molec. Liquids.* – 1996. – V. 68, N 2–3. – P. 171–279.
 17. *Хуннель А.Р.* Диэлектрики и волны. – Москва: Изд-во иностранной литературы, 1960. – 438 с.
 18. *Hasted J.B., Roderick G.W.* Dielectric 7. *Poornima C.S., Dean P.M.* Hydration in drug design. 1. Multiple hydrogen-bonding features of water molecules in mediating protein-ligand interactions. *J. Comput. Aided Mol. Des.* 1995. **9**(6): 500.
 8. *Qu X., Chaires J.B.* Hydration changes for DNA intercalation reactions. *J. Amer. Chem. Soc.* 2001. **123**(1): 1.
 9. *Han F., Chalikian T.V.* Hydration changes accompanying nucleic acid intercalation reactions: volumetric characterizations. *J. Amer. Chem. Soc.* 2003. **125**(24): 7219.
 10. *Cuya Guizado T.R., Louro S.R.W., Anteneodo C.* Hydration of hydrophobic biological porphyrins. *J. Chem. Phys.* 2011. **134**(5): 055103.
 11. *Mancera R.L.* Molecular modeling of hydration in drug design. *Curr. Opin. Drug Disc. Devel.* 2007. **10**(3): 275.
 12. *Khorunzhaya O.V., Kashpur V.A., Pesina D.A., Maleev V.Ya.* Hydration changes under complexation of DNA with some intercalators. *Biophysical bulletin.* 2010. **24**(1): 5 [in Russian].
 13. *Kashpur V.A., Khorunzhaya O.V., Maleev V.Ya.* Hydration changes in complexation of DNA with ligands as revealed by dielectrometry. *Dopovidi NAN Ukrayiny.* 2010. **7**: 170 [in Russian].
 14. *Kashpur V. A., Maleyev V. Ya., Shchegoleva T. Yu.* Issledovaniya gidratatsii globulyarnykh belkov differentsial'nym dielektrometri-cheskim metodom. *Molecular Biology.* 1976. **10**: 568 [in Russian].
 15. *Kashpur V.A., Maleyev V.Ya., Khorunzhaya O.V.* Application of differential method of EHF dielectrometry in molecular biophysics. *Radíofízika ta yelektroníka.* 2008. **13**: 446 [in Russian].
 16. *Ellison W. J., Lamkaouchi K., Moreau J.-M.* Water: A dielectric reference. *J. Molec. Liquids.* 1996. **68**(2–3): 171.
 17. *Hippel A.R.* *Dielectrics and Waves.* (New York: Wiley, 1954).
 18. *Hasted J.B., Roderick G.W.* Dielectric

- properties of aqueous and alcoholic electrolytic solutions // *J. Chem. Phys.* – 1958. – V. 29, N 1. – P. 17–26.
19. Антропов Л.И. Теоретическая электрохимия. – Москва: Высш. школа, 1975. – 568 с.
20. Рабинович В.А., Хавин З.Я. Краткий химический справочник. – Ленинград: Химия, 1978. – 392 с.
21. Kaatze U. The dielectric properties of water in its different states of interaction // *J. Solut. Chem.* – 1997. – V. 26, N 11. – P. 1049–1112.
22. Mashimo S., Kuwabara S., Yagihara S. et al. Dielectric relaxation time and structure of bound water in biological materials // *J. Phys. Chem.* – 1987. – V. 91, N 25. – P. 6337–6338.
23. Craig D.Q.M. Dielectric analysis of pharmaceutical systems. – London, Bristol: Taylor & Francis, 1995. – 246 p.
24. Globus T.R., Woolard D.L., Khromova T. et al. THz-spectroscopy of biological molecules // *J. Biol. Phys.* – 2003. – V. 29, N 1. – P. 89–100.
25. Бреслер С.Е. Введение в молекулярную биологию. – Москва: Наука, 1970. – 580 с.
26. Привалов П.Л. Вода и ее роль в биологических системах // *Биофизика.* – 1968. – Т. 13, Вып. 1. – С. 163–177.
27. Harmouchi M., Albiser G., Premilat S. Changes of hydration during conformational transitions of DNA // *Eur. Biophys. J.* – 1990. – V. 19, N 2. – P. 87–92.
28. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. – Москва: Мир, 1987. – 584 с.
29. Buchanan T.J., Haggis G.H., Hasted J.B. The dielectric estimation of protein hydration // *Proc. Roy. Soc.* – 1952. – V. A213, N 1114. – P. 379–391.
30. Bonchev D., Cremaschi P. C-H group as proton donor by formation of a weak hydrogen bond // *Theoret. Chim. Acta (Berl.)*. – 1974. – V. 35, N 1. – P. 69–80.
31. Sun J., Bousquet D., Forbert H., Marx D. Glycine in aqueous solution: solvation shells, interfacial water, and vibrational spectroscopy from *ab initio* molecular dynamics // *J. Chem. Phys.* – 2010. – V. 133, N 11. – P. 114508.
32. Kharakoz D.P. Partial molar volumes of molecules of arbitrary shape and the effect of hydrogen bonding with water // *J. Solut. Chem.* 1958. – V. 29(1): 17.
19. Антропов Л.И. *Теоретическая электрохимия*. (Москва: Высшaya shkola, 1975) [in Russian].
20. Rabinovich V.A., Khavin Z.Ya. *Kratkiy khimicheskiy spravochnik*. (Leningrad: Khimiya, 1978) [in Russian].
21. Kaatze U. The dielectric properties of water in its different states of interaction. *J. Solut. Chem.* 1997. **26**(11): 1049.
22. Mashimo S., Kuwabara S., Yagihara S., Higasi K. Dielectric relaxation time and structure of bound water in biological materials. *J. Phys. Chem.* 1987. **91**(25): 6337.
23. Craig D.Q.M. *Dielectric analysis of pharmaceutical systems*. (London, Bristol: Taylor & Francis, 1995).
24. Globus T.R., Woolard D.L., Khromova T., Crowe T.W., Bykhovskaia M., Gelmont B.L., Hesler J., Samuels A.C. THz-spectroscopy of biological molecules. *J. Biol. Phys.* 2003. **29**(1): 89.
25. Bresler S.Ye. *Vvedeniye v molekulyarnuyu biologiyu*. (Moskva: Nauka, 1970) [in Russian].
26. Privalov P.L. Voda i yeye rol' v biologicheskikh sistemakh. *Biophysics (Biofizika)*. 1968. **13**(1): 163 [in Russian].
27. Harmouchi M., Albiser G., Premilat S. Changes of hydration during conformational transitions of DNA. *Eur. Biophys. J.* 1990. **19**(2): 87.
28. Saenger W. *Principles of nucleic acid structure*. (NY-Berlin-Heidelberg-Tokyo: Springer-Verlag, 1984).
29. Buchanan T.J., Haggis G.H., Hasted J.B. The dielectric estimation of protein hydration. *Proc. Roy. Soc.* 1952. **A213**(1114): 379.
30. Bonchev D., Cremaschi P. C-H group as proton donor by formation of a weak hydrogen bond. *Theoret. Chim. Acta (Berl.)* 1974. **35**(1): 69.
31. Sun J., Bousquet D., Forbert H., Marx D. Glycine in aqueous solution: solvation shells, interfacial water, and vibrational spectroscopy from *ab initio* molecular dynamics. *J. Chem. Phys.* 2010. **133**(11): 114508.
32. Kharakoz D.P. Partial molar volumes of molecules of arbitrary shape and the effect of hydrogen bonding with water. *J. Solut. Chem.*

- Chem. – 1992. – V. 21, N 6. – P. 569–595.
33. Pastor N. The B- to A-DNA transition and the reorganization of solvent at the DNA surface // *Bioph. J.* – 2005. – V. 88, N 5. – P. 3262–3275.
34. Umehara T., Kuwabara S., Mashimo S., Yagihara S. Dielectric study on hydration of B-, A-, and Z-DNA // *Biopolymers.* – 1990. – V. 30, N 7–8. – P. 649–656.
1992. **21**(6): 569.
33. Pastor N. The B- to A-DNA transition and the reorganization of solvent at the DNA surface. *Bioph. J.* 2005. **88**(5): 3262.
34. Umehara T., Kuwabara S., Mashimo S., Yagihara S. Dielectric study on hydration of B-, A-, and Z-DNA. *Biopolymers.* 1990. **30**(7–8): 649.

Поступила 21.07.2014, принята 19.06.2015