ОГЛЯД

УДК 577.41 +612.014.461

Н.Ф. ФАРАЩУК

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О СТРУКТУРЕ ВОДЫ И ПРОЦЕССАХ ГИДРАТАЦИИ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ

В связи с тем, что основным предметом нашего внимания являются процессы гидратации в тканях животного организма, мы сочли необходимым привести современные представления о структуре основного компонента этих процессов - воды. Строению воды, не единичной молекулы, а как надмолекулярной структуры, посвящено большое количество публикаций. Наиболее значительной работой по этой проблеме за последние годы является книга «Вода - космическое явление» под редакцией Ю.А. Рахманина и В.К. Кондратова [43]. В ней даны современные и обоснованные представления о гетерогенности воды, приведены результаты изучения физических, энергоинформационных и биологических свойств в зависимости от ее структурной перестройки. Поэтому мы приводим очень краткие сведения, необходимые только для понимания роли воды в биологических процессах.

Вода представляет собой вещество с рядом специфических и уникальных свойств, причем практически каждое из них имеет важнейшее биологическое значение. К числу аномалий воды относятся высокая теплота парообразования и теплота плавления, существование максимума плотности при температуре 3,98°С, максимальная теплоемкость воды при 37°С, большие величины поверхностного натяжения и диэлектрической постоянной, увеличение в объеме при кристаллизации, возрастание вязкости с повышением давления и другие. Причину уникальности воды следует искать в особенностях ее строения, высокой организованности этого вещества. Современная квантовая химия может с высокой точностью рассчитать свойства единичной молекулы воды. Для понятия ассоциативных свойств воды создаются ее структурные модели.

Одной из наиболее удачных моделей, на наш взгляд, является тетраэдрическая модель Н. Бьеррума, основанная на представлении об SP3 - гибридизации электронных атомных орбиталей кислорода. Четыре SP3 - гибридные орбитали направлены к вершинам тетраэдра, из них две образуют ковалентные связи с атомами водорода, а на двух других располагаются неподеленные электронные пары. Недостаток модели в том, что она жесткая, то есть все расстояния и углы в ней считаются фиксированными. Тем не менее с помощью этой модели можно объяснить формирование регулярных пространственных молекулярных сеток конденсированной фазы воды - льда.

Известно, что протяженная трехмерная молекулярная структура возникает лишь в том случае, если будут выполнены одновременно следующие условия: 1) молекулы вещества должны обладать способностью образовывать прочные водородные связи; 2) этих связей должно быть не менее четырех на одну молекулу; 3) геометрические размеры молекул не должны противоречить оптимальным направлениям водородных связей. Существует лишь одно вещество, полностью удовлетворяющее всем этим требованиям - это вода. В твердом состоянии указанная структура пронизывает весь объем льда, а в жидкой воде она сохраняется частично и придает воде аномальные свойства. Каждая молекула воды может участвовать в образовании четырех водородных связей: две из них за счет атомов водорода, две другие - за счет неподелённых электронных пар кислорода. Структурная организация атомов водорода и кислорода в сетке водородных связей описывается известными правилами Дж. Бернала- Р. Фаулера [68]. Согласно этим правилам: а) около каждого атома кислорода (О) находятся два атома водорода (Н); б) на каждой водородной связи (линии О-О) находится один атом Н.

Важнейшее свойство водородной связи - кооперативность, означающая, что образование одной Н - связи способствует возникновению рядом следующей связи, которая, в свою очередь, способствует образованию следующей и т.д. Физико-химическая природа кооперативности состоит в том, что две молекулы воды, образуя водородную связь, вступают в такое взаимодействие, при котором протон на линии О-О может иметь два равновесных положения - как вблизи "своего" атома О, на расстоянии 1А°, так и вблизи "чужого" - на расстоянии 1,7А° от "своего", т.е. наряду с обычным димером НО - Н ... OH_2 стабильной оказывается и ионная пара НО ... Н – OH_2. Фактически одна молекула оказывается более "кислой", а другая - более "щелочной".

Поэтому для образования этими же молекулами и других водородных связей требуется меньше энергии [8].

К настоящему времени обнаружено 11 структурных модификаций льда. В нормальных условиях стабильна структура "обычного" льда, некоторые модификации существуют при давлениях, превышающих 2000 атмосфер [51]. Во льду все молекулы связаны между собой водородными связями. При этом четыре связи каждой молекулы локально организованы в тетраэдрическую структуру, т.е. четыре близлежащие молекулы располагаются в вершинах тетраэдра, в центре которого находится пятая молекула воды. Таким образом, тетраэдрическая форма отдельной молекулы повторяется в кристаллической структуре льда. Структура льда как бы выложена гексагональными кольцами, располагающимися в пространстве гофрированными слоями, с молекулами воды в узлах, причем каждая молекула воды связана с тремя молекулами своего слоя и одной молекулой соседнего. Ажурная сеть водородных связей превращает молекулярную структуру льда в рыхлую конструкцию с большим количеством пустот - это и делает лед более легким, чем вода [8].

Достижением XX века явилось понимание того, что структура льда как-то сохраняется в жидкой воде или, пользуясь выражением Клемена - Дюваля, вода помнит свое происхождение. Водородные связи, обусловливающие структуру льда, сохраняются в жидкой воде лишь частично. При температуре плавления 0°С некоторое количество Н - связей рвется, но каковы реальные изменения при переходе льда в жидкость - до сих пор не выяснено. Доля разорванных водородных связей в жидкой воде при 0°С, по данным различных авторов, колеблется в пределах от 3 до 72% [51]. С увеличением температуры в жидкой воде координационное число (число ближайших соседей конкретной молекулы воды) увеличивается, т.е. менее упорядоченное размещение молекул приводит к их уплотнению. Анализ величин диэлектрической проницаемости и плотности льда и жидкой воды показывает, что в строении жидкой воды сохраняется некоторая ажурность, свойственная льду, т.е. упаковка молекул не является максимально плотной [76,77].

В настоящее время известно более 20 моделей, достаточно удовлетворительно описывающих структуру жидкой воды. Все предложенные модели могут быть разделены на 5 групп: 1) непрерывные модели; 2) двухструктурные модели; 3) модели с заполнением пустот; 4) кластерные модели; 5) модели ассоциатов [24,51]. Такое деление, конечно, весьма условно, поскольку взаимосвязь отдельных групп настолько тесная, что провести какую-либо четкую грань между ними не всегда удается. По мнению отдельных ученых, в основу того или иного принципа деления можно положить три гипотезы, которые определяются наличием раздельных структур, заполнением пустот в ажурном каркасе воды и существованием кооперативного характера водородных связей.

Примером двухструктурной модели жидкой воды является модель Дж. Бернала и Р. Фаулера [9,68]. Предполагается, что при плавлении льда происходит перестройка его структуры с разрушением дальнего порядка и сохранением ближнего. В таком случае можно выделить две фракции (структуры) жидкой воды - льдопо-добную с ажурной конфигурацией тетраэдрического типа, частично искаженной тепловым движением молекул НО, и фракцию из молекул с ослабленными или полностью разрушенными водородными связями. Подобная идея "смешанной" структуры воды позволяет объяснить такую аномалию воды как увеличение ее плотности при таянии льда, когда молекулы второй фракции заполняют некоторые пустоты первой фракции. Дальнейшее усовершенствование модели с двумя раздельными типами структур привело к созданию моделей с заполнением пустот (включая клатратные модели) и к кластерным моделям. Авторы подобных моделей пытались лишь конкретизировать их и установить объемные соотношения между двумя типами структур, поскольку прямых способов раздельного определения структур в жидкой фазе не существует [36].

Заслуживает внимания идея А. Смита и А. Лоусона [51] о том, что заполнение пустот в ажурном каркасе льда связано не с разрывом Н-связей, а с их "изгибом". "Изгиб" может быть реализован только после достижения температуры плавления и усиливается с ее ростом. Для твердой фазы воды это явление не характерно. Гипотеза об "изгибе" Н-связей подтверждается результатами исследований вязкости, электропроводности, спектроскопическими данными [51].

Среди всех моделей, предложенных для жидкой воды, наибольшие противоречия вызывают те, в которых льдоподобная структура интерпретируется как молекулярные ассоциаты с различным числом молекул. Количество молекул в таких группах, как правило, не выше 8 [77,99]. По мнению А. Эйкена, ассоциаты возникают при такой ориентации соседних молекул, при которой потенциальная энергия системы становится минимальной. Главный фактор для образования

различных групп молекул при нормальной температуре - водородные связи. Однако ажурность структуры льда трудно объяснить различными ассоциатами молекул H_2O.

Вариантом модели с заполнением пустот является модель Л. Полинга [95]. Одна структура воды состоит из каркасных молекул с разветвленной сетью Н-связей, другая - из "свободных" молекул, заполняющих полости каркаса. В основу этого подхода к структуре воды положены представления о строении гидратов газов, которые способны создавать каркасы с очень крупными пустотами, т. е. так называемые структуры клатратных гидратов. Для их строения чаще всего характерны правильные многогранники -додекаэдры. В узлах каркасов находятся молекулы воды ("хозяева"), а в пустотах, когда речь идет о газах, размещаются молекулы CH_4, O_2, N_2, Cl_2, и т. д. ("гости"). Но пустоты в додекаэдре могут быть заняты и молекулами H_2O. По мнению Г.Фрэнка и А. Квиста, молекулы воды, попавшие в пустоты, становятся "гидрофобными", т. е. избегают контактов с молекулами - "хозяевами" [78]. При таких условиях уменьшается возможность создания направленных водородных связей. Авторы попытались связать клатратную модель Л. Полинга с кластерной. По их мнению, каркасы до-декаэдрического типа могут соединяться между собой водородными связями и образовывать группы, обладающие упорядоченной структурой. Такие области в силу кооперативного характера Н-связей постоянно возникают и исчезают, поэтому можно говорить о так называемых "мерцающих кластерах".

Изложенное выше показывает, что представления о кластерных моделях, двухструктурных и с заполнением пустот тесно переплетаются между собой. Некоторые ученые объединяют их в класс смешанных моделей, постулирующих, что вода является смесью дискретных сортов молекулярных образований двух или нескольких типов.

В последние годы свойства воды начали изучать с помощью математического моделирования. В этих исследованиях рассматривается статистика поведения большого количества частиц, причем такая модель обладает свойствами макросистемы. Данные математического моделирования применительно к жидкой воде позволяют считать, что наиболее вероятной является непрерывная модель воды с трехмерной случайной пространственной сеткой водородных связей [22]. Сетка Н-связей подвержена искажениям, и они вызваны не только перемещением отдельных молекул с разорванными Н-связями, но и перемещением целых ячеек из нескольких молекул, объединенных по типу тетраэдрических конфигураций. Конфигурации различаются по вероятности возникновения за счет перемещений данной молекулы с различным числом партнеров. Оценивая вероятности миграции молекулы в различных комбинациях с соседями, можно распределить молекулы по совокупностям участков структуры с близким строением. В каждой совокупности на молекулу в среднем приходится определенное число разорванных Н-связей, а это обусловливает способность воды к участию в различных химических, биохимических и физико-химических процессах. Такая модель наиболее удачно объясняет, как вода реагирует на разнообразные .внешние воздействия: изменения температуры, давления, различные поля, вибрацию и т. д. [28, 33].

За последние 50 лет к анализу надмолекулярной организации ноды применены практически все самые современные физические и химические методы исследования, но до сих пор не существует общепринятой картины строения этой уникальной жидкости.

Растворение в воде любого вещества сопровождается изменением ее структуры. Воздействие на водную среду отрицательных и положительных ионов электролитов и нейтральных молекул неэлектролитов существенно различается. При появлении нейтральных молекул первичная структура воды стабилизируется, они как бы укрепляют ее. Совсем другие процессы возникают в растворе под действием заряженных частиц. В этом случае структура воды претерпевает весьма существенные изменения, вплоть до полного ее разрушения и создания новой структуры — структуры раствора. Появление ионов в воде приводит к двум взаимно противоположным изменениям структуры воды. Влияние поля иона нарушает упорядоченность молекул, характерную для чистой воды. Этотраз-упорядочивающий эффект связан с увеличением энтропии. С другой стороны, действие поля иона ориентирует молекулы воды в этом поле и приводит к упорядоченному размещению их вокруг иона, что сопровождается уменьшением энтропии. Преобладание одного из двух эффектов определяет знак изменения энтропии, характеризующего состояние изучаемой системы.

Долгое время считали, что ион прочно связывает соседние молекулы воды и слабо воздействует на молекулы, которые располагаются за ближайшими, т.е. на вторую зону. В 60-х годах О. Я. Самойлов [45,46] предположил, что ионы не жестко связывают молекулы воды, а лишь притягивают их к себе, но при этом обмен с соседними молекулами воды не прекращается.

Следовательно, рассматривается действие ионов на трансляционное движение ближайших к иону молекул воды. Сформулировано важное правило, согласно которому в водных системах при образовании раствора вода стремится к наименьшему возможному изменению своей структуры.

В связи с этим некоторые ионы, прочно связывающие воду, замедляют обмен между ближайшими молекулами воды, по сравнению с чистой водой. Такое явление характерно для растворов, содержащих ионы Li^+, Ca^{2+}, Mg^+, F^- и др., и называется положительной гидратацией. Однако другие ионы как бы отталкивают частицы, находящиеся в ближайшем окружении, и тогда обмен между соседними молекулами усиливается по сравнению с чистой водой. Следовательно, неупорядоченность молекул воды вокруг ионов возрастает. К числу таких ионов относятся K^+ , Rb^+, Cs^+, Br^-, I^- и др. Эти ионы обладают так называемой отрицательной гидратацией. Сущность отрицательной гидратации заключается, вероятно, в том, что в присутствии определенных ионов и в результате внешних воздействий связи ион - вода становятся слабее связей вода - вода. В настоящее время представления о положительной и отрицательной гидратации нашли глубокое обоснование и подтверждаются все большим числом экспериментальных работ. Предпринимаются различные попытки определить количественную характеристику положительной и отрицательной гидратации.

Согласно высказываниям О. Я. Самойлова, Н. А. Аскоченской, разный характер гидратации ионов натрия (положительная гидратация) и калия (отрицательная гидратация), возможно, играет определенную роль в биологической специфичности этих катионов [6, 46].

В отличие от электролитов, растворяющихся в "жидко-плавленной" фракции воды, неэлектролиты растворяются в ее "структурированной" фракции. При этом происходит значительная стабилизация структуры этой фракции [4, 55, 92, 98]. Такой эффект можно объяснить заполнением пустот - полостей каркасов с вытеснением из них молекул воды [7]. Некоторые авторы указывают, что вещество, способное заполнять полость, должно плохо растворяться в воде и (или) не должно ионизироваться. С другой стороны, такое вещество может быть высокополярным и входить в водородную связь, не нарушая ее непрерывности [10, 19, 34].

Расчеты показывают, что большой вклад в стабильность каркасных структур гидратов вносят дисперсионные взаимодействия "гостевых" молекул с водой. Стабилизация структур клатратных гидратов с более крупными пустотами обязана в некоторой степени эффектам коллективного (нелокального) взаимодействия "гостевых" молекул с решеткой гидрата в целом. Наблюдается закономерность: количество связываемой воды максимально для гидратов гидрофобных веществ (инертные газы, CH_4, $C1_2$, N_2, O_2, CO_2). По типу клатрации связывают воду (правда, в меньшем количестве) малорастворимые вещества, молекулы которых могут быть донорами и (или) акцепторами водородных связей (алканы, циклические эфиры, кетоны, спирты). Относительно еще меньшее количество воды имеют кристаллогидраты водорастворимых веществ. Содержание воды убывает в ряду гидратированных фенолов, альдегидов, пуринов, аминокислот, пептидов и углеводов. Для этих веществ клатрация практически не встречается; молекулы воды, как правило, связаны водородными связями лишь с активными центрами (донорами и акцепторами Н-связей) на поверхности гидрофильных молекул, либо выполняют функцию наполнителей каналов и пустот в органическом или неорганическом каркасе.

Одновременно с уменьшением содержания воды возрастает и стабильность гидратов или "сила связывания" воды данным веществом. Если клатратные гидраты гидрофобных веществ разлагаются при - 0°С (редко при 10-15°С), то для гидратов слаборастворимых веществ температура разложения часто достигает 20-30°С и выше. Гидратированные водорастворимые вещества в среднем устойчивы при ещё более высоких температурах [21].

Таким образом, неэлектролиты в водном растворе повышают прочность каркасов и уменьшают количество плотноупакованной фракции воды [7, 16, 19, 94].

Молекулы аминокислот, белков, нуклеиновых кислот и других биологических соединений составлены из атомных группировок, резко различающихся по характеру взаимодействия с молекулами воды. Поэтому гидратная оболочка биополимеров гетерогенна. При этом наблюдаются описанные выше закономерности: неполярные группы стабилизируют структурированную воду, а группы атомов, несущие электрические заряды, будут окружены стабильной "жидкой" водой. Если неполярные группы расположены в биомакромолекуле регулярно, то наблюдается эффект кооперирования — стабилизация структурированной воды вдоль неполярных групп макромолекул усиливается. Стабилизированный слой будет распространяться не только вдоль неполярных групп, но и радиально, охватывая намного больше слоев воды, чем в случае единичных неполярных частиц [53, 67, 69, 97].

В процессе взаимодействия воды с биополимерами "главным администратором", допускающим те или иные взаиморасположения молекул воды друг с другом, а также с растворяемым веществом, являются водородные связи. Доказательством этому могут быть следующие соображения:

1) вода является непременной составляющей всех систем живой природы, и все их нативные формы непременно гидратиро-ваны;

2) только у воды структура кристаллической и жидкой фаз полностью обусловлена направленными тетраэдрическими Н-связя-ми, что может позволить структурам воды реализовать функции ведущего фактора интеграции;

3) возможно взаимодействие свободных Н-связей структур воды и биополимеров с образованием гидратированных форм, в которых связанная вода ведет себя так же, как и в кристаллогидратах [21, 59];

4) минимум свободной энергии достигается только в системе "белок-вода" [17, 20].

Молекулы воды не просто связываются пептидными группами белков, а существует конкуренция за образование водородных связей непосредственно между пептидными группами и через посредство молекул воды. При этом а-спираль белковой молекулы характеризуется максимальной по абсолютной величине энергией гидратации, что делает эту конформацию предпочтительной, по

сравнению с другими конформациями остова полипептидной цепи [1].

При изучении вращательной подвижности молекул воды на поверхности биополимеров молекулы растворителя были разделены на 3 группы [74]. Первая группа включала быстро реориенти-руемые молекулы с временем "оседлой жизни" $t_д = 10^{-11}$ с. Это молекулы, которые связаны водородными связями с основной цепью белка, и те, на которые влияет присутствие неполярных групп. В другую группу входили частицы с $t_д = 10^{-9}$ с; они предположительно идентифицировались как молекулы воды, связанные прочной связью с заряженными группами. Третья группа имела $t_д$ порядка 10^{-6} с; эти молекулы растворителя считаются связанными с макромолекулами связями, запрещающими вращение; примером могут служить 4 молекулы воды, расположенные внутри ингибитора трипсина из поджелудочной железы быка (фактически таким же параметром $t_д$ характеризуются молекулы в структуре льда). Предполагается, что основную часть гидратной оболочки белка составляют группы молекул H_2O с наибольшей подвижностью, т. е. молекулы воды вблизи неполярных групп. Молекулы, связанные с полярными группами, переориентируются с такой же скоростью, как и молекулы воды, значительно удаленные от макромолекулы ("объёмные" молекулы).

В настоящее время некоторые экспериментаторы считают, что вся вода подвержена влиянию биологического субстрата и непрерывно распределена по $t_д$ от 10^{-6} с до 10^{-11} с [8].

Чтобы установить природу различий между выделенными группами молекул воды, исследованы некоторые структурные и энергетические свойства [5, 97]. Оказалось, что различия в энергиях водородных связей между разными молекулами растворителя незначительны. Кроме того, расчеты показали, что типичная молекула воды в растворе участвует в образовании одного и того же числа водородных связей независимо от характера окружения. При этом на основании функции распределения число молекул H_2O в первой оболочке вокруг каждой молекулы воды равно 5,75 (для "объёмных" молекул), 4,95 (вблизи полярных групп биомолекулы) и 4,70 (вблизи неполярных групп). Это означает, что молекулы воды в объёме имеют приближённо одного дополнительного ближайшего соседа, по сравнению с молекулами H_2O в первой сольватной оболочке биомолекулы. Поскольку среднее число Н-связей, образуемых молекулами воды в "неполярной" группе, совпадает с числом Н-связей, образуемых "объёмными" молекулами, в первом случае должно существовать связывание со значительно большей долей ближайших пар. Для молекул растворителя, находящихся около полярных групп, среднее число соседей, способных к образованию водородных связей, не уменьшается, поскольку вместо образования Н-связи с молекулой воды может происходить образование Н-связи с растворённым веществом.

Приведенные исследования показывают, что существенное влияние растворённого вещества на динамические свойства молекул воды ограничивается первым сольватным слоем, а влияние индивидуальных функциональных групп локализовано. "Структура" растворителя, индуцированная вблизи неполярных групп, и соответствующие конфигурационные ограничения для молекул воды являются результатом образования такого же числа Н-связей, как и в объёме воды, с ограничением в виде уменьшенного числа соседей, способных к образованию водородных связей. Неполярные группы неспособны к образованию Н-связей и именно это свойство отличает

их от полярных групп. Пониженная подвижность молекул растворителя около неполярных групп связана, прежде всего, с конфигурационными (энтропийными), а не с энергетическими барьерами.

Известно, что центрифугирование белкового раствора при 300 тыс.g, соответствующих давлению во многие сотни атмосфер, не приводит к увеличению концентрации белка более чем на 5%. Этот эксперимент демонстрирует высокое сродство белка к воде. Стабилизирование воды на поверхности белковых молекул приводит к возникновению водной оболочки, по структуре напоминающей лёд [18, 35, 50, 67]. Льдоподобная, или "связанная", вода играет важную роль в функционировании живого вещества [2, 14, 89, 96]. Результаты, полученные различными методами при исследовании количественных закономерностей гидратации сухого белка, позволили построить общую картину процесса, представленную в работе G.G. Gareri, E. Graton, P.H. Yang (1979) [81]. С учетом того, что молекула сухого белка имеет конформацию, сходную с конформаци-ей в растворе, и несколько точек контакта с соседними молекулами, в этом процессе можно выделить несколько стадий.

1) Первые порции воды взаимодействуют преимущественно с ионизируемыми группами. Эта прочно связанная вода составляет примерно 25% всей гидратационной воды, что соответствует доле поверхности, занятой ионизируемыми группами.

2) При содержании воды около 0,1 г/г белка начинается образование кластеров, группирующихся преимущественно вблизи полярных групп и заряженных атомов па поверхности белка. Измерения (ЯМР, диэлектрическая релаксация, ЭПР) показывают, что подвижность этой воды, по сравнению с объёмной, ограничена.

3) В интервале от 0,1 до 0,2 - 0,3 г воды на г белка гидратация центров, связанных водородными связями, завершается.

4) Конденсация воды над наиболее слабо взаимодействующими участками поверхности (неполярными областями) приводит к образованию многослойного покрытия при степени гидратации 0,4 г/г белка. Подвижность системы белок-вода резко увеличивается.

5) При повышении степени гидратации более чем 0,4г/г белка не наблюдается никаких изменений термических свойств. Локальное расположение молекул воды соответствует объёмной воде.

Недавно показано [22], что белок "оживает", причём скачкообразно, по достижении определённого критического увлажнения. Ю.И. Хургиным обнаружено скачкообразное включение ферментативной активности белков в этих условиях [57]. Перестройка структуры белка, происходящая при увлажнении, близком к критическому, сопровождается образованием слоя "связанной" воды на поверхности белка. При критическом увлажнении (для большинства белков 0,3 г воды на г белка) поверхностный гидратный слой представляет собой "кружево". Составляющие его молекулы воды формируют мостики между полярными группами белка, выходящими на его поверхность, при этом белок становится подвижным, а его «жёсткость» уменьшается. При увлажнении белка, превышающем критическое значение, гидратный слой несколько утолщается, а затем формируется фаза "объёмной" воды, напоминающей по своим свойствам обычную.

Большое значение в процессе гидратации имеют площадь поверхности соприкосновения макромолекулы с водой, её структура, конфигурация и способность к образованию водородных связей. Чем больше эта конфигурация макромолекулы подходит к решётке льда, тем выше упорядочивающая способность ее поверхности [32, 62].

Размеры и формы глобулярных белков соответствуют водным кластерам, что позволяет им упаковываться друг с другом и строить высокоинтегрированный ансамбль белка и растворителя, известный нам как цитоплазматический гель.

Выраженное упорядочивающее действие молекул ДНК объясняется тем, что форма её спирали отлично вписывается в решётку льда [84]. При комплексировании ДНК с белком наблюдается увеличение количества структурированной воды, что, возможно, объясняется увеличением гидрофобной поверхности рассматриваемого биокомплекса [62].

В серии исследований акустическим методом свойств воды вблизи молекул биополимеров было показано, что большая и сложная по химическому составу молекулярная поверхность может оказывать на воду усиленное воздействие вследствие кооперативнос-ти. Кооперативность проявляется в увеличении гидратационного эффекта, по сравнению с суммой вкладов отдельных поверхностных атомных групп, рассчитанных для низкомолекулярных соединений. Следует заметить, что при этом учитывается только вода первого (реже второго) гидратного слоя. Так, для молекулы натив-ного коллагена с регулярно расположенными полярными центрами на

поверхности гидратационный эффект сжимаемости оказывается значительно большим, чем для желатины, состоящей из денатурированных нерегулярных цепей коллагена, где отсутствует кооперативность [37, 56].

Поверхность глобулярных белков представлена нерегулярно расположенными полярными группами, между которыми находятся небольшие "островки" гидрофобных участков. Поэтому усиления гидратационного эффекта сжимаемости, по сравнению с тпкомолекулярными соединениями, не наблюдается [47]. Также показано, что со стороны регулярной структуры двойной спирали нуклеиновых кислот отсутствует дополнительное воздействие на воду, по сравнению с воздействием отдельных нуклео-тидов [13].

Можно считать установленным фактом то, что способностью упорядочивать структуру окружающей воды обладают все биомакромолекулы [60, 65]. Так, высокой гидрофильностью обладают полисахариды, причём гидратация наблюдается как в кристаллических, так и в аморфных областях [11]. Гидратная вода, находящаяся в кристаллитах, может влиять, а может и не влиять на конфор-мацию полисахаридного остова. В большинстве случаев наличие воды оказывает влияние на размеры элементарного звена. Показано, что молекулы воды в гидратированных полисахаридах могут быть собраны в кластеры с определённой поверхностью и формой и образуют "стопки" спиральной формы, симметрия которых соответствует симметрии цепей макромолекул. Такой тип гидратации характерен для высокоструктурированных материалов. Возможна также гидратация с образованием "плоских листков" молекул воды, что вызывает значительное расширение или сжатие материала и препятствует структурированию. В этом случае гидратационная вода расположена между слоями полисахаридов [11].

Структура воды вблизи фосфолипидных бислоёв имеет свои особенности. Оказалось, что ближайшие к поверхности бислоя молекулы воды образуют с полярными головками фосфолипидных молекул водородные связи. При этом часть молекул H_2O проникает внутрь слоя, образуемого полярными головками, а другая часть образует первый наружный слой связанной воды. Этот наружный слой, по существу, представляет собой адсорбировавшийся на поверхности монослой ориентированных молекул НО. Ориентация молекул воды задаётся фосфолипидной поверхностью. Однако поверхностный монослой воды не является полностью ориентированным, так как каждая молекула H_2O может образовать водородные связи в четырёх направлениях. Следовательно, в монослое присутствуют молекулы с четырьмя различными ориентациями по отношению к поверхности.

Машинные эксперименты показали, что молекулы первого монослоя довольно часто переориентируются, поворачиваясь вокруг оси, перпендикулярной поверхности фосфолипидного бислоя, и иногда переориентируются, поворачиваясь вокруг оси, параллельной поверхности. Ориентация и упорядоченность молекул воды в следующем после поверхностного монослое уже значительно менее выражена, в следующем слое ещё меньше и т.д. На расстоянии 12 - 15 A° (4 - 5 слоя H_2O) ориентация, задаваемая фосфолипидной поверхностью, уже никак не проявляется. На этих расстояниях вода уже ничем не отличается от обычной объёмной воды. Все слои связанной воды быстро (с частотой 10^4 c^{-1}) обмениваются между собой молекулами воды и достаточно медленно (с частотой 10^2 c^{-1}) обмениваются с объёмной водой [8, 25].

Углеводородные "хвосты" фосфолипидных молекул взаимодействуют с водой довольно необычным образом, это взаимодействие имеет специальное название - "гидрофобное взаимодействие". Физическая природа гидрофобного взаимодействия до конца ещё не выяснена. Любые углеводородные радикалы плохо растворяются в воде и стремятся избежать контакта с водой. Своеобразие гидрофобного взаимодействия состоит в том, что плохая растворимость углеводородов в воде обусловлена не повышением энергии системы (как в других случаях), а уменьшением энтропии. Поэтому с ростом температуры растворимость углеводородов уменьшается.

Необходимо отметить, что никаких специфических "гидрофобных" сил нет. Между молекулами H^2O и $(CH_2)_n$ действуют обычные ван-дер-ваальсовы силы. Но так как сами молекулы воды образуют определённую молекулярную структуру, то внедрение в эту структуру чужеродных молекул приводит к её изменению. По-видимому, молекулы углеводородов и углеводородные радикалы размещаются в пустотах водного каркаса и упорядочивают общую структуру, что, разумеется, приводит к уменьшению 'энтропии [8].

Гидрофобные эффекты влияют на формирование бислойной структуры биологических мембран. Существуют представления о ведущей роли гидрофобных взаимодействий в стабилизации натив-ной конформации глобулярных белков. Они основаны на том, что

взаимодействие различных групп белка с водой должно приводить к вытеснению гидрофобных аминокислотных остатков внутрь беловой глобулы с образованием там "гидрофобного ядра" и к преобладанию на её поверхности полярных остатков [41, 83]. Расчеты показывают [12], что для сферической глобулы с общим числом остатков более 120 и долей полярных аминокислот, равной 20%, вся поверхность глобулы должна быть заполнена полярными аминокислотными остатками. Однако такие расчёты не учитывают статистический характер распределения гидрофильных, гидрофобных и нейтральных групп в пределах макромолекулы, который должен определяться свободной энергией их переноса на поверхность или во внутреннюю часть глобулы.

Эксперименты показывают, что у многих глобулярных белков число неполярных, гидрофобных аминокислотных остатков на поверхности превышает их число внутри белка. Так, распределение неполярных аминокислотных остатков между поверхностными и внутренними областями белковых глобул составляет соответственно в папаине 57 и 38, в рибонуклеазе 27 и 16, в субтилизине 49 и 59, а в лизоциме 32 и 16, причём из поверхностных неполярных остатков лизоцима 8 находятся целиком в водной среде [88].

Нельзя не учитывать также и то, что и представления о наличии "гидрофобного ядра" внутри белковой глобулы [20] тоже не получили экспериментального подтверждения, хотя внутри макромолекул и обнаруживают несколько гидрофобных участков.

Вместе с тем, внутри белка присутствует и определённое количество молекул воды, вплоть до нескольких десятков, причём в ряде случаев их местоположение было установлено с помощью метода рентгеноструктурного анализа [71, 72, 87]. Вода внутри белковых глобул может выполнять различную роль, являясь либо неотъемлемым элементом их пространственной структуры, заполняющим какие-то свободные объёмы в её пределах [54], либо активно воздействуя на изменение конформации белка в ходе биологической реакции [27].

Внутренние молекулы воды могут связывать водородными связями области, которые иначе имели бы ненасыщенные связи. Например, в гемоглобине внутренние молекулы воды имеются на поверхности раздела между субъединицами, что стабилизирует связи между ними. Такие молекулы воды имеют значительно меньшую подвижность, чем молекулы вне поверхности белка [85]. Обычно применяемые методы сушки не приводят к её удалению. Так, после 48 часов сушки в вакууме (10^{-5} мм рт. ст.) белки теряют лишь около 1% своей массы. Более полное извлечение воды приводит к полной деструкции макромолекулы белка [73]. Имеются данные, что удаление воды из белков при действии глубокого вакуума (10^{-8}- 10^{-10} мм рт. ст.) вызывало частичную ипактивацию некоторых кристаллических ферментов. Хотя извлечь такую воду из сухого белка весьма трудно, что свидетельствует об отсутствии "каналов" для её выхода наружу, в водном окружении она способна к обмену [101]. От неё зависит движение боковых групп белковой макромолекулы и создание за счет этого свободных объёмов в подповерхностных слоях.

Подобный характер лабильности структуры белка необходим и для процессов диффузии лигандов в пределах белковых макромолекул, которые зависят от вязкости окружающей белок среды [58]. Диффузионный характер внутреннего движения в белках и появление в пределах макромолекул свободных объёмов, вмещающих молекулы воды, за счёт корреляции флуктуации движения отдельных молекулярных групп были непосредственно продемонстрированы методами численного моделирования молекулярной динамики белков [30, 86].

Наличие некоторого минимального количества воды в пределах макромолекул белков - необходимое условие для выполнения ими своих биологических функций. Этот факт не противоречит большому числу данных о близости структуры белков в водном растворе и в кристаллическом состоянии, поскольку они относятся к статической структуре белка, тогда как его функционирование связано с обязательным изменением конформации. Подобное требование выполняется именно в водной среде. Вода обусловливает так называемую динамическую структуру белка (конформационную подвижность белковой глобулы), которая является отражением его способности к регулированию биологических процессов. При этом имеет место двойственный характер воздействия на структуру макромолекул -стабилизирующий и разрыхляющий. Гидрофобные взаимодействия стабилизируют структуру глобулярных белков. Разрыхляющий эффект связан с конкуренцией молекул воды за водородные связи в пределах макромолекулы, о чём сообщалось выше.

Двойственная роль воды как стабилизирующая, так и разрыхляющая структуру проявляется также в макромолекулах ДНК. При малом содержании воды связи между макромолекулами ДНК, образующими двойную спираль, обладают максимальной прочностью, и для "плавления" такой спирали необходим нагрев образца при 55°С в течение длительного времени. Повышение относи-

тельной влажности P/P_0 до 0,3 и более приводит к резкому возрастанию скорости процесса, очевидно, за счёт того, что при увеличении содержания воды начинают проявляться эффекты конкуренции за водородные связи, максимальное дестабилизирующее воздействие которых на двойную спираль достигается при $P/P_0 = 0,66$ [38]. Но уже дальнейшее увеличение относительной влажности даёт обратный эффект: всё большее уменьшение скорости "плавления" двойной спирали, по-видимому, вследствие того, что появляются молекулы воды извне макромолекул, способные участвовать в стабилизации таких структур. Предполагается, что появление таких группировок молекул воды, связанных водородными связями, обусловливает и возникновение гидрофобных эффектов [38].

Подобные двойственные эффекты воды наблюдаются и на клеточном уровне, где скорость гибели микроорганизмов, хранившихся при различной относительной влажности, имеет максимум примерно при тех же промежуточных значениях влажности [38].

Таким образом, взаимодействие в системе биополимер - вода не ограничивается односторонним воздействием макромолекулы на структуру воды. Можно считать, что и воздействие воды на макромолекулы в значительной степени определяет физико-химические свойства последних, изменяя их конформацию, а вследствие этого и функции [26, 39, 75, 88]. Вместе с тем, имеется ряд работ, в которых мнение о стабилизирующем влиянии воды на структуру белков подвергается критике [15, 52, 80]. Некоторые авторы отмечают, что воздействие со стороны воды далеко не достаточно для стабилизации структуры белков [39, 100], при этом указывают на отсутствие корреляции между фактором гидрофобности и термостабильностью белков [82, 100]. Данные противоречия, как считает С.А. Аксёнов [3], обусловлены ограниченными возможностями использованных методов исследования и их некорректной интерпретацией.

Анализ результатов работ, посвящённых вопросу о состоянии воды в модельных, биологических и других дисперсных системах, приводит к выводу, что вблизи молекул растворённых вещее гн пли вблизи любой другой границы нарушаются свойства водородных связей между соседними молекулами воды. Вода, неспособная замкнуть все 4 водородные связи из-за взаимодействий с другими частицами, - связанная вода - изменяет свою структуру и свойства. Она не вымораживается при охлаждении и не плавится при последующем подогреве. Связанная вода обладает меньшей упругостью пара, меньшей диэлектрической проницаемостью, меньшей сжимаемостью, большей плотностью [33, 91]. Эти изменения выражены тем сильнее, чем правильнее ориентированы молекулы воды, чем больше силы, связывающие их. Поэтому они наиболее выражены у воды мономолекулярного слоя и ослабляются по мере удаления молекул воды от гидратируемых частиц [25, 29, 70].

В связи с особыми физико-химическими свойствами связанной воды существуют различные термины для её определения: иммобилизованная, невымораживаемая, гидратная, организованная, упорядоченная, конституционная, адсорбированная. Происхождение каждого из этих терминов зависит от теоретических предпосылок или от методов исследования. Поэтому они не всегда являются синонимами. Так, количество незамерзающей воды зависит от подвижности макромолекул и от размеров промежутков между ними. "Связанная вода" - термин, получивший наибольшее распространение для описания ассоциированной воды. "Объёмная", или "свободная" вода, представляет ту часть воды, которая не ассоциирована с другими веществами и сохраняет все свойства чистой воды.

Следует подчеркнуть, что в отношении количественного содержания связанной воды имеются довольно противоречивые сведения. Так, К. Раш [93] считает, что доля связанной воды в клетке невелика. По мнению Э. Робертис с соавт. [44], на долю связанной воды приходится 4 - 5% всей воды, по мнению других, - 10 - 16% [40].

P. Belton, K. Packer, F. Sellwood [66a] обнаружили в мышце лягушки 20% воды в связанном состоянии. B. Fung с соавт. [79] методом ЯМР - спектроскопии показали, что в мышце крысы на долю воды, не замерзающей при 8 - 10°С, приходится 7 - 12%. А по данным Э. М. Герасименко, проводившей исследования дилатометрическим методом, на долю связанной воды в мышце крысы приходится 15,6% [23]. Г.П. Щелкунова обнаружила, что в головном мозге крыс уровень связанной воды составляет 14,5% [61], по данным Р. А. Сахановой - 18,8% [48, 49].

Ряд авторов высказывают предположение о существовании двух фракций связанной воды - прочносвязанной и слабосвязанной [2, 31, 66, 91]. Следует подчеркнуть произвольность такого разделения. Оно используется, в основном, для удобства и в какой-то мере отражает экспериментальный метод, применяемый для исследования системы.

В оценке количества связанной воды на молекулярном уровне также существуют две точки зрения. Согласно одной из них, стабилизирующее влияние макромолекул распространяется на значительное расстояние (порядка нескольких слоев молекул воды) от поверхности растворённой молекулы [67, 75]. Вторая точка зрения сводится к тому, что жёстко связанной с биомакромолекулами воды относительно немного - порядка одного-двух молекулярных слоев [40, 52, 85].

J. Bernal считает, что на поверхности белковых частиц структура воды высокой степени организации достигает иногда в толщину 10-20А°, что составляет до 30% массы всей гидратированной белковой молекулы. За этой зоной, на расстоянии до 100А°, молекулы воды всё ещё остаются до некоторой степени ориентированными, так что, если даже среди них и присутствуют ионы, то перемещаться совершенно свободно они не могут [67].

W.A.P. Luck [90] методом ИК-спектроскопии на полисахаридах доказал существование двух гидратационных слоев воды с относительной влажностью полимеров соответственно до 50 и 98%.

Другие авторы утверждают, что для связывания воды полярными центрами достаточно 0,27 г воды на 1 г белка, а для полного покрытия поверхности макромолекулы - 0,38 г/г белка (примерно 300 молекул H_20 на молекулу белка) [42]. Таким образом, процесс идёт ступенчато. Поскольку расположение воды вблизи гидрофобной поверхности энергетически невыгодно, то она появляется там, по-видимому, уже после образования объёмной воды над гидрофильно связанной [63, 64].

Ю.И. Хургиным высказана точка зрения, что, так как центры гидратации на поверхности глобулярных белков располагаются нерегулярно, эти центры могут служить матрицей для распространения в толщу воды регулярной структуры лишь для одного-двух молекулярных слоев воды [57].

Сопоставление результатов исследований процесса гидратации белка затруднено, так как концепция гидратационной воды рассматривается с различных точек зрения в соответствии с интересами исследователей и характером использованных экспериментов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Айзенхабер Ф., Аджубей А. А. Гидратация левой спирали типа поли-Ь-пролин // Биофизика. - 1992. - Т. 37, вып. 1. - С. 62-67.
2. Аксенов С. И. Вода и ее роль в регуляции биологических процессов. -М.: Наука, 1990. - 115 с.
3. Аксенов С. И. Особенности воздействия воды на состояние биологических структур. - Торможение жизнедеятельности клеток.-Рига, 1987.-С. 55-71..
4. Андроникашвили Э. Л., Ройнишвили Е. Ю., Хечинашви- ли Н. Н. Калориметрическое исследование возможности фазо вых превращений в биологических тканях при низких темпера турах // Биофизика. - 1970. - Т. 15, вып. 3. С. 292-297.
5. Антонченко В. Я. Физика воды. Киев: Наукова Думка, 1986.-126 с.
6. Аскоченская Н. А., Петинов Н. С. Структура воды и ее роль в биологических системах // Успехи соврем, биол. - 1972. - Т. 73, вып. 2.-С. 288-297.
7. Афанасьев В. Л., Квилидзе В. А., Маленков Д. Г. Исследования некоторых клатратных гидратов методом *ЯМ?//* АН СССР. -1968. - Т. 183, № 2. - С. 360-368.
8. Белая М. Л., Левадный В. Г. Молекулярная структура воды. - М.: Знание, 1987. - 120 с.
9. Бернал Дж. Роль воды в кристаллических веществах // Успехи химии. - 1956. - Т. 25. - С. 1647-1652.
10. Бинги В. Н. Дефекты структуры жидкой воды в магнитном и электрическом полях // Биомед. радиоэлектрон. -1998. - № 2. - С. 7-12.
11. Блюм Т., Десланде И., Марешесо Р. Новое понимание гидратации кристаллической структуры полисахаридов. // Вода в полимерах. Пер. с англ. / Под ред. С. Роуленда. - М.: Мир, 1984. -С. 225-272.
12. Брандтс Дж. Ф. Конформационные переходы белков в воде и смешанных водных растворителях.- Структура и стабильность биологических макромолекул. - М.: Наука, 1973. - С. 174-254.
13. Букин В. А. Акустическое исследование гидратации нуклеиновых кислот. - Дис... канд. физ.-мат. наук. - Пущино, 1983.-250 с.
14. Бульенков Н. А. О возможной роли гидратации как ведущего интеграционного фактора в организме биосистем на различных уровнях их иерархии // Биофизика. - 1991. - Т. 36, вып. 2. - С. 181-243.
15. Бур штейн Э. А. Собственная люминесценция белков. Природа и применение // Биофизика. - 1977. - Т. 7. - С. 7-187.
16. Буслаева М. Н., Самойлов О. Я. Термодинамическое исследование стабилизации структуры воды молекулами неэлектролитов // Структурная химия. - 1963. - Т. 4, № 4. - С. 502-682.
17. Вайнштейн Б. К. Современная кристаллография. - М.: Наука, 1979.-Т. 2.-354 с.
18. Вайсман И. Ш. Мембранная структура клеток // Успехи со-времен. биол. - 1966. - Т. 61, вып. 3. - С. 395-398.
19. Вдовенко В. М., Гуриков Ю. В., Легин Е. Г. Исследования по применению двухструктурной модели к изучению состояния воды в водных растворах. - Л.: Изд-во Ленинградского Университета, 1966. - 124 с.
20. Волькенштейн М. В. Молекулярная биофизика. - М.: Наука, 1975.-616 с.
21. Габуда С. П. Связанная вода: факты и гипотезы. - Новосибирск, 1982.-159 с.
22. Гайдук В. Н. Вода, излучение, жизнь. - М.: Знание,1991. - 64 с.
23. Герасименко Э. М. Возрастное распределение свободной и связанной воды в органах и крови крыс при различных тепловых режимах: Дис... канд. биол. наук: - Ташкент, 1983. - 165 с.
24. Глебов А. Н., Буданов А. Р. Структурно-динамические свойства водных растворов электролитов // Сорос, общеобразов. журн.- 1996.-№ 9.-С. 12-78.
25. Дерягин Б. В., Чураев Н. В., Муллер В. М. Поверхностные силы.-М.: Наука, 1987.-204 с.
26. Есипова Н. Г., Чиргадзе Ю. Н. О роли воды в структуре фибриллярных белков и полипептидов. - М.: Наука, 1967. - С. 60-70.
27. Жуковский А. П., Ровнов Н. В., Сорвин С. В., Петров Л. Н., Вукс Е. М. Изменение конформации белков в водных растворах гетерофункциональных неэлектролитов // Биофизика. - 1999. -Т. 44, вып. 3.-С. 407-411.
28. Зацепина Г. Н. Физические свойства и структура воды. -М.: Изд-во МГУ, 1987. - 171 с.

29. Зинченко А. В., Моисеев В. А. Изучение связывания воды некоторыми биополимерами // Криобиология и криомедицина. -1980.- Вып. 6.-С. 16-18.

30. Карплус М., Росски П. Сольватация: исследование молекулярной динамики дипептидов в воде. // Вода в полимерах. Пер. с англ. / Под ред. С. Роуленда. - М.: Мир, 1984. - С. 31-50.

31. Кенич С. Динамика взаимодействия в системе вода - белок. Результаты, полученные из измерений дисперсии ЯМР. // Вода в полимерах. Пер. с англ. / Под ред. С. Роуленда. - М.: Мир, 1984. -С. 159-184.

32. Кисловский Л. Д. О стабилизации активных комплексов в додекаэдрических структурах воды. Физико-химический и биологический аспекты проблемы. В сб. "Структура и роль воды в живом организме". - Л.: Изд-во Ленинградского Университета, 1966.-С. 100-103.

33. Королев В. А. Связанная вода в горных породах: новые факты и проблемы // Сорос, общеобразов. журн. - 1996. - № 9. - С. 79-85.

34. Медведев П. М., Фисанович Т. И. Структура воды в клетке // Пробл. гематол. и перелив, крови. - 1975. - Т. 20, № 4. - С. 38-43.

35. Мревтишвили Г. М., Привалов П. Л. Исследование гидратации макромолекул калориметрическим методом. В сб. "Состояние и роль воды в биологических объектах"[4]. - М.: Наука, 1967. -С. 87-92

36. Наберухин Ю. И. Что такое структура жидкости? // Журн. структур, хим. - 1981. - Т. 22, № 6. - С. 62-80.

37. Никитин С. Я. Акустические свойства биологических объектов. - Пущино: Институт биофизики АН СССР, 1984. - С. 25-26.

38. Новиков И. А., Сухоруков Б. И. Исследование роли воды в тепловой нестабильности ДНК // Мол. биол. - 1977. - Т. И. -С. 521-530.

39. Привалов П. Л. Стабильность белков и гидрофобные взаимодействия // Биофизика. - 1987. - Т. 32. - С. 742-760.

40. Привалов П. Л., Мревлишвили Г. М. Гидратация молекул в нативном и денатурированном состоянии // Биофизика. - 1967. -Т. 12, вып. 1.-С. 22-29.

41. Пчелкин В. А., Волынская А. В., Измайлова В. Н. Внутренняя гидрофобная структура белков по данным солюбилизации углеводов. Сывороточный альбумин человека // ДАН СССР. - 1969. -Т. 186, № 1.-С. 139-146.

42. Рапли Д., Янг П., Толлин Г. Исследование термодинамических и других параметров взаимодействия воды с белками. - Вода в полимерах. Пер. с англ. / Под ред. С. Роуленда. - М.: Мир, 1984. -С. 114-136.

43. Рахманин Ю. А., Кондратов В. К. Вода - космическое явление. - М.: РАЕН, 2002. - 427 с.

44. Робертис Э., Новинский В., Саэс Ф. Биология клетки. -М.: Мир, 1973.-520 с.

45. Самойлов О. Я. Общие вопросы теории гидратации ионов в водных растворах. В сб. "Состояние и роль воды в биологических объектах". - М.: Наука, 1967. - С. 28-43.

46. Самойлов О. Я. Структурные особенности воды // Журн. структур, хим. - 1965. - № 5. - С. 6-8.

47. Сарвазян А. П., Харакоз Д. П. Молекулярная и клеточная биофизика. - М.: Наука, 1977. - С. 93-106.

48. Саханова Р. А. Новый дилатометрический метод коли чественного определения свободной и связанной воды. Изуче ние влияния гипо-, гипертермии и адаптации к ним на состоя- ние воды в тканях животных. - Дис... канд. биол. наук: - Смоленск, 1974.- 137 с.

49. Саханова Р. А., Лебедева А. Г., Любовицкая Г. И. Сотношение свободной и связанной воды в мышцах в онтогенезе. Структурно-функциональные основы нервных и психических заболеваний. - Смоленск, 1983. - С. 61-64.

50. Сетлоу Р., Поллард Э. Молекулярная биофизика. - М.: I Ia-ука, 1964.-141 с.

51. Синюков В. В. Вода известная и неизвестная. - М.: Знание, 1987.-132 с.

52. Суздалев И. П. Гамма-резонансная спектроскопия белков и модельных соединений. - М.: Наука, 1988. - 262 с.

53. Тринчер К. С. Структурно-связанная вода в биологических макромолекулах // Успехи соврем, биол. - 1966. - Т. 61, № 3. - С. 90-96.

54. Федоров Б. В., Федоров Б. Л. Влияние функциональных молекул воды на функциональные свойства поверхностных глобулярных белков // Биофизика. - 1993. - Т. 38, вып. 4. - С. 611-618.

55. Халоимов А. И., Сидорова А. И. Влияние малых добавок неэлектролитов на* инфракрасный спектр воды // Биофизика. -1970. - Т. 15, вып. 2. - С. 45-48.

56. Харакоз Д. П. Исследование сжимаемости белков и аминокислот в растворах акустическим методом. - Дис... канд. биол. Наук. - Пущино, 1983. - 240 с.

57. Хургин Ю. И. Гидратация глобулярных белков // Журн. Все-союзн. хим. общ-ва им. Д. И. Менделеева. - 1976. - Т. 21. - С. 684-690.

58. Шайтан К. В., Рубин А. Б. Стохастическая ДИНАМИКА И электронно-конформационные взаимодействия в белках // Биофизика. - 1985. - Т. 30. - С. 517-526.

59. Шефер Д., Кефер К. Фракталы в физике. - М.: Наука, 1988.-62 с.

60. Шильников Г. В., Приев А. И., Ахмедов А. И. Объемно-упругие свойства водных растворов некоторых углеводов // Биофизика. - 1991. - Т. 36, вып. 2. - С. 276-280.

61. Щелкунова Г. П. Количественные изменения общей, свободной и связанной воды в головном мозгу крыс и кроликов при его "отеке - набухании" до и после дегидратирующей терапии: Дис... канд. мед. наук. - Смоленск, 1977. - 213 с.

62. Эльпинер И. Е., Цейтлин П. И., Садыхова С. Х. О скорости распространения ультразвуковых волн в водных растворах нуклеиновых кислот// Биофизика. - 1970. -Т. 15, ВЫЛ. 3. - С. 396-401.

63. Юхневич Г. В. ИК-спсктроскопия коды. М.: Наука, 1973.-208 с.

64. Aksynov S. I. On the state of water in biological systems. Evaluation of method of its investigations // Water and ions in biological systems. - N. Y. - 1985. - P. 687-696.

65. Allan B., Norman R. The characters of liquids in contact with high surface area materials // Ann. N.Y. Acad Sci. - 1973. - P. 1028—1043.

66. Andronikashvili E. L., Mrevlishvili F. V., Mosulishvili L. M. Hadration and metal ions in the carcinogenesis mechanisms // Water and ions in biological systems. - Bucharest. - 1985. - 159 p.

66a Belton P. S., Parker K. J., Sellwood T. S. Pulsed N.M.R. Studies of water in straited muscle 3. The effect of water content // Biochem. et biophis. Acta. - 1974. - Vol. 354, № 2. - P. 305-314.

67. Bemal J. The structure of water and its biological implications // Simp. Soc. Exp. Biol. - 1965. -Vol. 19. -P. 17-31.

68. Bernal J., Fowler R.. A theory of water and ionic solution with particular reference to hydrogen and hydroxylV/J.Chem.Phys. - 1933. - Vol.1,№ 8 - 5 1 5 p .

69. Berne B. J., Pecora R. Dynamic Light Scattering.- Wiley, N.Y.-1976.-204 p.

70. Bettlhein Alis F. A. Non - freesing water in protein solution // Colloid and Polim. Sci. - 1985. - Vol. 263, № 5. - P. 3966-3980.

71. Birktoft I., Blow D. W. Structure of crystalline ?-chymotrypsin V The atomic structure of tosyl -?-chymotrypsin at 2 A resolution // J. Mol. Biol. - 1972. - Vol. 68. - P. 187-240.

72. Blears D. J., Danyluk S. S. Proton wide line NMR spectra of hydrated proteins // Biochim. et Biophys. acta. - 1968. - Vol. 154. -P. 17-27.

73. Bull H. B., Breese K. Concentrations and partial volumes of proteins //Arch. Biochem. and Biophys. - 1979. - Vol. 197. - P. 199-204.

74. Cooke R., Kuntz I. D. Ann. Rev. Biophys. Bioeng. - 1974. -№3.-P. 95-108.

75. Drost - Hansen W. Phase Transition in biological systems: manifistations of Cooperative processes in vicinal water // Ann. N.Y. Acad. Sci. - 1973. -Vol. 204. - P. 100-108.

76. Eisenberg D., Kauzmann W. The Structure and Properties of Water. - Oxford, U.P., N.Y, 1969. - P. 90-91.

77. Fletcher N. H. The Chemical Physics of Ice. - Cambridge. -1970.-299 p.
78. FrankH.,QuistA. Pauling model and the thermodynamic properties of water // Chemic. Physiol. - 1961. - Vol. 34, № 2. - P. 405 415.
79. Fung B. M., Mc Cianghy T. W. The state of water in muscle as studied by pulsed N.M.R. // Biochem. Biophis. Acta. - 1974. -Vol. 343.-P. 663-673.
80. Gardetsky O., Roberts G. S. K. N.M.R. in molecular biology / / Acad. Press. N. Y - 1981. - 681 p.
81. Gareri G. G., Gratton E., Yang P. H., Rupley Y A. Protein -Water interactions. Correlation of Infrared Spectroscopic Heat Capacity, Diamagnetic Susceptibility and Enzimatic Measurements of lysozyme Powders. - Washington. - 1979. - 527 p.
82. Grant E. N., Sheppard R. J., South G. R. Dielectic behavior of biological macromolecules in solutions // Claredon press. 1978. -234 p.
83. Hagler A., Scheraga H., Nemethy G. Current status of the water structure problem; application to protein // Ann. N.Y. Acad. Sci. -1973.- Vol. 204.-P. 51-75.
84. Jacobson B., Anderson W., Arnold J. A protein magnetic resonance study of the hydration of dezoxyribonucleic acid // Nature. -1953.- Vol. 173.-P. 772-781.
85. Jensen L. H. The structure of water in protein crystals // Biol. Prod. Freese - Drying and Formulat.: Proc. Symp., Bethesda Md. -Basel.- 1992.-P. 53-61.
86. Karplus M., Mc Cammon J. Dynamics of proteins elements and functions //Ann. Rev. Biochem. - 1983. - Vol. 53. - P. 263-300.
87. Kauzmann W., Moore K., Sculz D. Protein densities from X-ray crystallographic coordinates // Nature. - 1974. - Vol.248. - P. 447-449.
88. Klotz I. M. Comparison of molecular structure of proteins helix content, distribution of apolar residues //Arch. Biochem. and Bio-phys. - 1970. -Vol. 138. - P. 704-706.
89. Ling G. N. Studies of the physical state of water in the living cells and model systems Theoretical significance of a straight line relationship between intracellular concentration of a partially excluded so lite and its concentration in the bathing medium // Physiol. Chem. and Med. N.M.R. - 1988. - Vol. 20, № 4. - P. 281-292.
90. Luck W.A.P. Structure of water and Aqueous Solutions, Ver-lag Chemie // Phisik Verlag, Weinheim. - 1974. - P. 222-248.
91. Nagashima, Nobuga, Suruki, Eiichiro, Tsuboi, Magamichi The number of water molecules bound to insulin // Bull. Chem. Soc. Jap. -1984. - Vol. 57, № 5. - P. 1409-1410.
92. Nemethy G., Scheraga H. Structure of water and hydrophobic bonding in proteins. Pt.l. A model of the thermodynamik properties of liquid water // J.Chem. Phys. - 1962. - Vol. 36, № 12. - 340 p.
93. Pain R. H. Molecular Hydration and Biological Function // Hoppe - Seyler's Z. Phyziol. Chem. - 1981. - Vol. 362, № 9. -P. 1179-1180.
94. Pauling L. A molecular theory of general anaestesia // Sci-ens. - 1961. -Vol. 134.-147 p.
95. Pauling L. The Nature of the Chemical Bond //Cornell University Press. - Ithaca, New York, 1960. - P. 102-141.
96. Raud R. P. Raising water to New Heights // Scienc. - 1992. -Vol. 256, № 5057. - P. 618-701.
97. Rossky P. J., Karplus M., Rahman A. Biopolymers. - 1979. -№ 18.-P. 825-831.
98. Scheraga H. The effect of solates on the structure of water and its implication for protein structure //Ann. N. Y. Acad. Sciens. - 1965. -Art. 2.-125 p.
99. Stanley H. E. Introduction to Phase Transitions and Critical Phenomena.-Oxford, U.P., N.Y, 1971. - P. 12-15.
100. Tanford C. The hydrophobic effect. 2-hd ed., N. Y: Wiley In-terscience. - 1980. - 233 p.
101. Weber B. H., Storm M. C, Boyer P. D. An assessement ofexchangeability of water molecules on the interior of chymotrypsino-gen in solutions //Arch. Biochem. and Biophys. - 1974. - Vol. 163. - P. 1-6.

Смоленская государственная медицинская академия, кафедра общей химии