

Из рисунка 2 видно, что в отсутствие диссипации координата кинка монотонно растет на всем временном интервале. В случае учета эффектов диссипации координата кинка стремится к постоянному значению, отвечающему координате точки остановки кинка. С помощью формулы (5) мы рассчитали значения координат точки остановки для разных значений начальной скорости кинка:

$$z_{01}^{stop,500} = 263 \text{ по при } v_{01} = 500 \text{ м/с,}$$

$$z_{01}^{stop,800} = 438 \text{ по при } v_{01} = 800 \text{ м/с,}$$

$$z_{01}^{stop,1500} = 920 \text{ по при } v_{01} = 1500 \text{ м/с.}$$

Из этих результатов следует, что чем больше начальная скорость кинка, тем больший путь пройдет кинк до полной остановки.

Заметим, что все описанные выше результаты, получены в рамках упрощенной модели, которая учитывает подвижность азотистых оснований только в одной из двух полинуклеотидных цепей ДНК. При этом вторая цепочка моделируется лишь как среднее поле. Мы полагаем, однако, что предложенный выше подход к анализу особенностей движения кинка в гене IFNA17 можно применить и для других, более точных и сложных моделей динамики ДНК.

Список литературы / References:

1. Lawn R.M., Adelman J., Dul, T.J., Gross M., Goeddel D., Ullrich A. DNA sequence of two closely linked human leukocyte interferon genes. *Science*, 1981, vol. 212, pp. 1159-1162.
2. GenBank: Homo sapiens interferon alpha 17 (IFNA17), mRNA. URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/NM_021268.2 (accessed December 23, 2016)
3. Якушевич Л.В., Краснобаева Л.А. Траектория движения кинка в гене, кодирующем интерферон alpha 17 (IFNA 17). *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2016, т. 1, с. 136-140. Trajectory of kink movement in the interferon alpha 17 coding gene (IFNA 17). *Aktualnye problemy biologicheskoy fiziki i himii*, 2016, vol. 1, pp. 136-140 (In Russ.)]
4. McLaughlin D.W., Scott A.C. Perturbation analysis of fuxon dynamics. *Phys. Rev. A*, 1978, vol. 18, 1652 p.
5. Якушевич Л.В., Краснобаева Л.А. Влияние диссипации и внешнего поля на динамику локальных конформационных возмущений в ДНК. *Биофизика*, 2007, т. 52, № 2, с. 237-243. [Yakushevich L.V., Krasnobaeva L.A. Influence dissipation and external field on the dynamics local deformations in DNA. *Biophysics*, 2007, vol. 52, no. 2, pp. 179-184. (In Russ.)]
6. Yakushevich L.V., Grinevich A.A., Ryasik A.A. Simulation of a kink movement in homogeneous and heterogeneous DNA sequences taking into account the dissipation. *RJNAMIM*, 2014, vol. 29, pp. 197-204.

ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСОВ МОЛЕКУЛ АКРИДИНОВОГО И ФЕНАНТРИДИНОВОГО КРАСИТЕЛЕЙ В ВОДНОМ РАСТВОРЕ

Барановский С.Ф.,¹ Чернышев Д.Н.,¹ Бучельников А.С.²

¹ Севастопольский государственный университет

ул. Университетская, 33, г. Севастополь 299053, РФ

² Белгородский государственный национальный исследовательский университет

ул. Победы, 85, г. Белгород 308015, РФ

e-mail: sfbar@yandex.ru

Аннотация. Методом спектрофотометрии изучена ассоциация разнородных молекул красителей в водном растворе. Проведено разложение спектра поглощения смеси красителей на индивидуальные компоненты, положение которых свидетельствует о смещении спектра разнородного ассоциата по отношению к полосам поглощения мономеров лигандов. По результатам разложения экспериментального спектра на составляющие с использованием квантово-механической теории получена количественная информация о структуре гетерокомплекса.

Ключевые слова: ассоциация, поглощение, краситель, димер, квантовая механика, спектрофотометрия, структурные параметры.

**THE STUDY OF COMPLEXES OF PHENANTHRIDINE
AND ACRIDINE DYE MOLECULES IN AQUEOUS SOLUTION**

Baranovskiy S.F.,¹ Chernyshev D.N.,¹ Buchelnikov A.S.²

¹ Sevastopol State University

33, Universitetskaya str., Sevastopol, 299053, Russia

² Belgorod State National Research University

85, Pobedy tr., Belgorod 308015, Russia

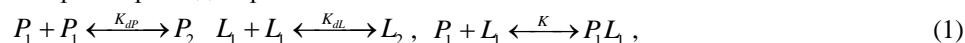
Abstract. The association of heterocyclic dye molecules in aqueous solution has been studied by means of spectrophotometry. The absorption spectrum of dye mixture has been decomposed onto individual components, which position indicates the shift of the heterocomplex spectrum relative to the absorption bands of the ligand monomers. The quantitative information about the structure of heterocomplex has been obtained according to the results of decomposition of experimental spectrum into the components using quantum mechanical theory.

Keywords: association, absorption, dye, dimer, quantum mechanics, spectrophotometry, structural parameters.

Биологически активные гетероциклические молекулы красителей способны образовывать в водном растворе однородные и разнородные ассоциаты с абсорбционными свойствами, отличными от свойств молекул в мономерном состоянии. Наиболее чувствительным методом изучения нековалентного связывания молекул является электронная спектроскопия, которая позволяет получать информацию о структурных параметрах образующихся ассоциатов.

В работе изучена ассоциация молекул профлавина (ПФ) и бромистого этидия (ЭБ) в водном растворе методами спектрофотометрии и численного анализа. Красители (Sigma, США) использовали без дополнительной очистки. Электронные спектры поглощения исследуемых растворов регистрировали на спектрофотометре UNI-CO UV-Vis 4802 в видимой области спектра. Оптическую плотность растворов измеряли в одноразовых пластиковых кюветах с длиной оптического пути 1 см при комнатной температуре. При этом, содержание ЭБ в растворе поддерживали постоянным ($5.5 \cdot 10^{-5}$ моль/л), а концентрацию ПФ изменяли в интервале $10^{-6} \dots 10^{-5}$ моль/л.

Динамическое равновесие в растворе моделировали схемой:



где K_{dp} , K_{dl} и K – равновесные константы димеризации молекул ПФ и ЭБ и их гетероассоциации; P_1 и P_2 – мономеры и димеры молекул ПФ; L_1 и L_2 – мономеры и димеры молекул ЭБ; P_1L_1 – гетерокомплекс. Экспериментально наблюдаемую оптическую плотность исследуемых растворов при толщине поглощающего слоя, равной 1 см, описывали выражением:

$$A = \varepsilon_m^P [P_1] + 2\varepsilon_d^P K_{dp} [P_1]^2 + \varepsilon_m^L [L_1] + 2\varepsilon_d^L K_{dl} [L_1]^2 + \varepsilon_k K [P_1][L_1], \quad (2)$$

где ε_m^P и ε_d^P – коэффициенты экстинкции молекул ПФ в свободном состоянии и в составе однородного димера; ε_m^L и ε_d^L – коэффициенты экстинкции молекул ЭБ в свободном состоянии и в составе однородного димера; ε_k – коэффициент экстинкции гетерокомплекса; $[P_1]$ и $[L_1]$ – концентрации мономеров ПФ и ЭБ.

Для оценки структурных параметров димеров разнородных молекул красителей их спектры в составе пяти компонентов (двух мономерных и трех димерных) получали из экспериментальных данных (рисунок 1). Поиск индивидуальных составляющих (ε_{mi}^P , ε_{mi}^L , ε_{di}^P , ε_{di}^L , ε_{ki}), принадлежащий к классу обратных задач, выполняли при совместной обработке экспериментальных спектров с использованием числовых значений равновесных констант K , K_{dp} и K_{dl} [1-3] путем минимизации функционала:

$$S = \sum_j \sum_i (A_{ji}^e - A_{ji})^2, \quad (3)$$

где A_{ji}^e и A_{ji} – экспериментальные и расчетные оптические плотности растворов; j – номера спектров (концентраций); i – номера оптической плотности, соответствующие λ_i . Концентрации $[P_1]$ и $[L_1]$ определяли из уравнений материального баланса [4].

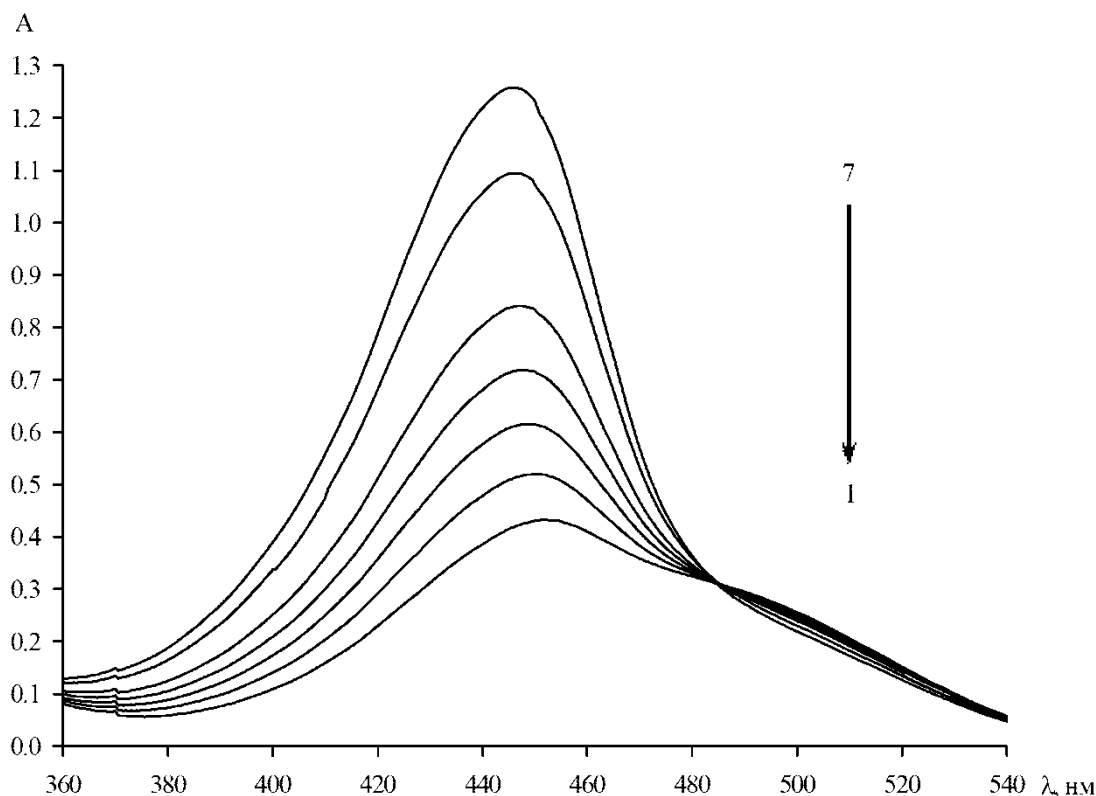


Рисунок 1 – Спектры поглощения водных растворов смесей красителей бромистого этидия ($[L_0] = 5.5 \cdot 10^{-5}$ моль/л = const) и профлавина, при различных концентрациях ПФ: $3.112 \cdot 10^{-5}$ (1), $2.650 \cdot 10^{-5}$ (2), $1.910 \cdot 10^{-5}$ (3), $1.530 \cdot 10^{-5}$ (4), $1.223 \cdot 10^{-5}$ (5), $9.199 \cdot 10^{-6}$ (6), $6.453 \cdot 10^{-6}$ моль/л (7)

При выполнении вычислительной процедуры обработки экспериментальных спектров исходную многомерную задачу минимизации функционала (3) заменяли несколькими задачами меньшей размерности. Спектральные характеристики раствора, согласно их физическому смыслу, объединяли в три группы параметров. Одной группой параметров ε_{ai} описывали поглощение молекул в ассоциированной форме, а остальными (ε_{mi}^P и ε_{mi}^L) – поглощение молекул ПФ и ЭБ в свободной форме. Минимизацию функционала выполняли варьированием спектральных параметров каждой группы в отдельности при фиксированных параметрах остальных групп.

Известно, что поиск минимума функционала начинают из состояния, находящегося в области «притяжения» глобального минимума. Поэтому, на начальном этапе минимизации, параметрам ε_{mi}^P и ε_{mi}^L присваивали числовые значения, полученные ранее [1,2] при изучении самоассоциации молекул ПФ и ЭБ. Параметры ε_{ai} вычисляли итерационным методом, т.е. путем их варьирования до тех пор, пока числовые значения не стабилизировались при некотором минимальном значении суммы (3). На следующих этапах минимизации варьировали другие параметры, а две оставшиеся группы параметров фиксировали.

Затем, уточняя положение оптимума суммы (3) в многомерном пространстве, спектральные характеристики ε_{ai} , обобщенно отражающие ассоциацию молекул, представили тремя группами параметров: ε_{ki} , ε_{di}^P и ε_{di}^L , описывающими поглощение молекул в составе димеров: P_1L_1 , P_2 и L_2 . Исходную задачу заменили пятью подзадачами. Для димерных составляющих ε_{di}^P и ε_{di}^L начальные значения определяли из специально поставленных экспериментов [1,2]. Заданная точность решения задачи достигалась в ходе последовательного уточняющего поиска спектральных характеристик «крупным шагом», состоящим из решения пяти подзадач минимизации нелинейного функционала, при этом важным является выбор начальных значений параметров и ограничений, налагаемых на них.

Полученному значению минимума функционала соответствует набор спектральных (индивидуальных) составляющих экспериментального спектра (см. рис. 2).

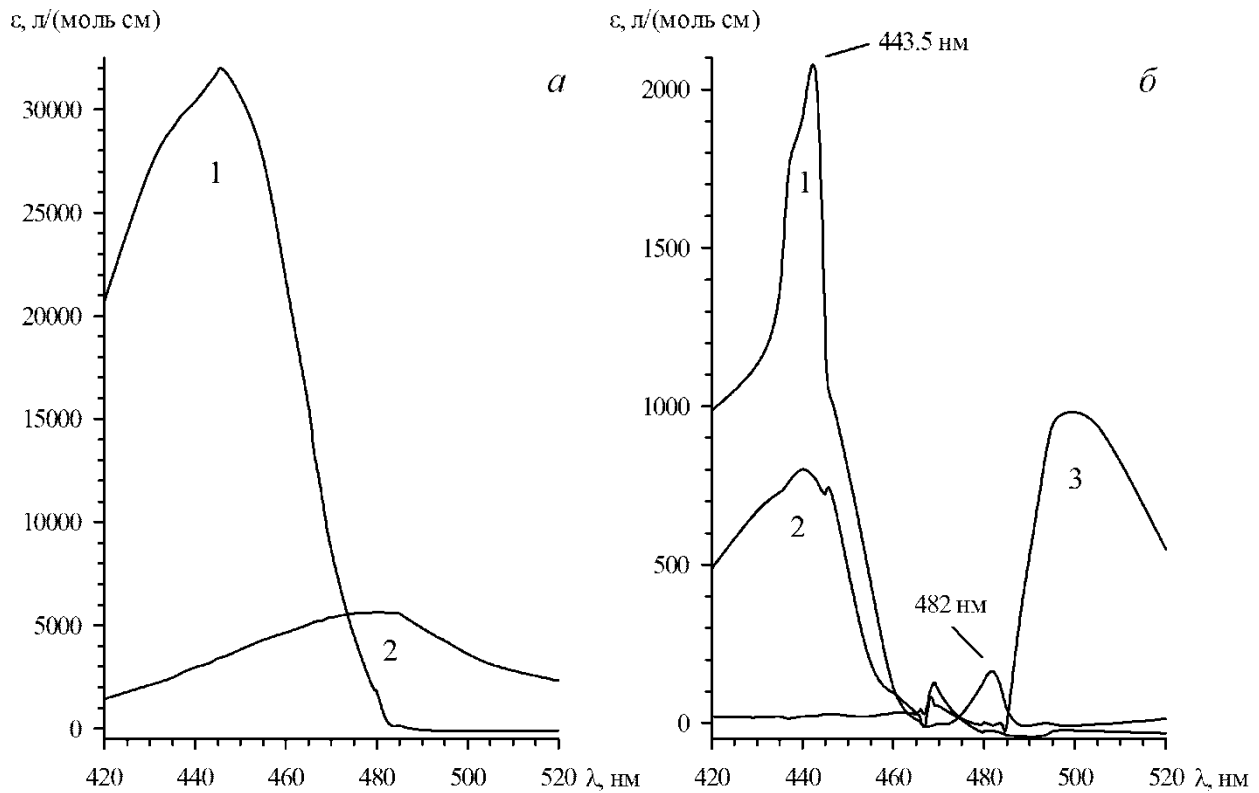


Рисунок 2 – Отдельные компоненты спектра поглощения смеси профлавина и бромистого этидия в водном растворе ($[L_0] = 5.5 \cdot 10^{-5}$ моль/л; $[P_0] = 1.223 \cdot 10^{-5}$ моль/л): 1а – спектр мономеров ПФ; 2а – спектр мономеров ЭБ; 1б – спектр разнородных димеров ЭБ + ПФ; 2б – спектр однородных димеров ПФ; 3б – спектр однородных димеров ЭБ.

Из сопоставления экспериментальных и расчетных данных следует, что при разнородной ассоциации происходит сдвиг полос поглощения красителей. Максимум спектра поглощения ПФ, входящего в состав гетерокомплекса, смещен относительно полосы свободных молекул ПФ (445 нм) в коротковолновую сторону на 1.5 нм, а максимум поглощения ЭБ относительно полосы мономеров ЭБ (480 нм) – в длинноволновую сторону на 2 нм (см. рис. 2(1б)).

Согласно квантово-механическому рассмотрению диполь-дипольного взаимодействия разнородных молекул (мономеры предполагаются нейтральными), длины волн полос поглощения ПФ ($\lambda_1 = 443.5$ нм) и ЭБ ($\lambda_2 = 482$ нм) в составе гетерокомплекса можно представить в виде [5-7]:

$$\frac{1}{\lambda_1} = \frac{1}{\lambda_{\text{ПФ}}} + \frac{2\lambda_{\text{ПФ}}^2 \lambda_{\text{ЭБ}} \mu_{\text{ПФ}}^2 \mu_{\text{ЭБ}}^2 G^2}{(\lambda_{\text{ЭБ}}^2 - \lambda_{\text{ПФ}}^2) h^2 c^2}, \quad \frac{1}{\lambda_2} = \frac{1}{\lambda_{\text{ЭБ}}} + \frac{2\lambda_{\text{ЭБ}}^2 \lambda_{\text{ПФ}} \mu_{\text{ПФ}}^2 \mu_{\text{ЭБ}}^2 G^2}{(\lambda_{\text{ПФ}}^2 - \lambda_{\text{ЭБ}}^2) h^2 c^2}, \quad (4)$$

где $\mu_{\text{ПФ}}$ и $\mu_{\text{ЭБ}}$ – дипольные моменты переходов мономеров красителей на длинах волн $\lambda_{\text{ПФ}}$ и $\lambda_{\text{ЭБ}}$, соответствующих максимумам поглощения молекул ПФ и ЭБ в свободном состоянии. G представляет собой геометрический фактор, зависящий от взаимного расположения дипольных моментов переходов мономеров в составе гетерокомплекса: $G = \frac{\cos \varphi - 3 \cos \theta_{\text{ПФ}} \cos \theta_{\text{ЭБ}}}{4\pi \epsilon_0 \epsilon R^3}$, где φ – угол между дипольными моментами переходов молекул ПФ и

ЭБ в составе гетерокомплекса; R – расстояние между точечными дипольными моментами переходов молекул ПФ и ЭБ; $\theta_{\text{ПФ}}$ и $\theta_{\text{ЭБ}}$ – углы между вектором \vec{R} , соединяющим $\vec{\mu}_{\text{ПФ}}$ и $\vec{\mu}_{\text{ЭБ}}$, и векторами этих дипольных моментов; ϵ_0 , ϵ – электрическая постоянная и диэлектрическая проницаемость среды.

При разнородной ассоциации коротковолновая полоса (λ_1) испытывает гиперхромный эффект, а длинноволновая (λ_2) – гипохромный (см. рис. 2(1б)). Интенсивности полос у ПФ и ЭБ в составе гетерокомплекса могут быть получены из выражений [5-7]:

$$\frac{f_1}{f_{\text{ПФ}}} = 1 + \frac{4}{hc} \frac{\lambda_{\text{ПФ}}^2 \lambda_{\text{ЭБ}} \mu_{\text{ПФ}}^2 \mu_{\text{ЭБ}}^2 G}{\lambda_{\text{ЭБ}}^2 - \lambda_{\text{ПФ}}^2} \cos \varphi, \quad \frac{f_2}{f_{\text{ЭБ}}} = 1 + \frac{4}{hc} \frac{\lambda_{\text{ЭБ}}^2 \lambda_{\text{ПФ}} \mu_{\text{ПФ}}^2 \mu_{\text{ЭБ}}^2 G}{\lambda_{\text{ПФ}}^2 - \lambda_{\text{ЭБ}}^2} \cos \varphi, \quad (5)$$

где f_1, f_2 – силы осцилляторов электронного перехода молекул ПФ и ЭБ на длинах волн максимумов поглощения ПФ и ЭБ в составе гетерокомплекса; $f_{\text{ПФ}}, f_{\text{ЭБ}}$ – силы осцилляторов электронного перехода молекул ПФ и ЭБ на длинах волн $\lambda_{\text{ПФ}}$ и $\lambda_{\text{ЭБ}}$.

Положение и интенсивности полос поглощения гетерокомплекса (см. рис. 2(1б)) позволяют предположить, что молекулы ПФ и ЭБ образуют, в основном, стопочные ассоциаты [5], и при этом, используя формулы (4), (5), оценить расстояние между взаимодействующими дипольными моментами переходов молекул и значение угла φ .

Выражение для G , характеризующее дипольную энергию, является функцией угловых переменных, т.е. $G = G(\theta_{\text{ПФ}}, \theta_{\text{ЭБ}}, \varphi)$ при фиксированном расстоянии между дипольными моментами переходов. Зная угол φ и приравняв нулю частные производные по переменным $\theta_{\text{ПФ}}$ и $\theta_{\text{ЭБ}}$: $\frac{\partial G}{\partial \theta_{\text{ПФ}}} = 0, \frac{\partial G}{\partial \theta_{\text{ЭБ}}} = 0$, исходя из минимума потенциальной энергии взаимодействия $\bar{\mu}_{\text{ПФ}}$ и $\bar{\mu}_{\text{ЭБ}}$, можно найти числовые значения $\theta_{\text{ПФ}}$ и $\theta_{\text{ЭБ}}$.

Оценочные значения параметров гетерокомплекса ЭБ + ПФ равны: $\theta_{\text{ПФ}} = \theta_{\text{ЭБ}} = \pi/2, \varphi = 81^\circ, R = 3.5 \text{ \AA}$.

Предложенная методика изучения динамического равновесия разнородных молекул в растворе позволяет при совместной обработке экспериментальных спектров с использованием равновесных констант ассоциации молекул получить количественную информацию о структуре гетерокомплекса.

Список литературы / References:

1. Барановский С.Ф., Глобина Е.В., Болотин П.А. Исследование самоассоциации фенантридинового красителя в водном растворе методом спектрофотометрии. *Вестник СевГТУ. Сер. Физика и математика*, 2004, вып. 59, с. 87-93. [Baranovskiy S.F., Globina E.V., Bolotin P.A. Investigation of self-association of phenanthridine dye in aqueous solution by means of spectrophotometry. *Research Journal of the Sevastopol State Technical University. Ser. Physics and mathematics*, 2004, vol. 59, pp. 87-93. (In Russ.)]
2. Бучельников А.С., Чернышев Д.Н., Милосердов П.Г., Барановский С.Ф. Спектрофотометрическое изучение ассоциирующих молекул красителей в водном растворе. *Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2011*, 2011, с. 139-141. [Buchelnikov A.S., Chernyshev D.N., Miloserdov P.G., Baranovskiy S.F. Spectrophotometric study of the associating dye molecules in aqueous solution. *Aktualnie voprosy biologicheskoy fiziki i himii. BPPC – 2011*, 2011, pp. 139-141. (In Russ.)]
3. Veselkov A.N., Evstigneev M.P., Veselkov D.A., Davies D.B. A general nuclear magnetic resonance analysis of hetero-association of aromatic molecules in aqueous solution. *J. Chem. Phys.*, 2001, vol. 115, № 5, pp. 2252–2266.
4. Веселков А.Н., Барановский С.Ф., Дымант Л.Н. Исследование ассоциации красителей акридинового ряда методом протонного магнитного резонанса. *Хим. физика*, 1986, т. 5, с. 318-323. [Veselkov A.N., Baranovskiy S.F., Djimant L.N. *Study of the association of the acridine dyes by means of proton magnetic resonance*. *J. Chem. Phys.*, 1986, vol. 5, pp. 318-323. (In Russ.)]
5. Лазуркин Ю.С. *Физические методы исследования белков и нуклеиновых кислот*. М.: Наука, 1967, 323 с. [Yu.S. Lazurkin *Physical methods of investigation of proteins and nucleic acids*. М.: Nauka, 1967, 323 p. (In Russ.)]
6. Tinoco J. Hypochromism in polynucleotides. *J. Am. Chem. Soc.*, 1960, vol. 82, pp. 4785-4790.
7. Rhodes W. Hypochromism and other spectral properties of helical polynucleotides. *J. Am. Chem. Soc.*, 1961, vol. 83, pp. 3609-3617.

ИНГИБИТОРЫ 5-ЛИПОКСИГЕНАЗ МОДУЛИРУЮТ Ca^{2+} -ОТВЕТЫ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ТРИФЛУОПЕРАЗИНОМ В МАКРОФАГАХ

Миленина Л.С., Крутецкая З.И., Наумова А.А., Бутов С.Н., Крутецкая Н.И., Антонов В.Г.
Санкт-Петербургский государственный университет
Университетская наб., 7/9, г. Санкт-Петербург, 199034, РФ
e-mail: cozy@mail.ru

Аннотация. С использованием флуоресцентного Ca^{2+} -зонда Fura-2AM впервые показано, что специфические ингибиторы 5-липоксигеназ зилеутон и каффеиновая кислота существенно подавляют Ca^{2+} -ответы, индуцируемые нейролептиком трифлуоперазином, в макрофагах. Результаты свидетельствуют об участии 5-липоксигеназ и/или продуктов 5-липоксигеназного пути окисления арахидоновой кислоты во влиянии трифлуоперазина на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} в макрофагах.

Ключевые слова: трифлуоперазин, 5-липоксигеназы, макрофаги.