

УДК 544.72

## ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ И ДОКСОРУБИЦИНА НА КЛАСТЕРИЗАЦИЮ ВОДЫ, СВЯЗАННОЙ ДНК

В.В. Туров<sup>1\*</sup>, В.Ф. Чехун<sup>2</sup>, В.М. Гунько<sup>1</sup>, В.Н. Барвинченко<sup>1</sup>, С.В. Чехун<sup>1</sup>, А.В. Туров<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины  
ул. Генерала Наумова 17, Киев 03164, Украина

<sup>2</sup>Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого  
Национальной академии наук Украины  
ул. Васильковская 45, Киев 03022, Украина

<sup>3</sup>Киевский Национальный университет имени Тараса Шевченко  
ул. Владимирская 62а, Киев 01033, Украина

*Показано, что вода в ДНК находится в нескольких кластерных состояниях, соответствующих сильноассоциированной (SAW), двум типам слабоассоциированной (WAW) и кристаллизационной воде, связанной с основными центрами. Слабополярная среда хлороформа стабилизирует слабоассоциированные формы воды, в то время как добавки полярного ДМСО препятствуют формированию одного из типов WAW. Интеркалирование гидратированных молекул ДНК доксорубицином уменьшает количество WAW и увеличивает количество SAW.*

### ВВЕДЕНИЕ

Вскоре после открытия Уотсоном и Криком спиралевидной структуры ДНК [1] было обнаружено, что большую роль в стабилизации ее структуры играет вода, образующая водородные связи с протоно- и электронодонорными центрами биомолекул. Так, было показано, что ДНК может трансформироваться из А- в В-конформацию при увеличении содержания воды. Позже были обнаружены и другие конформации молекулы ДНК (С, D, Z), которые характеризуются разным взаимодействием между смежными цепочками ДНК и зависят от гидратации ее молекул. ДНК в разных конформациях подробно изучались методами дифракции рентгеновских лучей и рассеяния медленных нейтронов [2, 3]. Фосфатные и азотсодержащие группы ДНК ответственны за формирование Н-комплексов с молекулами воды, что является обязательным условием стабильного состояния макромолекул [4–6]. Эту воду можно считать кристаллизационной, т.е. принимающей участие в формировании кристаллической структуры ДНК [2, 3, 5]. Близко расположенные молекулы кристаллизационной воды могут участвовать в самоассоциативных процессах, т.е.

формировать самоассоциаты или небольшие кластеры. В биологических жидкостях и в живых объектах молекулы ДНК способны связывать значительное количество воды, которая взаимодействует с полярными и заряженными группами, расположенными на внешней поверхности биомолекул. Однако парные Н-связи между комплементарными парами нуклеотидов довольно прочны, поэтому структура ДНК стабильна в воде до определенных температур [7–12].

Как было показано ранее [13–16], метод низкотемпературной <sup>1</sup>Н ЯМР-спектроскопии с вымораживанием жидкой фазы позволяет рассчитывать количество связанной воды, ее термодинамические характеристики, а также распределение по размерам заполненных водой наноразмерных полостей в макромолекулах. Величина химического сдвига атомов водорода ( $\delta_H$ ) в связанной воде позволяет определить среднее число Н-связей на молекулу воды. Поскольку для неассоциированной воды (газовая фаза, раствор в слабополярном растворителе)  $\delta_H = 1-1,5$  м.д., а для льда  $\delta_H = 7$  м.д. [17], можно заключить, что формирование одной Н-связи для H<sub>2</sub>O в качестве протонодонора приводит к увеличению  $\delta_H$  на 2,7 м.д. Исследования различных объектов [13, 14] пока-

\* "Контактный" автор v\_turov@ukr.net

зали, что при определенном гидрофобно-гидрофильном балансе функциональных групп на поверхности вода может переходить в слабоассоциированное состояние при  $\delta_H = 1-2$  м.д. В этом состоянии среднее число Н-связей, приходящихся на каждую молекулу воды, не превышает 2 (из 4 возможных) и/или строение Н-связей является сильно искаженным по сравнению с объемной водой, поскольку уменьшение угла О-Н...О приводит к увеличению магнитного экранирования протонов [13, 14, 16]. Оказалось, что такая вода довольно широко распространена в природе. Она регистрируется в частично обезвоженных дрожжевых клетках, клетках костного мозга, семенах растений, губчатой составляющей костной ткани и других биообъектах [13, 14].

Поскольку именно через слой связанной воды осуществляется взаимодействие молекул ДНК с ферментами и другими участниками процесса транскрипции, а также с низкомолекулярными молекулами, в том числе токсинами и лекарственными веществами, влияющими на этот процесс, большой интерес представляет изучение строения гидратной "шубы" молекул ДНК и того воздействия, которое оказывают соединения, способные проникать внутрь полинуклеотида по механизму интеркалирования [18, 19]. В качестве такого интеркалирующего агента нами был выбран доксорубин (Dox), являющийся эффективным препаратом при лечении ряда онкологических заболеваний вследствие его специфических взаимодействий с ДНК [20, 21].

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Материалы.** Для исследований был выбран препарат лиофилизированной ДНК, выделенной из молок лососевых рыб (Sigma). Для ЯМР исследований навеску ДНК (140–170 мг) помещали в емкость (10 см<sup>3</sup>), в которую добавляли требуемое количество дистиллированной воды. Препарат уравнивали водой, после чего переносили в измерительную ЯМР ампулу диаметром 5 мм, в которой выдерживали не менее 30 мин для установления равновесия. При использовании органических сред в измерительную ампулу добавляли требуемое количество дейтерохлороформа и/или дейтеродиметилсульфоксида (ДМСО). Интеркалирование ДНК доксорубином (Sinbias Pharma Ltd.) проводили из смешанной среды CDCl<sub>3</sub>+ДМСО-d<sub>6</sub> после растворения Dox в ДМСО.

**<sup>1</sup>Н ЯМР-спектроскопия.** Спектры ЯМР снимали на ЯМР-спектрометре высокого разрешения Varian Mercury 400 с рабочей частотой 400 МГц. Температуру регулировали с точностью  $\pm 1$  К, используя термоприставку Bruker VT-1000. Для предотвращения переохлаждения суспензий спектры <sup>1</sup>Н ЯМР незамерзающей воды записывали при нагревании суспензий, предварительно охлажденных до температуры 210 К.

Способ определения характеристик межфазных слоев воды с помощью <sup>1</sup>Н ЯМР-спектроскопии подробно изложен в [13–16]. Он базируется на влиянии межфазной границы на температуру фазового перехода вода–лед. Благодаря адсорбционным взаимодействиям температура замерзания воды на границах раздела понижена. Свободная энергия льда с понижением температуры изменяется по линейному закону [22]

$$\Delta G = -0.036(273 - T). \quad (1)$$

Для водных растворов органических соединений формула (1) справедлива в предположение, что термодинамические параметры гексагонального льда не зависят от присутствия жидкой водно-органической фазы. Площадь, ограниченная кривой  $\Delta G(C_{uw})$  ( $C_{uw}(T)$  – температурная зависимость концентрации незамерзшей воды), определяет величину межфазной энергии ( $\gamma_s$ ), которая равна модулю суммарного понижения свободной энергии воды, обусловленного присутствием границы раздела фаз

$$\gamma_s = -K \int_0^{C_{uw}^{\max}} \Delta G(C_{uw}) dC_{uw}, \quad (2)$$

где  $C_{uw}^{\max}$  – общее количество незамерзающей воды при  $T = 273$  К.

На зависимостях  $\Delta G(C_{uw})$  обычно могут быть выделены участки, относящиеся к слабосвязанной (WBW) и сильносвязанной (SBW) воде. При этом под WBW понимают ту часть незамерзающей воды, свободная энергия которой лишь немного понижена ( $-\Delta G \leq 0,5-0,8$  кДж/моль) в результате адсорбционных взаимодействий и замерзает она при  $T > 250-260$  К. SBW ( $-\Delta G > 0,8$  кДж/моль) может не замерзать даже при сильном охлаждении суспензии [14, 15]. Количественные ( $C_{uw}^s$  и  $C_{uw}^w$  для SBW и WBW, соответственно) и энергетические

( $\Delta G^s$  и  $\Delta G^w$ ) характеристики слоев связанной воды могут быть получены экстраполяцией соответствующих участков зависимостей к осям абсцисс и ординат. По способности молекул связанной воды образовывать водородные связи со своими соседями она подразделяется на сильно- (SAW при  $\delta_H > 3$  м.д. для 3D-структур) и слабоассоциированную (WAW при  $\delta_H = 1-2$  м.д. для низкоразмерных 1D- и 2D-структур воды). В случае, когда процесс перехода воды в слабоассоциированное состояние энергетически выгоден ( $-\Delta G > 0,8$  кДж/моль), она является сильносвязанной и замерзает при очень низкой температуре.

Процесс замерзания воды во внутриклеточных полостях или карманах в макромолекулах может быть описан уравнением Гиббса-Томсона [13, 14]

$$\Delta T_m = T_m(R) - T_{m,\infty} = \frac{2\sigma_{sl}T_{m,\infty}}{\Delta H_f \rho R} = \frac{k}{R}, \quad (3)$$

где  $T_m(R)$  – температура плавления льда, локализованного в порах (пустотах) радиусом  $R$ ,  $T_{m,\infty}$  – температура плавления объемного льда,  $\rho$  – плотность твердой фазы,  $\sigma_{sl}$  – энергия взаимодействия твердого тела с жидкостью (посредством водородных связей),  $\Delta H_f$  – объемная энтальпия плавления и  $k$  – константа. Это уравнение может быть использовано для расчета распределений по размерам пор (заполненных связанной водой пустот) на основе зависимостей  $C_{iw}(T)$ . Зависимость  $\Delta G(C_{iw})$  может быть преобразована в распределение незамерзающей воды по изменениям свободной энергии Гиббса  $\Delta C_{iw}(\Delta G)$ , где  $\Delta C_{iw}$  – инкрементальная функция температуры.

Квантово-химические расчеты были проведены методом РМ6 [23]. Начальную геометрию систем рассчитывали методом молекулярной механики (ММ) с силовым полем CHARMM, используя программу VEGA ZZ 2.3.1.2 [24], а затем оптимизировали методом РМ6 (алгоритм MOZYME). ЯМР спектры рассчитывали, используя корреляционное уравнение [16]

$$\delta_{H,w} = -27,97889 + q_H \times 87,56668 \text{ (м.д.)}, \quad (4)$$

где  $q_H$  – заряд (РМ6) атомов Н, и уравнение для распределения

$$f(\delta_H) = (2\pi\sigma^2)^{-0.5} \sum_j \exp[-(\delta_j - \delta_H)^2 / 2\sigma^2], \quad (5)$$

где  $j$  – номер атома Н в системе,  $\sigma^2$  – дисперсия распределения,  $\delta_j$  – химический сдвиг  $j$ -того атома Н в системе [14].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1а приведены спектры  $^1\text{H}$  ЯМР воды, связанной в порошке кристаллической ДНК ( $C_{\text{H}_2\text{O}} = 5\%$  мас.), при разных температурах. Связанная вода наблюдается в виде широкого одиночного сигнала SAW (с вкладами как WBW, так и SBW) почти гауссовской формы, интенсивность которого уменьшается с понижением температуры так, что он практически исчезает при 220 К. Большая ширина сигнала обусловлена как малой подвижностью связанных молекул воды, так и неоднородным уширением спектров ЯМР, обусловленным значительными отличиями в диамагнитных восприимчивостях ДНК и воздушной среды [25]. В водной среде (25% гель ДНК) ширина сигналов существенно уменьшается (рис. 1б) и появляются несколько сигналов незамерзающей воды. Сигналы с химическим сдвигом  $\delta_H > 4$  м.д. относятся к сильноассоциированной воде; при  $\delta < 2$  м.д. – к слабоассоциированной воде, а при  $\delta = 3-4$  м.д. к воде (ASW), образующей Н-связи с электронодонорными центрами молекул ДНК [16]. Следует отметить, что в кластерных 2D-циклических структурах воды половина атомов Н не образует водородных связей, поэтому такие структуры характеризуются химическим сдвигом, усредненным между сигналами, соответствующими WAW (атомы Н без Н-связей), так и SAW (атомы Н, участвующие в Н-связях). На рис. 2 показаны температурные зависимости концентрации разных форм незамерзающей воды в гидратированном порошке и геле ДНК.

Регистрация нескольких сигналов воды свидетельствует о медленном (в шкале времени ЯМР) молекулярном обмене [25] между молекулами воды, участвующими в формировании структур (кластеров) разных типов. Построенные на основе зависимостей концентрации разных типов межфазной воды от температуры (рис. 1а), распределения незамерзающей воды по изменениям свободной энергии Гиббса (рис. 3а) и радиусам структур (рис. 3б) показывают, что значительная часть SAW соответствует структурам, размеры которых превосходят ширину двойной спирали ДНК (2,4 нм) [26]. Другими словами, преимущественно SAW не может быть отнесена к кристаллизационной воде.

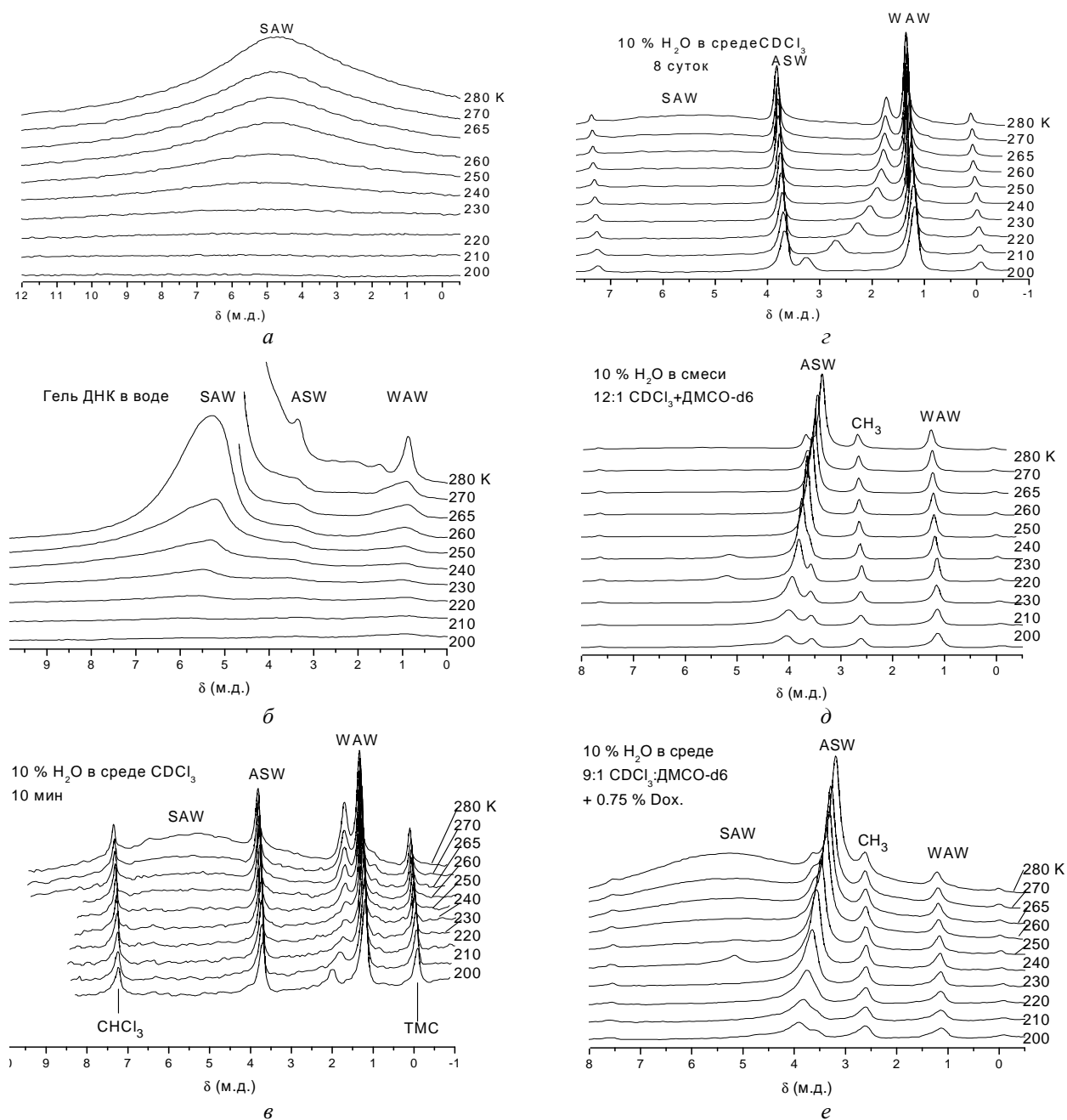
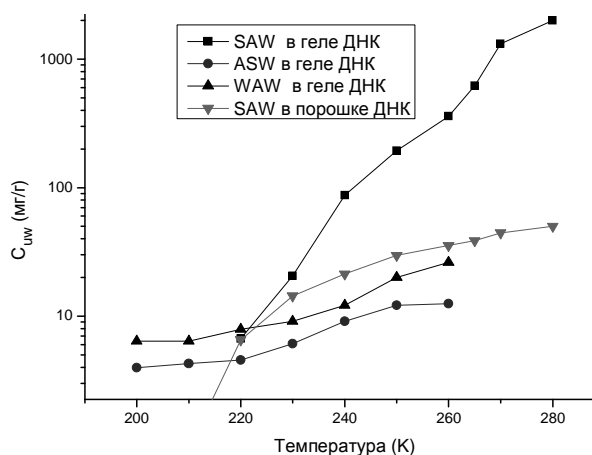


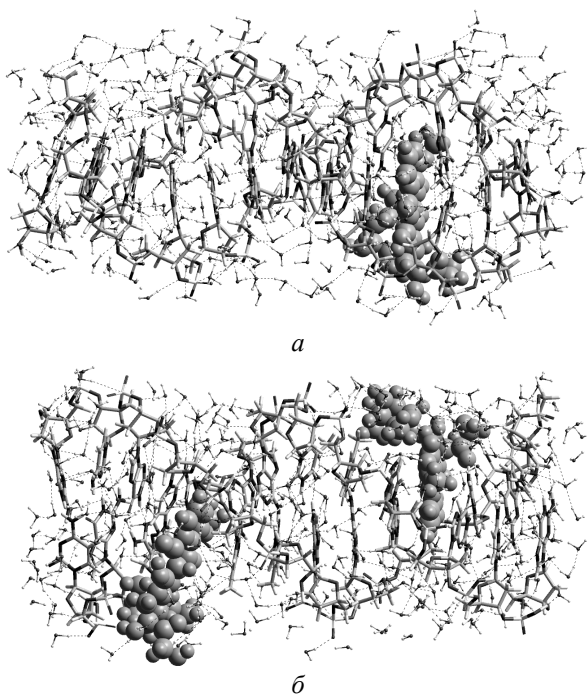
Рис. 1.  $^1\text{H}$  ЯМР-спектры воды в системах, содержащих ДНК, записанные при разных температурах

Напротив, WAW и ASW, наблюдающиеся в геле ДНК, замерзают только при весьма низких температурах (т.е. относятся к SBW) и, вероятно, обусловлены одиночными молекулами или небольшими кластерами, связанными с активными центрами самих молекул ДНК (рис. 3). Ввиду медленного молекулярного обмена эти типы воды следует относить к разным структурным элементам молекул ДНК. Значения межфазной энергии ( $\gamma_s$ ) SAW (рис. 3a) за-

висят не только от характера взаимодействия воды с межфазными границами, но также и от количества SAW, поскольку  $\gamma_s$  определяли для образцов при разной величине  $C_{\text{H}_2\text{O}}$ . SAW, в отличие от WAW или ASW, как в гидратированном порошке ДНК, так и в геле характеризуется значительным вкладом слабосвязанной воды (для которой  $-\Delta G < 0,5$  кДж/моль). Это соответствует ее локализации преимущественно на внешней поверхности спирали ДНК.



**Рис. 2.** Температурные зависимости концентрации разных форм межфазной воды в гидратированном порошке ( $C_{H_2O} = 5\%$  мас.) и геле ( $C_{H_2O} = 25\%$  мас.) ДНК



**Рис. 3.** Интеркаляция одной (а) или двух (б) молекул доксорубина в гидратированный фрагмент молекулы ДНК (геометрия оптимизирована методом РМ6/MOZYME)

Наиболее вероятно, что сигнал воды с химическим сдвигом  $\delta_H = 3,5$  м.д. (ASW) обусловлен кристаллизационной водой, связанной с электронодонорными группами нуклеотидов. WAW ( $\delta_H = 1-1,5$  м.д.) локализована в участках молекул ДНК, характеризующихся наличием полостей, из которых диффузия молекул воды ограничена. В частности, такие участки могут располагаться в желобке молекул ДНК. WAW

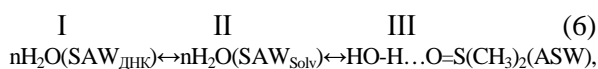
является сильно связанной (т.е. замерзает только при низких температурах) и характеризуется низким средним числом Н-связей на молекулу (одиночные молекулы и малые 1D- и 2D-кластеры) и значительными искажениями строения Н-связей по сравнению с объемной водой. В соответствии с данными рис. 2,  $C_{WAW}$  почти вдвое превосходит  $C_{ASW}$ .

С понижением температуры интенсивность сигналов (концентрации) ASW и WAW несколько уменьшается, что свидетельствует о сохранении способности этих типов воды к вымораживанию. При льдообразовании координационное число молекул воды внутри кристаллитов равно четырем, поэтому для начала процесса нуклеации ASW и WAW необходимо формирование 3D-кластеров воды (без учета низкоразмерных кристаллитов льда). Формирование 3D-кристаллитов в узких зазорах затруднено вследствие стерических факторов. До вымораживания у молекул ASW и WAW сохраняется определенная подвижность, которая способствует упорядочению структуры связанной воды от аморфной до кристаллической в результате вращательной и трансляционной диффузии молекул. Можно предположить, что кристаллиты льда, образованные из ASW и WAW, малы по размерам и имеют несколько искаженную структуру, т.е. их можно отнести к кластерным структурам воды, образующим как малые 3D-структуры, так и низкоразмерные 1D- и 2D-кристаллиты льда.

На рис. 1в, г приведены спектры  $^1H$  ЯМР ДНК, содержащей 10% воды, в слабополярной среде  $CDCl_3$ . Кроме сигналов воды в спектрах присутствуют сигнал непродейтерированной фракции хлороформа ( $\delta_H = 7,3$  м.д.) и добавленного в хлороформ в качестве стандарта тетраметилсилана ( $\delta_H = 0$  м.д.). Сигналы ASW и WAW оказались значительно более узкими, чем в гидрогеле ДНК (рис. 1б). Наблюдается две формы WAW. Интенсивность и химический сдвиг сигнала при  $\delta_H = 1,2$  м.д. практически не изменяется с температурой во всем доступном измерению диапазоне температур. В то же время, для сигнала WAW, расположенного в более слабом поле ( $\delta_H = 1,6$  м.д. при 280 К), величина  $\delta_H$  увеличивается с понижением температуры. Этот эффект зависит от времени наблюдения. Так, через 10 мин после приготовления образца это смещение не превышает 0,4 м.д., а для того же образца через

8 суток достигает 1,8 м.д. Следовательно, вода, отвечающая за этот сигнал, чувствительна к медленным изменениям состояния молекулярных кристаллов ДНК, которые происходят при длительном выдерживании образцов в среде хлороформа. Вследствие этих изменений молекулы воды могут несколько увеличивать свое координационное число с понижением температуры (вероятно, за счет перехода WAW→ASW). В соответствии с данными рис. 1а и 1з, среда хлороформа стабилизирует слабоассоциированные формы воды и количество WAW становится близко к количеству SAW. В среде хлороформа обе формы WAW практически не замерзают. Вероятно, это обусловлено тем, что слабополярный хлороформ препятствует диффузии молекул WAW к структурам SAW, а также снижает вероятность формирования низкоразмерных нанокристаллитов льда из WAW.

При добавлении к  $\text{CDCl}_3$  небольших количеств ( $\approx 8\%$  мас.) ДМСО вид спектров изменяется (рис. 1д). Исчезает сигнал WAW, расположенный в более слабых магнитных полях, и появляется сигнал ASW при  $\delta_{\text{H}} = 3,5\text{--}4$  м.д., обусловленный формированием Н-комплексов молекулам воды и ДМСО ( $\text{HO}\text{--}\text{H}\dots\text{O}=\text{S}(\text{CH}_3)_2$ ), растворенных в органической фазе. При этом практически полностью исчезает сигнал SAW. Кроме того, в спектрах фиксируется сигнал  $\text{CHD}_2$  групп ДМСО при  $\delta_{\text{H}} = 2,8$  м.д. При температуре 220–230 К кроме широкого сигнала появляется узкий сигнал SAW, находящейся в среде смешанных органических растворителей [27]. Таким образом, в кластерной системе воды, связанной с ДНК и органической фазой существует равновесие

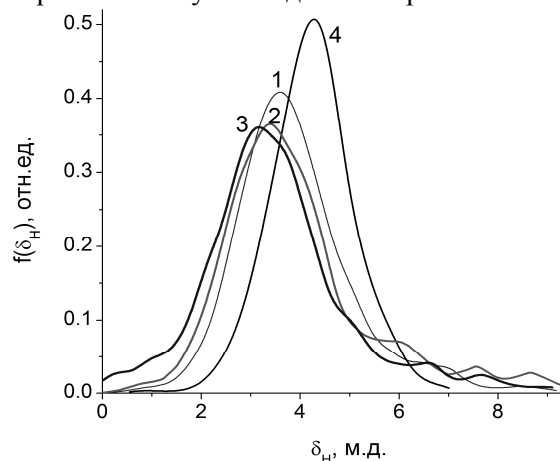


которое в большей части доступного для измерения диапазона температур смещено в сторону формирования комплексов III.

Интеркаляция молекул Dox в молекулу ДНК (рис. 1е, 3 и 4) обуславливает смещение равновесия (5) в сторону комплексов I и относительное уменьшение вкладов кристаллизационной SAW и WAW. Выбранная концентрация Dox обуславливает возможность взаимодействия большого числа молекул Dox с каждой молекулой ДНК. Молекулы Dox локализованы (рис. 3) в щелевидных зазорах между соседними парами нуклеотидов. Поэтому, появ-

ление значительного количества SAW, связанной с молекулами ДНК, может свидетельствовать как о повышении гидрофильности комплексов ДНК-Dox по сравнению с исходной ДНК, так и вытеснении WAW из мест их связывания молекулами ДНК. Гликозидный участок молекул Dox при интенкаливании располагается с внешней стороны молекулы ДНК, а гидрофобный – между парами комплементарных нуклеотидов (рис. 3) [19]. Тогда возможность локализации молекул воды в области гидрофильного участка повышается вследствие высокой гидрофильности сахаридных фрагментов, т.е. растет количества SAW, связанной с внешней поверхностью молекул ДНК.

Теоретические расчеты показывают (рис. 4) присутствие в системе ДНК–вода и ДНК–вода–Dox значительного количества слабоассоциированной воды (ср. ординаты распределений в области  $\delta_{\text{H}} = 1\text{--}2$  м.д.), что хорошо согласуется с данными рис. 1.



**Рис. 4.** Теоретически рассчитанные  $^1\text{H}$  ЯМР-спектры воды, связанной фрагментом молекулы ДНК без (1) и в присутствии одной (2) и двух (3) молекул доксорубина (рис. 3), интеркалирующих ДНК, и нанодомена  $2000\text{H}_2\text{O}$  (4)

При относительно невысокой гидратированности в модельной системе происходит некоторое увеличение вклада слабоассоциированных форм воды при интеркаливании фрагмента ДНК одной и двумя молекулами доксорубина (рис. 4). Этот эффект можно объяснить набуханием ДНК при интеркаливании, но поскольку воды в системе относительно мало, то рост вклада WAW компенсируется относительным уменьшением ассоциированности воды. Поэтому пик  $f(\delta_{\text{H}})$  смещается в область малых величин  $\delta_{\text{H}}$ . Этот эффект

также может свидетельствовать о зависимости эффективности действия доксорубицина от гидратированности клеток (ДНК), которая может увеличиваться с ростом гидратации последних, поскольку снижается вероятность деинтеркалирования ДНК вследствие энергетической невыгодности взаимодействия протяженных гидрофобных фрагментов ДНК с объемной водой.

### ВЫВОДЫ

Вода, связанная с молекулами ДНК, характеризуется наличием в спектрах  $^1\text{H}$  ЯМР нескольких сигналов, которые можно отнести к слабоассоциированным (1D и 2D) и сильноассоциированным (3D) структурам. Эти структуры характеризуются различными энергиями взаимодействия молекул воды с ДНК, разной ассоциированностью молекул  $\text{H}_2\text{O}$  и способностью связанной воды к вымерзанию при низких температурах. Идентифицированы сигналы сильноассоциированной воды (с химическим сдвигом  $\delta_{\text{H}} = 5$  м.д.), а также воды, образующей прочные Н-комплексы с электронодонорными центрами ( $\delta_{\text{H}} = 3,5$  м.д.) (сильносвязанная кристаллизационная вода), и двух типов слабоассоциированной воды ( $\delta_{\text{H}} = 1,2-1,8$  м.д.).

Слабополярная среда хлороформа стабилизирует слабоассоциированные формы связанной воды, причем слабополярный сигнал WAW с понижением температуры может смещаться в слабые магнитные поля до  $\delta_{\text{H}} = 3,2$  м.д., т.е. происходит увеличение степени ассоциированности этой воды. В присутствии добавок ДМСО этот сигнал исчезает. Интеркаляция молекул ДНК доксорубицином сопровождается относительным ростом количества воды, которая входит в состав кластеров SAW.

Работа выполнена при поддержке УНТЦ, проект № 3832.

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Watson J., Crick F.* Molecular structure of nucleic acids; a structure of deoxyribose nucleic acid // *Nature*. – 1953. – V. 36, N 1. – P. 737–738.
2. *Baston M., Castro V., Mrevlishvili G., Teixeira J.* Hydration of ds-DNA and ss-DNA by neutron quasielastic scattering // *Biophys. J.* – 2004. – V. 86, N 6. – P. 3822–3827.
3. *Parrot I.M., Laux V., Urban V. et al.* X-rays and neutron for study of DNA structure, hydration, and transition // *Physica B*. – 2006. – V. 385–386, N 3. – P. 848–852.
4. *Albiser G., Lamiri A., Premilat S.* The A-B transition: temperature and base composition effect on hydration of DNA // *Int. J. Biolog. Macromol.* – 2001. – V. 28, N 3. – P. 199–203.
5. *Schneider B., Patel K., Berman H.M.* Hydration of the phosphate group in double-helical DNA // *Biophys. J.* – 1998. – V. 75, N 5. – P. 2422–2434.
6. *Зенгер В.* Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. – Москва: Мир, 1987. – 584 с.
7. *Clark G.R., Squire Ch.J., Baker L.J. et al.* Intermolecular interactions and water structure in a condensed phase B-DNA crystal // *Nucleic Acids Res.* – 2000. – V. 28, N 4. – P. 1259–1265.
8. *Soler-Lopez M., Malinina L., Liu J. et al.* Water and Ions in a High Resolution Structure of B-DNA // *J. Biol. Chem.* – 1999. – V. 274, N 6. – P. 23683–23686.
9. *Tao N. J., Lindsay S. M., Rupprecht A.* Structure of DNA hydration shells studied by Raman spectroscopy // *Biopolymers*. – 1998. – V. 28, N 6. – P. 1019–1030.
10. *Castrignano T., Chillemi G., Desideri A.* Structure and Hydration of BamHI DNA Recognition Site: A Molecular Dynamics Investigation // *Biophys. J.* – 2000. – V. 79, N 5. – P. 1263–1272.
11. *Schneider B., Berman H.* Hydration of DNA bases is local // *Biophys. J.* – 1995. – V. 69, N 6. – P. 2661–2669.
12. *Lipscomb L.A., Peek M.E., Zhou F.X. et al.* Water Ring Structure at DNA Interfaces: Hydration and Dynamics of DNA-Anthracycline Complexes // *Biochemistry*. – 1994. – V. 33, N 12. – P. 3649–3659
13. *Gun'ko V.M., Turov V.V., Bogatyrev V.M. et al.* Unusual properties of water at hydrophilic/hydrophobic Interfaces // *Adv. Colloid. Interf. Sci.* – 2005 – V. 118, N 1–3. – P. 125 – 172.
14. *Гуныко В.М., Туров В.В., Горбик П.П.* Вода на межфазной границе. – Киев: Наукова думка, 2009. – 694 с.
15. *Turov V.V., Leboda R.* Application of  $^1\text{H}$  NMR Spectroscopy Method for Determination of Characteristics of Thin Layers of Water Adsorbed on the Surface of Dispersed and Porous Adsorbents // *Adv. Colloid Interface Sci.* – 1999. – V. 79, N 2–3. – P. 173–211.

16. *Gun'ko V.M., Turov V.V.* Structure of Hydrogen Bonds and  $^1\text{H}$  NMR Spectra of Water at the Interface of Oxides // *Langmuir*. – 1999 – V. 15, N 19. – P. 6405–6415.
17. *Kinney D.R., Chaung I.-S., Maciel G.E.*, Water and the Silica Surface As Studied by Variable Temperature High Resolution  $^1\text{H}$  NMR. // *J. Am. Chem. Soc.* – 1993. – V. 115, N 15. – P. 6786–6794.
18. *Liao L.B., Zhou H.Y., Xiao X.M.* Spectroscopic and viscosity study of doxorubicin interaction with DNA // *J. Molecular Structure*. – 2005. – V. 749, N 1–3. – P. 108–113.
19. *Dunkern T.R., Wedemeyer I., Baumgartner M. et al.* Resistance of p53 knockout cells to doxorubicin is related to reduced formation of DNA strand breaks rather than impaired apoptotic signaling // *DNA Repair*. – 2003. – V. 2, N 1. – P. 49–60.
20. *Messori L., Temperini C., Piccioli F. et al.* Solution chemistry and DNA binding properties of MEN 10755, a novel disaccharide analogue of doxorubicin // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. – 2001. – V. 9, N 7. – P. 1815–1825.
21. *Tokarska-Schlattner M., Zaugg M., Zuppinger Ch. et al.* New insights into doxorubicin-induced cardiotoxicity: the critical role of cellular energetics // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2006. – V. 41, N 3. – P. 389–405.
22. Термодинамические свойства индивидуальных веществ / Под ред. В.П. Глушкова. – Москва: Наука, 1978. – 495 с.
23. *Stewart J.J.P.* MOPAC2009, Stewart Computational Chemistry [Electronic resource]. – URL: <http://openmopac.net/>.
24. *Pedretti A., Villa L., Vistoli G.* VEGA – an open platform to develop chemo-bio-informatics applications, using plug-in architecture and script programming // *J. Computer-Aided Mol. Design*. – 2004. – V. 18, N 2. – P. 167–173.
25. *Abragam A.* The Principles of Nuclear Magnetism. – Oxford: Oxford University Press, 1961. – 599 p.
26. *Mandelkern M., Elias J., Eden D., Crothers D.* The dimensions of DNA in solutions // *J. Mol. Biol.* – 1981. – V. 152, N 1. – P. 153–161.
27. *Turov V.V., Kerus S.V., Gun'ko V.M.* Behaviour of water bound in bone marrow cells affected by organic solvents of different polarity // *Cryobiology*. – 2009. – V. 59, N 1. – P. 102–112.

Поступила 03.06.2010, принята 16.07.2010

### Вплив органічних розчинників і доксорубіцину на кластеризацію води, що зв'язана ДНК

В.В. Туров, В.Ф. Чехун, В.М. Гунько, В.М. Барвінченко, С.В.Чехун, А.В. Туров

*Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України  
вул. Генерала Наумова 17, Київ 03164, Україна, v\_turov@ukr.net*

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України  
вул. Васильківська, 45, Київ 03022, Україна*

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська 62а, Київ 01033, Україна*

Показано, що вода, зв'язана молекулами ДНК, перебуває у вигляді кластерів, які відповідають, сильно-асоційованій воді (SAW), двом типам слабоасоційованої (WAW) а також кристалізаційній воді, зв'язаній з основними центрами. Слабополярне середовище хлороформу стабілізує слабоасоційовані форми води, в той час як добавки полярного ДМСО перешкоджають формуванню одного з типів WAW. Інтеркалювання гідратованих молекул ДНК доксорубіцином зменшує кількість WAW і збільшує кількість SAW.

### Effect of Organic Solvents and Doxorubicin on Clusterization of Water Bonded by DNA

V.V. Turov, V.F. Chekhun, V.M. Gun'ko, V.N. Barvinchenko, S.V. Chekhun, A.V. Turov

*Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine  
17 General Naumov Street, Kyiv 03164, Ukraine, v\_turov@ukr.net*

*Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology, and Radiobiology of NAS of Ukraine  
45 Vasilkovskaya Street, Kyiv 03022, Ukraine*

*Taras Shevchenko National University of Kyiv, Department of Chemistry  
62a Volodymyrs'ka Street, Kyiv 01033, Ukraine*

Water bounded by DNA molecules is in several states corresponding to strongly associated water (SAW), two types of weakly associated water (WAW) and crystallizing water bound to basic sites. Weakly polar chloroform medium stabilizes the forms of weakly associated water but addition of polar DMSO inhibits the formation of one of WAWs. Intercalation of hydrated DNA molecules by doxorubicin diminishes the amounts of WAW and enhances of SAW contribution.