

## БІОЛОГІЧНІ НАУКИ

**Бідюк В.О.**

*студентка,*

*Наукові керівники: Жолнер Л.Г.*

*кандидат біологічних наук, доцент,*

*Національний технічний університет України*

*«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»*

**Жолобак Н.М.**

*кандидат біологічних наук, старший дослідник відділу,*

*Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного*

*Національної академії наук України*

### ОСОБЛИВОСТІ ВЗАЄМОДІЇ АМІКСИНУ З ПОЛІНУКЛЕОТИДАМИ

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), щороку на планеті тільки на грип та гострі респіраторні вірусні інфекції (ГРВІ) хворіють понад 300 млн осіб. ГРВІ та грип складають лише малу частку від вірусних захворювань, ефективне лікування яких ще досі не розроблене. Тому, на даний момент проблема профілактики та лікування вірусних захворювань є надзвичайно актуальною. Терапія вірусних інфекцій вимагає наявності препаратів, які впливають як на вірусну репродукцію, так і на обмінні процеси в інфікованій клітині, на відновлення її біохімічної рівноваги, порушення якої закономірно виникає в умовах вірусної реплікації. При цьому препарат має бути нетоксичним та зручним для використання. Кандидатом на такий безпечний та ефективний антивірусний препарат є аміксин, який володіє цілим рядом активностей, серед яких інтерферон індукуюча, антивірусна, антипроліферативна, протизапальна та інші. Широкий спектр фармакологічних властивостей аміксину, наведених вище, не може бути пояснений виключно його здатністю індукувати синтез інтерферону. Ще на перших етапах дослідження аміксину було виявлено, що його молекула взаємодіє з полінуклеотидами, і, як і більшість структурно подібних органічних барвників, певною мірою інтеркалює в молекулу ДНК. Можливо, біологічні властивості, які проявляє аміксин, опосередковані саме взаємодією з клітинними та/або вірусними полінуклеотидами.

Перші підтвердження того, що аміксин здатен безпосередньо взаємодіяти з ДНК, були надані в цитогенетичних дослідженнях Green, West (1971) [1]. З часом були накопичені дані стосовно того, що аміксин формує молекулярні комплекси з ДНК і РНК, а також із синтетичними полінуклеотидами, такими як поліаденілова, поліуридинова кислота та ін. У процесі зв'язування аміксину з полінуклеотидами електростатичні взаємодії відіграють вирішальну роль, і саме вони відповідають за його термічну стабілізацію, хоча зв'язування може

бути забезпечене і за участі інших сил. На процес утворення комплексу між аміксином і полінуклеотидом впливає присутність іонів натрію і магнію, причому підвищена концентрація цих іонів (і загалом підвищена йонна сила розчину), зменшує стабільність утвореного комплексу [2].

Детально досліджені фізико-хімічні особливості взаємодії аміксіну з ДНК. Флуоренонове кільце аміксіну при зв'язуванні близько розташовується між основами ДНК, таким чином вміщуючись між ними. Четвертинний амін, що входить до складу бічних ланцюгів («рук» аміксіну), очевидно, має зв'язуватися з фосфатним аніоном ДНК. Виявлено, що «руки» аміксіну розташовуються в малій борізді ДНК [3].

Аміксин займає проміжне положення між інтеркалюючою та неінтеркалюючою молекулою. Характер взаємодії аміксіну і дволанцюгової молекули ДНК є оборотним і нековалентним, причому енергія активації для утворення цього комплексу має бути відносно низькою, у порівнянні, наприклад, з бромистим етидієм, чи іншими класичними інтеркаляторами в ДНК [4].

Не було відмічено жодних закономірностей стосовно специфічності зв'язування аміксіну з будь якими парами нуклеотидів ДНК за участі електростатичних взаємодій. Таким чином, якісний склад ДНК суттєво не впливає на спорідненість аміксіну до конкретного регіону молекули. Просторова будова сайту зв'язування є більш важливим фактором, аніж якісний склад ділянки зв'язування [4]. Взаємодію аміксіну з полінуклеотидами можна трактувати в рамках гетерогенного зв'язування, і, відповідно, аміксин здатен інтеркалювати в ДНК при наявній сприятливій локальній структурі регіону полінуклеотиду. Можливо, здатність аміксіну стимулювати синтез інтерферону може бути пояснена саме з точки зору цієї специфічності до окремих структур молекули полінуклеотиду. Існує ймовірність, що аміксин може вибірково інтеркалювати в регіони ДНК, які блоковані репресором, призводячи до вивільнення репресору, і, таким чином, запускаючи заблоковані процеси, серед яких, в тому числі, може бути запуск синтезу інтерферону. Підтвердженням цієї теорії може бути існування аналогій між А-Т послідовностями та Іас оператором ДНК [3].

Аміксин здатен інтеркалювати в кільцеву ДНК. Показано, що аміксин, інтеркалюючи в ДНК *S. typhimurium*, призводить до елімінації з неї детермінант резистентності. Окрім елімінації R-плазмід, бактерії втрачають здатність до утворення спор [5]. Таким чином, аміксин здатен до взаємодії з ДНК клітини, що, можливо, може бути причиною його токсичності.

Інша ситуація із взаємодією аміксіну з РНК. Ще в 1993 році виявлено, що аміксин здатен зв'язуватися з молекулами РНК, хоча сила зв'язку з РНК суттєво менша, ніж з ДНК [6]. Аміксин утворює з одноланцюговою РНК агрегати, які у 10 разів перевищують за розміром частинки, присутні у вихідному розчині РНК [7]. Показано, що аміксин призводить майже до двократного збільшення кількості дволанцюгових ділянок у молекулі РНК [8]. Виявлена здатність молекулярних комплексів аміксіну з дріжджовою РНК індукувати продукцію інтерферону І типу в організмі мишей. Токсичність

таких комплексів – далеко за межами концентрацій, що забезпечують терапевтичну та профілактичну дію власне аміксину. Властивості комплексу аміксин-РНК не опосередковані властивостями його компонентів, а є результатом синергічного ефекту від їх поєднання [9].

Окремо досліджена взаємодія аміксину з нуклеозидами (аденозин, тимідин, уридин). Результати мас-спектрометричного аналізу свідчать, що мас-спектри усіх досліджених бінарних систем (аміксин + нуклеозид) містять піки, які характерні для індивідуальних компонентів сумішей, і тільки в спектрі системи (аміксин + уридин) зареєстровано інтенсивний сигнал стабільного молекулярного комплексу уридин-аміксин. Вірогідно, уридин є одним із потенційних центрів специфічного зв'язування молекул РНК з аміксином [7].

Таким чином, аміксин здатен до утворення складних комплексів з полінуклеотидами, демонструючи інтеркаляційний характер вбудовування в дволанцюгові молекули ДНК і РНК. Аміксин має різну специфічність до ДНК та РНК, причому сила зв'язування більша саме з ДНК, що, очевидно, викликано особливістю як первинної, так і вторинної структури молекули. Багаті на уридин ділянки РНК заслуговують особливої уваги, оскільки відомо, що аміксин володіє підвищеною здатністю до взаємодії саме з цим нуклеотидом. Розглянуті вище особливості аміксину свідчать про те, що його вплив на клітину може бути опосередкованим взаємодією з багатими на уридин ділянками полінуклеотидів, наявними як в інтактній, так – особливо – і у вірус інфікованій клітині.

### Список використаних джерел:

1. Green S., West W.L. *In vitro* cytogenetic effects of tilorone·HCl // *Pharmacologist* – 1971, № 13. – 260 p.
2. Chandra P. Molecular approaches for designing antiviral and antitumor compounds. // *Topics in Current Chemistry Fortschritte Der Chemischen Forschung*. – 2007. – P. 99–139.
3. Sturm J., Schreiber L., Daune M. Binding of ligands to a one dimensional heterogeneous lattice. II. Intercalation of Tilorone with DNA and Polynucleotides // *Biopolymers* – 1981, № 20. – P. 765–785.
4. Nishimura T., Okobira T., Kelly A. M., Shimada N., Takeda Y., Sakurai K. DNA binding of tilorone: 1H NMR and calorimetric studies of the intercalation // *Biochemistry* – 2007, № 46(27). – Pp. 8156–8163.
5. Hahn F. Experimental elimination of R factors // *Antibiotics and Chemotherapy*. – 1976, № 20. – 21 p.
6. Wilson W.D., Ratmeyer L., Zhao M., Strekowski L., Boykin D. The search for structure-specific nucleic acid-interactive drugs: Effects of compound structure on RNA versus DNA interaction strength // *Biochemistry*. – 1993, № 32(15). – Pp. 4098–4104.
7. Pashynska, V.A. et al. “Study of intermolecular interactions of antiviral agent tilorone with RNA and nucleosides” // *Biophysical Bulletin*. – 2018. – 13 p.
8. Карпов О.В., Храпунов С.М., Сиволоб А.В. Вивчення кількісних характеристик комплексоутворення аміксину з полінуклеотидами різного походження // *Биополимеры и клетка*. – 1998. Т. 14, № I. – С. 43–46.
9. Карпов А.В., Жолобак Н.М. Изучение интерферогенных свойств комплексов дрожжевая РНК-аміксин в культуре клеток // *Антибиотики и химиотерапия*. – 1995. – № 5. – С. 20–23.