

УДК 577.113

М.П. Евстигнеев, доцент, д-р физ.-мат. наук

Севастопольский национальный технический университет

Студгородок, г.Севастополь, Украина, 99053

E-mail: max_evstigneev@mail.ru

СОВМЕСТНОЕ СВЯЗЫВАНИЕ АРОМАТИЧЕСКИХ ЛИГАНДОВ С ДНК В СИСТЕМЕ АНТИБИОТИК-АНТИБИОТИК-ДНК

Проанализировано совместное связывание ароматических антиопухолевых антибиотиков с олигомером ДНК. Предложен способ разделения протекторного и интерцепторного действия антибиотиков друг на друга. Произведена оценка эффекта вытеснения антибиотика из ДНК в присутствии другого. Показано, что в смеси ароматических антибиотиков возможно направленное манипулирование их биологической активностью.

Введение. В настоящее время широкое применение в химиотерапии раковых заболеваний получили биологически активные вещества, относящиеся к классу ароматических соединений, общей структурной особенностью которых является наличие плоского гетероциклического ароматического хромофора. К указанной группе антиопухолевых препаратов относятся такие высокоэффективные ароматические антибиотики как дауномицин (DAU), актиномицин D (AMD), митоксантрон (NOV), ногаламицин (NOG) и пр.

Клиническое использование ароматических антибиотиков в большинстве случаев сопровождается нежелательными побочными эффектами. Одним из распространенных способов улучшения химиотерапевтического индекса является комбинация ароматических препаратов в дозе, составляющая основу современной стратегии комбинированной химиотерапии раковых заболеваний [1]. Существует ряд свидетельств высокой эффективности комбинации DAU-AMD для лечения саркомы [2], DAU-NOV для лечения рака груди [3] и др. Следует также отметить положительный эффект комбинированной терапии для преодоления некоторых форм резистентности опухолей к действию монотерапии, развиваемой при длительном введении в организм одного типа противоопухолевого препарата [1].

В настоящее время не существует понимания наблюдаемого медико-биологического синергизма ароматических антибиотиков. В то же время известно, что ароматические антиопухолевые препараты оказывают свое действие главным образом путем комплексообразования с ядерной ДНК [1,4]. Также существует ряд свидетельств того, что различные ароматические соединения в смеси с ДНК, могут образовывать комплексы друг с другом в растворе (гетероассоциация) и конкурировать за места посадки на ДНК [5,6]. Гетероассоциация и конкуренция за связывание с ДНК считаются базовыми молекулярными механизмами изменения токсичности ароматических антибиотиков в присутствии кофеина и ароматических витаминов [6,7]. Это дает основание предположить, что наблюдаемый медико-биологический синергизм комбинации ароматических антиопухолевых препаратов может быть связан как с процессами непосредственного взаимодействия между ними в растворе (ассоциация), так и с конкуренцией за биологический рецептор. В связи с этим выяснение механизмов совместного связывания ароматических антиопухолевых соединений с ДНК имеет важное значение для интерпретации синергетических эффектов при совместном использовании антиопухолевых лекарственных средств, а также для разработки оптимальных режимов комбинированной химиотерапии.

В настоящей работе на основании ранее опубликованных данных по гетероассоциации различных антиопухолевых антибиотиков и их комплексообразованию с ДНК, проанализировано трехкомпонентное равновесие Антибиотик-Антибиотик-ДНК в водном растворе. Сделаны выводы о доминирующих процессах, ответственных за характеристики связывания комбинации антибиотиков с ДНК.

Результаты и обсуждение.

Физическая модель связывания ароматического антибиотика с ядерной ДНК.

Все рассматриваемые в настоящей работе ароматические антиопухолевые препараты оказывают свое действие главным образом путем комплексообразования с ядерной ДНК [1,4]. В связи с этим анализ совместного связывания различных антиопухолевых соединений с нуклеиновыми кислотами должен использовать адекватную модель ДНК с тем, чтобы получаемые результаты могли иметь биологическую значимость и практическую применимость.

В большинстве физико-химических исследований в качестве модели нуклеиновых кислот используется полимерная ДНК. В этом случае получаемые в результате эксперимента и расчета параметры комплексообразования оказываются усредненными по всем допустимым для данного лиганда сайтам посадки и выделение специфических эффектов связывания, как правило, не представляется возможным. Если же необходимо выяснение деталей комплексообразования, как-то, специфичность к последовательности оснований или структурная информация, чаще всего используют короткие олигомерные последовательности ДНК.

Использование коротких последовательностей ДНК в качестве модели связывания лигандов с клеточной ДНК также имеет и другой важный аспект. В работе [7] было показано, что именно олигомерная последовательность ДНК является наиболее адекватной моделью ядерной ДНК для анализа совместного связывания ароматического лиганда и ароматического витамина B₂. Смысл этого утверждения заключается в том, что в нормальных условиях ядерная ДНК в клетке не существует в свободном состоянии, а частично ассоциирована с гистонами и другими ядерными белками. Поэтому и мишенью связывания, по-видимому, является не полимерная молекула, а короткий участок полимера некоторой длины.

Если принять, что олигонуклеотид является адекватной моделью связывания ароматического лиганда с ДНК в клеточных условиях, то возникает вопрос, какую конкретно длину олигомера целесообразно взять для решения поставленной в настоящей работе задачи анализа совместного связывания ароматических антиопухолевых препаратов с нуклеиновыми кислотами. На сегодняшний день в литературе оценка этого параметра отсутствует. Используем следующие соображения к выбору оптимальной длины олигомера.

Любая последовательность ДНК может быть представлена в виде совокупности независимых центров связывания, в которых взаимодействие лиганда с матрицей не зависит от процесса связывания лиганда в соседнем центре. Грубо расстояние между такими центрами связывания, выраженное в числе пропущенных фосфатов, может быть охарактеризовано параметром исключения l . Параметр исключения обычно вытекает из анализа McGhee-vonHippel и для всех рассмотренных в настоящей работе антиопухолевых антибиотиков принимает значения $l=3...6$ [4]. Это означает, что именно на тетрануклеотидной последовательности во всех случаях конкуренция лигандов будет происходить за один-единственный сайт посадки, а значит эффекты совместного связывания двух и более ароматических лигандов могут быть прослежены в «чистом» виде без влияния соседнего сайта. Разумеется, учет влияния соседнего сайта является важным и может служить перспективой для дальнейшего анализа, однако исходное представление о совместном связывании нескольких лигандов с ДНК целесообразно получить на более простой системе. Таким образом, наиболее адекватной моделью для рассмотрения эффектов совместного связывания с ДНК различных антиопухолевых соединений, на наш взгляд, является тетрамерная последовательность ДНК, причем под концентрацией ДНК N_0 во всех дальнейших расчетах будет пониматься суммарная концентрация свободных от белков участков ядерной ДНК в клетке, выраженная в тетрамерных единицах.

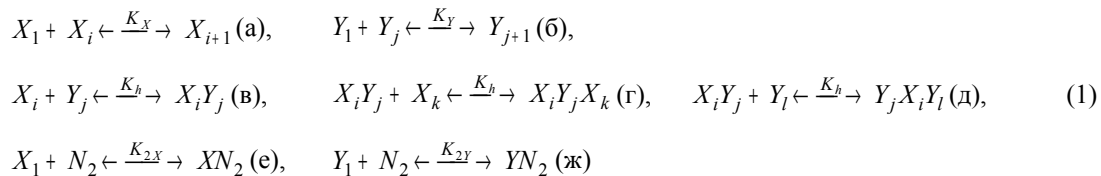
И, наконец, последний вопрос, который должен быть решен перед началом полноценного численного анализа совместного связывания с ДНК ароматических антибиотиков, – какую именно последовательность нуклеотидов следует выбрать? Все рассматриваемые в настоящей работе моноинтеркаляторы проявляют GC или CG специфичность, следовательно, искомым тетрамер должен обязательно содержать один из этих сайтов. Далее возникает вопрос о наличии литературных данных по константам комплексообразования ароматических лигандов с дуплексами тетрамеров. Анализ литературных данных по комплексообразованию ароматических лигандов с различными тетрамерами ДНК, выполненных в единых экспериментальных условиях и с использованием единого методического подхода к обработке данных, дают основания предложить для анализа последовательность 5'-d(TrGrCrA). Во-первых, эта последовательность содержит центральный GC сайт, а во-вторых, для нее в большинстве случаев регистрация протонного химического сдвига производится в условиях быстрого молекулярного обмена в масштабе времени ЯМР, что является принципиально важным для получения надежных значений равновесных параметров комплексообразования. Исключение составляют антибиотики ногаламицин и актиномицин D, находящиеся в медленном или промежуточном обмене с любыми тетрамерными фрагментами в водно-солевом растворе. Для оценки константы связывания NOG/AMD с d(TGCA)₂ в настоящей работе использовались литературные данные по изучению связывания этих антибиотиков и дауномицина с полимерной ДНК в единых экспериментальных условиях. Далее по известному соотношению константы комплексообразования DAU с дуплексом TGCA [8] и с полимером оценивались константы комплексообразования NOG/AMD с данным тетрамером. В таблице 1 приведены равновесные константы комплексообразования ароматических антиопухолевых антибиотиков, используемые далее для анализа их совместного связывания с дезокситетрануклеотидом 5'-d(TrGrCrA)₂ как модели клеточной ДНК.

Таблица 1 – Равновесные константы самоассоциации (K_x , K_y л/моль), гетероассоциации (K_b , л/моль) и комплексообразования с d(TGCA)₂ (K_{2x} , K_{2y} , 10³ л/моль) ароматических антиопухолевых антибиотиков в 0.1M Na-фосфатном буфере, pD 7.1, T=298K

Антибиотик	DAU	NOG	NOV	AMD	d(TGCA) ₂
DAU	720 ± 130	3400 ± 1300	15300 ± 1000	2800 ± 1100	560 ± 13
NOG	3400 ± 1300	7400 ± 1500	12300 ± 5000	4500 ± 800	~1200
NOV	15300 ± 1000	12300 ± 5000	28900 ± 9300	2500 ± 800	850 ± 150
AMD	2800 ± 1100	4500 ± 800	2500 ± 800	1420 ± 130	~1000

Соотношения для количественного анализа совместного связывания ароматических антибиотиков с олигомером ДНК.

Количественный анализ трехкомпонентного равновесия двух ароматических лигандов X и Y и тетрамера ДНК N_2 в водном растворе должен учитывать все возможные виды взаимодействий, а именно, самоассоциацию X и Y (1 а,б), их гетероассоциацию $X-Y$ (1 в,г,д) и комплексообразование с дуплексом TGCA $X-N_2$ и $Y-N_2$ (1 е,ж):



где $K_X(K_Y)$, K_h , $K_{2X}(K_{2Y})$ – равновесные константы самоассоциации, гетероассоциации и комплексообразования с $d(TGCA)_2$, соответственно, известные из экспериментов, проведенных ранее в одинаковых условиях растворителя (см. таблицу 1). Представленная схема динамического равновесия в растворе описывается законом сохранения массы и законом действия масс, причем каждая реакция в схеме (1) добавляет свое слагаемое в уравнение для закона сохранения массы по аналогии с моделью молекулярной гетероассоциации [5-7]. В результате система уравнений для каждого из взаимодействующих веществ в растворе (X , Y , N_2) принимает вид:

$$\begin{cases} \frac{x_1}{(1 - K_X x_1)^2} \left(1 + \frac{K_h y_1}{1 - K_Y y_1} + \frac{K_h^2 y_1^2}{2(1 - K_Y y_1)^2} \right) + K_{2X} x_1 N_2 = x_0 \\ \frac{y_1}{(1 - K_Y y_1)^2} \left(1 + \frac{K_h x_1}{1 - K_X x_1} + \frac{K_h^2 x_1 y_1}{(1 - K_Y y_1)(1 - K_X x_1)} \right) + K_{2Y} y_1 N_2 = y_0, \\ N_2(1 + K_{2X} x_1 + K_{2Y} y_1) = N_0 \end{cases} \quad (2)$$

где $x_0(y_0)$ и $x_1(y_1)$ – полная и мономерная концентрации лигандов; N_2 – концентрация несвязанного лигандом тетрамера. Каждое слагаемое в (2) соответствует своему типу комплекса в растворе и, следовательно, позволяет рассчитать мольную долю f данного комплекса путем деления на x_0 , y_0 или N_0 .

Ранее было показано, что совместное связывание различных биологически активных ароматических интеркаляторов в присутствии кофеина (CAF) и витамина B₂ (FMN) определяется действием двух доминирующих молекулярных процессов: «протекторное» и «интерцепторное» действие CAF и FMN [6,7]. Суть протекторного механизма заключается в конкуренции двух лигандов за места посадки на ДНК, приводящее к вытеснению одного из лигандов другим. Суть интерцепторного механизма состоит в существовании непосредственного комплексообразования между лигандами в растворе (гетероассоциация). В результате оба процесса приводят к уменьшению доли лигандов, связанных с ДНК, и, соответственно, к изменению их биологической активности. В целом, известные для CAF, FMN и других ароматических интеркаляторов особенности и закономерности комплексообразования с ДНК и гетероассоциации являются прямым следствием общей структурной особенности ароматических молекул – наличие плоского ароматического хромофора. Учитывая, что все исследуемые в настоящей работе антиопухолевые препараты также принадлежат к классу ароматических соединений, можно предположить, что механизмы протекторного и интерцепторного действия также будут преобладать в системе Антибиотик-Антибиотик-ДНК. Следовательно, для количественного анализа совместного связывания антибиотиков с ДНК целесообразно использовать методику, примененную ранее для изучения равновесия Лиганд-ДНК в присутствии кофеина или витамина.

Для оценки протекторного и интерцепторного эффектов лиганда-перехватчика Y по отношению к лиганду X в системе Антибиотик-Антибиотик-ДНК воспользуемся критерием R_D [7]. R_D рассчитывается с использованием двух предельных случаев: при «отключенной» гетероассоциации $X-Y$ и включенном комплексообразовании $Y-TGCA$ ($K_h=0$, $K_{2Y} \neq 0$) – $f_{C2(C)}^X$; при «включенной» гетероассоциации $X-Y$ и отключенном комплексообразовании $Y-TGCA$ ($K_h \neq 0$, $K_{2Y}=0$) – $f_{C2(H)}^X$:

$$R_D = \frac{f_{C2(0)}^X - f_{C2(C)}^X}{f_{C2(0)}^X - f_{C2(H)}^X}, \quad (3)$$

где $f_{C2(0)}^X$ обозначает мольную долю комплексов $X-d(TGCA)_2$ при «отключенных» гетероассоциации и комплексообразовании $Y-TGCA$ ($K_h=0$, $K_{2Y}=0$). Область $R_D > 1$ соответствует преобладанию комплексообразования $Y-TGCA$ над гетероассоциацией $X-Y$ (т.е. протекторное действие Y); область $R_D < 1$

отвечает доминированию гетероассоциации в растворе в суммарном эффекте вытеснения молекул X из ДНК (интерцепторное действие Y).

Оценка доли вытесненного из ДНК лиганда X при добавлении лиганда Y производится с помощью фактора A_D [9] как

$$A_D = (f_{C2(0)}^X - f_{C2}^X) / f_{C2(0)}^X, \quad (4)$$

где f_{C2}^X обозначает относительное содержание молекул X , связанных с ДНК в присутствии Y при «включенных» гетероассоциации и комплексообразовании ($K_h \neq 0$, $K_{2Y} \neq 0$). В связи с тем, что биологическое действие антиопухолевых препаратов, рассматриваемых в настоящей работе, преимущественно связано с комплексообразованием с ядерной ДНК (f_{C2}^X), можно считать, что фактор A_D в принципе может служить количественной мерой оценки изменения биологической активности лиганда X при добавлении лиганда Y в клеточной системе.

Анализ конкурентного связывания в системе Антибиотик-Антибиотик-ДНК.

Проведем анализ системы Антибиотик-Антибиотик-ДНК в терминах интерцепторного и протекторного механизмов действия одного антибиотика (перехватчика) на другой антибиотик (лиганд), связывающийся с ДНК. При этом антибиотик-лиганд обозначим как X , а антибиотик-перехватчик – Y .

Сложность анализа такой трехкомпонентной смеси состоит в необходимости подбора концентраций взаимодействующих компонент в водном растворе для соответствия физиологическим условиям. Применительно к ароматическим антиопухолевым антибиотикам антрациклиновой серии (дауномицин, доксорубин), известно, что типичные пиковые концентрации препарата в плазме крови человека после введения стандартной дозы достигают порядка $10 \mu\text{M}$. В то же время известен эффект аккумуляции клеткой антрациклинов, приводящий к 100-кратному превышению внутриклеточной концентрации антибиотика пиковой концентрации в плазме [10]. На основании этого мы считаем, что значение $x_0 = 0.01 \text{ mM}$ может служить достаточно хорошей оценкой физиологической концентрации антибиотика-лиганда.

На рисунках 1 и 2 приведены графики R_D и A_D в системах AMD(X)-DAU(Y) и DAU(X)-NOV(Y) для различных концентраций ДНК N_0 и варьировании концентрации антибиотика-перехватчика (Y). Выбор молекулы-перехватчика произволен, а выбор комбинаций антибиотиков для анализа обусловлен их практической клинической значимостью – комбинация DAU-AMD используется для лечения саркомы [2], а комбинация DAU-NOV используется при лечении рака груди [3]. Кроме этого комбинация DAU-NOV представляет систему с выраженной гетероассоциацией за счет дополнительной стабилизации гетерокомплексов межмолекулярной водородной связью, в то время как комбинация AMD-DAU относится к разряду «стандартных» без дополнительного усиления гетероассоциации в растворе [5].

Из рисунков 1 и 2 следует существенная зависимость обоих факторов R_D и A_D от концентраций молекулярных компонент в растворе. Вместе с тем характер зависимости от N_0 и y_0 в целом идентичен, что дает основание распространить выводы, относящиеся к этим двум системам, на все другие комбинации Антибиотик-Антибиотик, рассматриваемые ниже.

Фактор R_D демонстрирует существование двух типов (или фаз) зависимости $R_D(N_0)$: фаза 1 при $N_0 > 0.01 \text{ mM}$ и фаза 2 при $N_0 \leq 0.01 \text{ mM}$. Аналогичное поведение R_D ранее также наблюдалось для DAU в присутствии витамина B_2 , при этом существование экстремума в фазе 2 объясняется конкуренцией гетероассоциации X - Y и комплексообразования Y -ДНК [7].

Важно отметить, что в двух фазах в физиологическом диапазоне концентраций антибиотика-перехватчика $y_0 < 0.01 \text{ mM}$ соотношение интерцепторного и протекторного механизмов действия Y на X оказывается существенно различным: в фазе 1 доминирует протекторный эффект ($R_D > 1$), а в фазе 2 – интерцепторный и протекторный эффекты соизмеримы ($R_D \sim 1$) (рисунки 1,а, 2,а). Причина этому заключается в том, что при малых концентрациях ДНК (фаза 1), соизмеримых с концентрациями X и Y , олигонуклеотид практически насыщен обоими лигандами, в результате чего эффекты конкуренции за места посадки проявляются намного сильнее, чем эффекты гетероассоциации, тем более что константы связывания X/Y -TGCA на несколько порядков превышают константу гетероассоциации X - Y (см. таблицу 1).

В работе [9] на основании сопоставления фактора A_D известным из литературы результатам клеточных экспериментов в системе Антибиотик-Кофеин-ДНК был сделан вывод, что концентрации тетрамера $N_0 \sim 0.01 \text{ mM}$, по-видимому, являются наиболее физиологически адекватными. Следовательно, анализ равновесия Антибиотик-Антибиотик-ДНК в дальнейшем более целесообразно проводить в фазе 1 при $N_0 = 0.01 \text{ mM}$.

Фактор A_D (рисунки 1,б, 2,б) имеет характер насыщения, свидетельствующий о постепенном вытеснении молекул антибиотика-лиганда из ДНК по мере добавления антибиотика-перехватчика. Причем эффект вытеснения молекул X при добавлении молекул Y в концентрации 0.01 mM , как видно из рисунков, имеет порядок 20-40 % в фазе 1. Можно предположить, что *in vivo* подобный эксперимент аналогичен «замене» биологического эффекта антибиотика X на биологический эффект антибиотика Y .

Рисунок 1 – Коэффициенты R_D и A_D в системе AMD-DAU при $C_{AMD} = 0.01$ mM как функция концентрации DAU (y_0)

Рисунок 2 – Коэффициенты R_D и A_D в системе DAU-NOV при $C_{DAU} = 0.01$ mM как функция концентрации NOV (y_0)

Фактически это означает возможность направленного манипулирования биологическим эффектом в комбинации ароматических антибиотиков.

На рисунках 3, 4 представлены факторы R_D и A_D в фазе 1 для всех возможных парных комбинаций среди исследованных в данной работе четырех антиопухолевых антибиотиков AMD, DAU, NOG, NOV. Кривые R_D всех систем в диапазоне $y_0 \leq 0.01$ mM не зависят от y_0 и демонстрируют однозначную корреляцию с константой гетероассоциации согласно соотношению

$$R_D \approx 1/K_h. \quad (5)$$

Выражение (5) может быть использовано для сравнительной оценки протекторного эффекта в различных комбинациях ароматических антибиотиков. Важно отметить, что в комбинации DAU-NOV протекторный эффект выражен наиболее слабо в сравнении со всеми другими исследованными комбинациями, что является следствием повышенной гетероассоциации в этой системе за счет дополнительной стабилизации гетерокомплексов межмолекулярной водородной связью [5].

Последовательность кривых на графиках A_D (рисунок 4) также подчиняется определенной закономерности. Если выстроить кривые для разных веществ на каждом графике A_D в ряд, то получим следующие последовательности: DAU→NOG→NOV (AMD – перехватчик, рисунок 4а), NOV→AMD→NOG (DAU – перехватчик, рисунок 4,б), NOV→AMD→DAU (NOG – перехватчик, рисунок 4,в), DAU→NOG→AMD (NOV – перехватчик, рисунок 4,г). Эти последовательности достаточно неплохо описываются последовательностью чисел

$$A_D \equiv K_h^2 / K_{2X}. \quad (6)$$

Выражение (6) позволяет сравнить долю вытесненного антибиотика-лиганда при добавлении антибиотика-перехватчика для разных комбинаций антибиотиков. Потенциально это дает возможность предсказать изменение биологического эффекта при добавлении антибиотика-перехватчика в заданной комбинации антибиотиков.

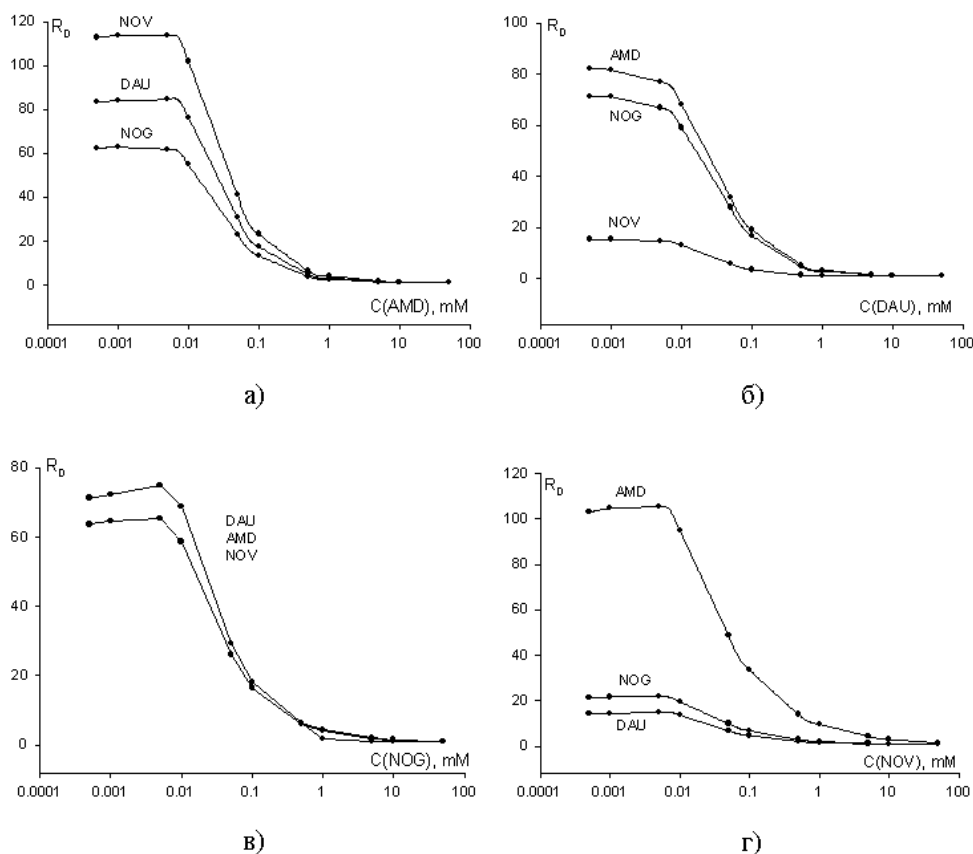


Рисунок 3 – Фактор R_D в фазе 1 в системах AMD-Антибиотики-ДНК (а), DAU-Антибиотики-ДНК (б), NOG-Антибиотики-ДНК (в), NOV-Антибиотики-ДНК (г)

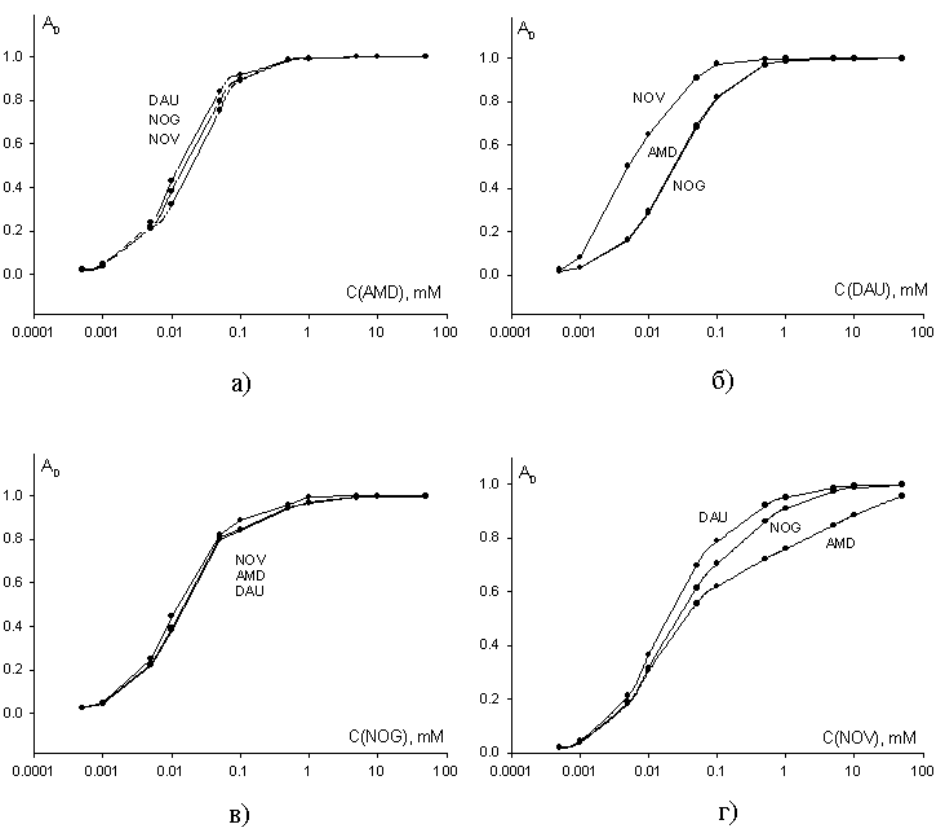


Рисунок 4 – Фактор A_D в фазе 1 в системах AMD-Антибиотики-ДНК (а), DAU-Антибиотики-ДНК (б), NOG-Антибиотики-ДНК (в), NOV-Антибиотики-ДНК (г)

Выводы

В целом проведенный выше анализ совместного связывания с ДНК различных комбинаций ароматических антиопухолевых антибиотиков свидетельствует о незначительном вкладе гетероассоциации в изменение доли связанного антибиотика с ДНК в физиологическом диапазоне концентраций антибиотиков (~ 0.01 мМ) и ДНК (~ 0.01 мМ), что является следствием различия констант комплексообразования с ДНК и гетероассоциации на несколько порядков. Вместе с тем использованные для анализа концентрации являются оценочными – вклад гетероассоциации становится соизмеримым с ДНК-комплексообразованием уже при концентрациях ДНК в 10 раз превышающих те, которые рассматривались в данной работе (~ 0.1 мМ, см. рисунки 1,а, 2,а). Кроме этого, следует помнить об эффекте накопления антибиотиков во внутриклеточной среде [10] и дополнительного усиления гетерокомплексов в некоторых случаях межмолекулярной водородной связью [5]. Таким образом, надежный анализ совместного связывания двух ароматических антибиотиков с ДНК должен проводиться с обязательным учетом гетероассоциации, как одного из важных молекулярных процессов в многокомпонентной системе.

Наиболее важным результатом данной работы является установление того факта, что в трехкомпонентной смеси Антибиотик-Антибиотик-ДНК существует потенциальная возможность регулирования биологической активности комбинации антибиотиков. Предложен фактор A_D , дающий возможность количественной оценки эффекта вытеснения из ДНК одного антибиотика другим и, следовательно, могущий иметь корреляцию с ожидаемым биологическим эффектом при изменении концентрации компонент смеси антибиотиков.

Библиографический список

1. Chu E. Physicians' cancer chemotherapy drug manual / E. Chu, V.T. DeVita. — L.: Jones and Bartlett Publ., 2003. — 512 p.
2. Second malignancies after treatment for Ewing's sarcoma: A report of the CESS-studie / J. Dunst [et al.] // Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys. — 1998. — V. 42. — P. 379–384.
3. Weekly low-dose mitoxantrone plus doxorubicin as 2nd-line chemotherapy for advanced breast-cancer / M. Bontenbal, A.S.T. Planting, C.J. Rodenburg, A. Dees, J. Verweij, C.C.M. Bartels, J. Alexievafigus, W.L.J. Vanputten, G.J.M. Klijn // Breast Cancer Res. Treatm. — 1992. — V. 21. — P. 133–138.
4. Interactions of antitumor drugs with natural DNA: ^1H NMR study of binding mode and kinetics / J. Feigon, W.A. Denny, W. Leupin, D.R. Kearns // J. Med. Chem. — 1984. — V. 27. — P. 450–465.
5. Hetero-association of anticancer antibiotics in aqueous solution: NMR and molecular mechanics analysis / D.B. Davies, M.P. Evstigneev, D.A. Veselkov, A.N. Veselkov // Biophys. Chem. — 2005. — V. 117. — P. 111–118.
6. Hetero-association of caffeine and aromatic drugs and their competitive binding with a DNA oligomer / D.B. Davies, D.A. Veselkov, L.N. Djimant, A.N. Veselkov // Eur. Biophys. J. — 2001. — V. 30. — P. 354–366.
7. Evstigneev M.P. Complexation of daunomycin with a DNA oligomer in the presence of an aromatic vitamin (B2) determined by NMR spectroscopy / M.P. Evstigneev, Yu.V. Mykhina, D.B. Davies // Biophys. Chem. — 2005. — V. 118. — P. 118–127.
8. NMR investigation of the complexation of daunomycin with deoxytetranucleotides of different base sequence in aqueous solution / D.B. Davies, R.J. Eaton, S.F. Baranovsky, A.N. Veselkov // J. Biomol. Str. Dyn. — 2000. — V. 17. — N 5. — P. 887–901.
9. Evstigneev M.P. Complexation of norfloxacin with DNA in the presence of caffeine / M.P. Evstigneev, K.A. Rybakova, D.B. Davies // Biophys. Chem. — 2006. — V. 121. — P. 84–95.
10. Intracellular concentrations of mitoxantrone in leukemic cells in vitro vs in vivo / B. Sundman-Engberg, U. Tidefelt, A. Gruber, C. Paul // Leukemia Res. — 1993. — V. 17. — P. 347–352.

Поступила в редакцию 4.04.2006 г.