

## 20 Спектрально-люминесцентные исследования взаимодействия 1-пиренметиламина с нуклеиновыми кислотами в воде

© У.А. Малкова<sup>1</sup>, Е.В. Демидов<sup>1</sup>, Н.В. Кузьмина<sup>2</sup>, А.Ю. Плеханов<sup>3</sup>, М.В. Пузык<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

e-mail: puzyk@mail.ru

Поступила в редакцию 12.07.2024 г.

В окончательной редакции 26.07.2024 г.

Принята к публикации 29.07.2024 г.

Исследованы взаимодействия солянокислого 1-пиренметиламина с нуклеиновыми кислотами (ДНК тимуса теленка и РНК дрожжей) в воде методами электронной абсорбционной и эмиссионной спектроскопии. Совокупность полученных спектральных данных позволяет сделать вывод об интеркаляции 1-пиренметиламина в ДНК и отсутствии ее в РНК.

**Ключевые слова:** интеркаляция, 1-пиренметиламин, ДНК тимуса теленка, РНК дрожжей.

DOI: 10.61011/OS.2024.07.58904.6892-24

### Введение

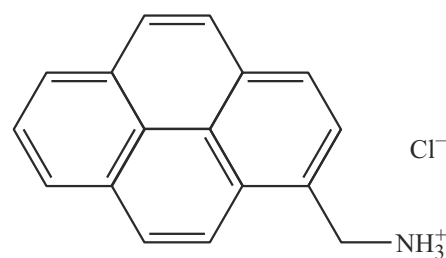
С середины XX века проводится множество биофизико-химических исследований, посвященных поиску противораковых препаратов, действие которых основано на блокировании процессов роста и деления злокачественных клеток за счет связывания с ДНК. Одним из возможных вариантов связывания химиопрепарата с ДНК является процесс интеркаляции, механизм которого в 1961 г. впервые предложил Леонард Лерман [1]. Прямое свидетельство интеркаляции молекулы в двойную спираль ДНК методом рентгеноструктурного анализа было опубликовано в 1987 г., когда была получена структура комплекса олигонуклеотида с антрациклиновым антибиотиком дауномицином [2]. При этом ароматические молекулы внедряются между соседними парами комплементарных азотистых оснований двойной спирали ДНК, образуют  $\pi$ - $\pi$ -стэкинг, что приводит к частичным структурным изменениям полинуклеотида. Это, в частности, обуславливает ограничение связывания ДНК- и РНК-полимераз с матрицей ДНК [3]. Последнее позволяет использовать интеркалянты в клинической терапии как противоопухолевые препараты. Так, для лечения болезни Ходжкина применяют даунорубин и доксорубин, для лечения саркомы Юинга — актиномицин D [4].

Данные противоопухолевые вещества являются линейно сопряженными конденсированными полиароматическими циклами. Примером нелинейно сопряженного цикла является пирен, который вследствие гидрофобности и сопоставимого размера парам азотистых оснований нуклеиновых кислот способен вступать

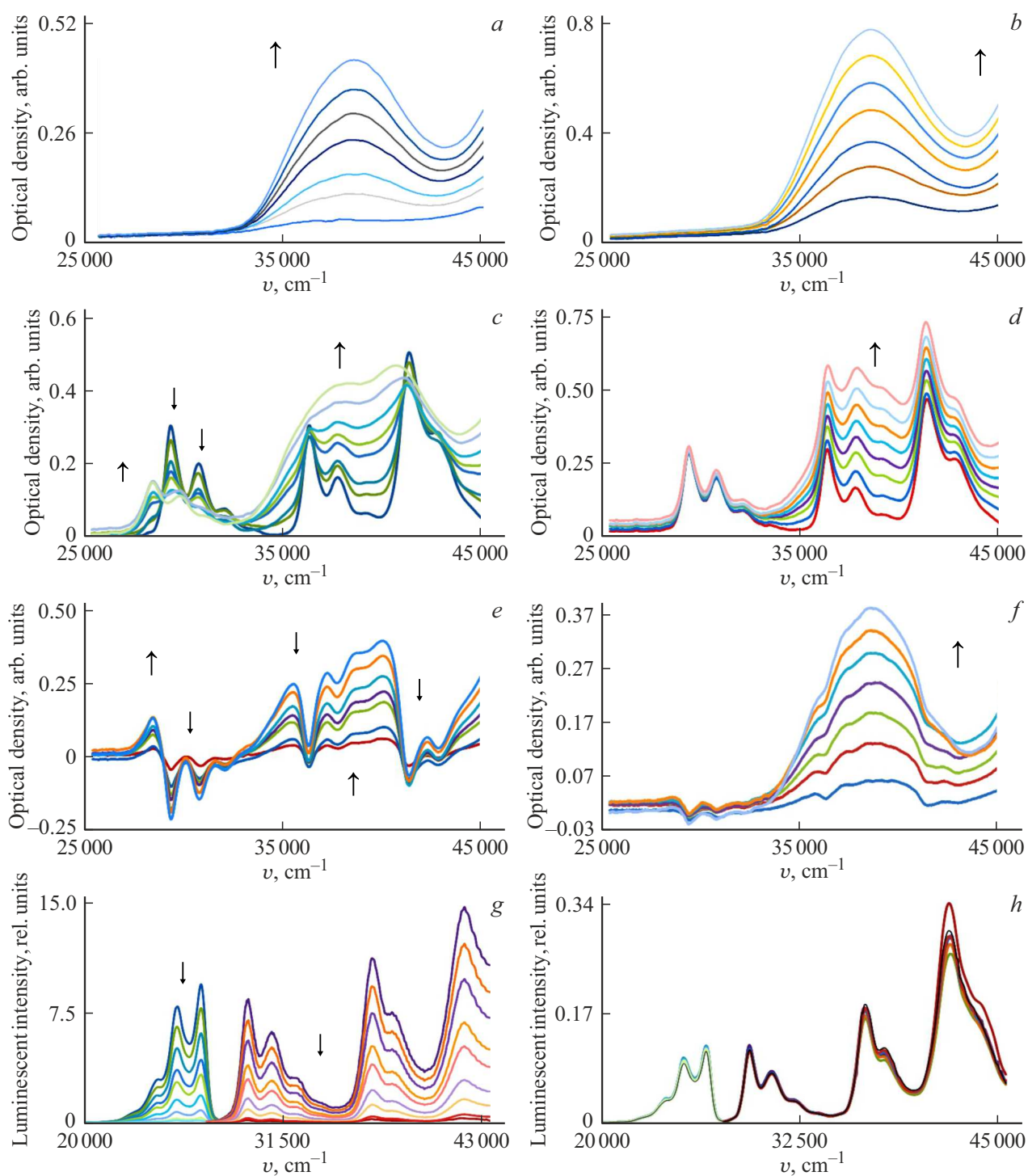
в  $\pi$ - $\pi$ -стэкинг-взаимодействия и интеркалироваться в ДНК [5]. В работе [6] путем сравнительного исследования методами квантово-механического расчета и спектроскопии электрохимического импеданса однозначно установлено, что водорастворимый аналог пирена — 1-пиренметиламин встраивается в двойную цепь ДНК за счет связывания с парой аденин-тимин. Цель настоящей работы — исследование взаимодействия 1-пиренметиламина с ДНК и РНК в водном растворе методами электронной абсорбционной и эмиссионной спектроскопии при комнатной температуре.

### Экспериментальная часть

Коммерчески доступные вещества (1-пиренметиламин солянокислый (далее ПМА, рис. 1), ДНК тимуса теленка (далее ДНК), РНК дрожжей (далее РНК), все Sigma-Aldrich) были использованы без дополнительной очистки. Все растворы готовили на дистиллированной воде. Спектральные исследования выполнены с исполь-



**Рис. 1.** Структурная формула 1-пиренметиламина солянокислого (ПМА).



**Рис. 2.** Спектры поглощения ДНК (a), РНК (b), ПМА с ДНК (c), ПМА с РНК (d), дифференциальный спектр ПМА-ДНК (e), дифференциальный спектр ПМА-РНК (f). Спектры возбуждения люминесценции и спектры люминесценции ПМА с ДНК (g), ПМА с РНК (h). При увеличении концентрации нуклеиновой кислоты спектральные изменения указаны стрелками.

зованием оборудования Центра коллективного пользования факультета химии Российского государственного педагогического университета им. А.И. Герцена: электронные спектры поглощения получали на СФ-2000 („ОКБ Спектр“, Санкт-Петербург, Россия), спектры люминесценции и возбуждения люминесценции фиксирова-

ли при комнатной температуре на спектрофлуориметре Флюорат-02-Панорама (ГК „Люмэкс“, Санкт-Петербург, Россия).

Методика титрования: к 2 ml раствора ПМА (концентрация  $\sim 10^{-5}$  mol/l) порционно добавляли по 10  $\mu$ l 0.06% раствора ДНК или РНК ( $\sim 10^{-3}$  mol/l раствор

в расчете на среднюю молярную массу нуклеотида), смесь перемешивали и последовательно фиксировали спектры поглощения, люминесценции и возбуждения люминесценции (рис. 2).

## Результаты и обсуждение

На рис. 2, *a, b* представлены спектры поглощения ДНК и РНК, которые схожи между собой наличием максимумов в области  $38450\text{ см}^{-1}$  так как в своем составе содержат азотистые основания (аденин, цитозин, тимин, гуанин и урацил) — гетероароматические соединения.

ПМА — полициклическая ароматическая молекула, и поэтому электронный абсорбционный спектр имеет серию структурированных полос, соответствующих резонансным переходам  $0 \rightarrow 0$ , с выраженными максимумами высокой интенсивности. Спектр поглощения ПМА в воде (рис. 2, *c*) представлен полосами, соответствующими диполь-разрешенным  $\pi-\pi^*$ -переходам  $S_4$ ,  $S_3$  и  $S_2$  с максимумами при  $41408$  ( $S_4$ ),  $36364$  ( $S_3$ ) и  $29369$  ( $S_2$ );  $26695\text{ см}^{-1}$  —  $S_1$ -переход разрешен по симметрии, но является диполь-запрещенным с низкой интенсивностью, поэтому отсутствует на рис. 2, *c, d* (спектр представлен в дополнительных материалах).

При титровании раствора ПМА раствором ДНК наблюдали разнонаправленные изменения в спектрах поглощения (рис. 2, *c*):

1) в области  $38450\text{ см}^{-1}$  — повышение оптической плотности, которое можно объяснить увеличением концентрации ДНК, имеющей в этом же диапазоне собственное поглощение за счет наличия в своем составе ароматических гетероциклических веществ — азотистых оснований;

2) в области  $29400-31750\text{ см}^{-1}$  — снижение оптической плотности;

3) в области  $27800-28570\text{ см}^{-1}$  — повышение оптической плотности, как бы батохромное смещение полосы поглощения.

Наличие 9 изобестических точек ( $43103$ ,  $42735$ ,  $42194$ ,  $41152$ ,  $36496$ ,  $36232$ ,  $32680$ ,  $30121$  и  $23986\text{ см}^{-1}$ ) свидетельствует об образовании одного продукта взаимодействия ПМА и ДНК. Более наглядно это взаимодействие можно увидеть на дифференциальных спектрах, которые получены вычитанием из спектров смеси ПМА-ДНК спектра исходного раствора ПМА (с нулевой концентрацией ДНК). Получившиеся дифференциальные спектры (рис. 2, *e*) не совпадают со спектрами раствора чистой ДНК (рис. 2, *a*), что однозначно указывает на взаимодействие ПМА и азотистых оснований ДНК.

После записи спектров поглощения были сразу же зафиксированы спектры люминесценции (в области  $21277-26316\text{ см}^{-1}$ ) и спектры возбуждения люминесценции (в области  $26316-43478\text{ см}^{-1}$ ) этих же растворов ПМА-ДНК (рис. 2, *g*). При титровании раствора ПМА раствором ДНК наблюдали тушение колебательно

структурированных спектров люминесценции и возбуждения люминесценции. Таким образом, методами электронной и абсорбционной и эмиссионной спектроскопии подтвержден факт интеркаляции ПМА в двуцепочечные молекулы ДНК тимуса телят, ранее установленный другими методами [6].

Аналогичные спектральные исследования были проведены при титровании раствора ПМА раствором РНК. Как видно из рис. 2, *d*, в области  $38462\text{ см}^{-1}$  наблюдали повышение оптической плотности раствора, но в области  $29412\text{ см}^{-1}$  оптическая плотность раствора почти не изменялась. Дифференциальные спектры (рис. 2, *f*), полученные так же путем вычитания из спектров смеси РНК-ПМА спектра чистого ПМА, оказались похожи на спектры поглощения чистой РНК (рис. 2, *b*). Следовательно, ПМА не взаимодействует с РНК, поскольку РНК в основной своей массе одноцепочечная, и азотистые основания в ее составе не вступают в  $\pi-\pi$ -стэкинг-взаимодействие. Этот же вывод следует из люминесцентного эксперимента (рис. 2, *h*). Увеличение концентрации РНК в растворе ПМА не приводило к изменению ни колебательно-структурированных спектров люминесценции, ни спектров возбуждения люминесценции.

Проведенное исследование взаимодействия ПМА с нуклеиновыми кислотами в водном растворе методами электронной абсорбционной и эмиссионной спектроскопии выявило факт интеркаляции ПМА в двуцепочечные ДНК тимуса телят и отсутствие взаимодействия между ПМА и одноцепочечной РНК дрожжей.

## Финансирование работы

Работа выполнена в рамках государственного задания при финансовой поддержке Министерства просвещения Российской Федерации (проект VRFY-2023-0005).

## Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## Список литературы

- [1] L.S. Lerman. *J. Mol. Biol.*, **3**, 18 (1961). DOI: 10.1016/s0022-2836(61)80004-1
- [2] A.H.J. Wang, G. Ughetto, G.J. Quigley, A. Rich. *Biochemistry*, **26**, 1152 (1987). DOI: 10.1021/bi00378a025
- [3] Е.Б. Морощкина. *Вестник СПбГУ*, **4** (4), 114 (2011).
- [4] H.K. Liu, P.J. Sadler. *Chem. Res.*, **44** (5), 349 (2011). DOI: 10.1021/ar100140e
- [5] О.А. Крашенинина. *Новые пиренильные эксимер-образующие зонды на основе олиго(2'-О-метилрибонуклеотидов) для флуоресцентной детекции РНК*. Дисс. канд. хим. наук (Новосибирск, 2017).
- [6] D. Jambrec, R. Haddad, A. Lauks, M. Gebala, W. Schuhmann, M. Kokoschka. *ChemPlusChem.*, **81**, 1 (2016). DOI: 10.1002/cplu.201600173