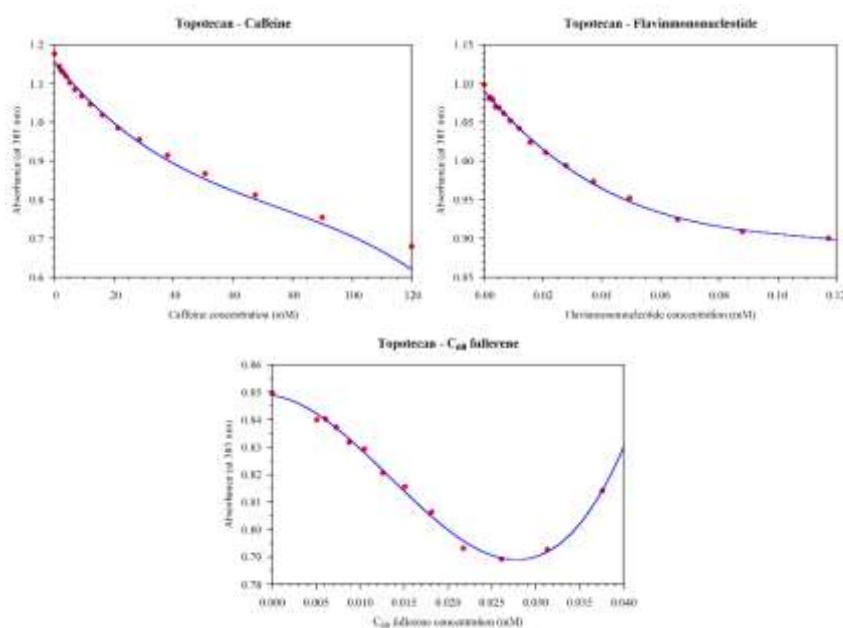


**Р.Г. Ефремов:** В русскоязычной литературе обычно используют термин «перехватчик» вместо «интерцептор».

**В.А. Сало:** Вы совершенно правы, эти термины равнозначны по смыслу. Мы, однако, придерживаемся термина «интерцептор» во избежание путаницы в понятиях, поскольку в рамках своей теории, описывающей конкурентное связывание малых молекул с ДНК, говорим, в частности, об *интерцепторном* механизме действия.

**Р.Г. Ефремов:** Слайд 11: Чему соответствуют кривые поглощения на каждом из графиков? Этих сведений на рисунке нет. Какую информацию о «взаимодействии Интерцептор (С60, CAF, FMN) – Препарат (ТРТ)» извлекали из спектров поглощения?

**В.А. Сало:** По представленным на слайде 11 спектрам поглощения смесей ТРТ–CAF/FMN/С<sub>60</sub> при различных концентрациях интерцепторов мы находили параметры гетероассоциации каждой пары «антибиотик – интерцептор». Для этого использовали не все спектры, а только концентрационную зависимость оптической плотности смеси, снятую на длине волны, соответствующей максимуму поглощения чистого топотекана (см. рисунки ниже).



Далее полученные кривые аппроксимировали с помощью статистико-термодинамических моделей из работ [1,2] (для анализа гетероассоциации ТРТ(**X**)–CAF/FMN(**Y**)):

$$A = \varepsilon^{(m)} x_0 - (\varepsilon^{(m)} - \varepsilon^{(h)}) \frac{K_h x_1 y_1}{1 - K_y y_1} \left( 1 + \frac{2 K_h y_1}{1 - K_y y_1^2} \right);$$

$$\begin{cases} x_0 = x_1 \left( 1 + \frac{K_h y_1}{1 - K_y y_1} + \frac{K_h^2 y_1^2}{(1 - K_y y_1)^2 (1 + K_y y_1)} \right) \\ y_0 = \frac{y_1}{(1 - K_y y_1)^2} \left( 1 + K_h x_1 + K_h^2 x_1 y_1 \frac{2 + K_y y_1 + K_y^2 y_1^2}{(1 - K_y y_1)(1 + K_y y_1)^2} \right) \end{cases};$$

и [3] (для анализа комплексообразования ТРТ(**X**)–С<sub>60</sub>(**C**)):

$$D_{opt} = \varepsilon_m x_1 + \varepsilon_{h1} K_{h1} C'_{R1} x_1 B + \varepsilon_{h2} (x_0 - x_1 - K_{h1} C'_{R1} x_1 B);$$

$$\begin{cases} \frac{C_0}{r} = C'_{R1} B + K_{h1} C'_{R1} x_1 B + \frac{C'_{M0}}{r} + \frac{C'_{M0} B K'_R C'_{R1}}{r (1 - K'_R C'_{R1})} \\ x_0 = x_1 + K_{h1} C'_{R1} x_1 B + \frac{C'_{M0} H K_{h2} x_1}{r (1 - K_{h2} x_1)} \end{cases}$$

Аппроксимация кривой производилась путем подгонки нескольких параметров, среди которых главную роль играет равновесная константа ассоциации. Впоследствии полученные значения констант подставляются в систему уравнений для нахождения фактора  $A_D$  по формуле 2 слайда 12.

**Р.Г. Ефремов:** Слайд 12: как при расчете  $A_D$  по формуле 1 определяли «молярную долю молекул препарата, связанных с ДНК» с/без «перехватчика»?

**В.А. Сало:** Молярные доли находятся из решения системы уравнений баланса массы. Для систем ТРТ–CAF/FMN система уравнений дана в работе [4].

$$\begin{cases} x_0 = x_1 \left( 1 + \frac{K_h y_1}{1 - K_y y_1} + \frac{K_h^2 y_1^2}{(1 - K_y y_1)^2 (1 + K_y y_1)} \right) + \theta_x N_0 \\ y_0 = \frac{y_1}{(1 - K_y y_1)^2} \left( 1 + K_h x_1 + \frac{K_h^2 x_1 y_1}{1 - K_y y_1} + \frac{K_h^2 x_1 y_1}{(1 + K_y y_1)^2} \right) + \theta_y N_0 \\ \theta_x = K_{xN} x_1 (1 - n_x \theta_x - n_y \theta_y) \left( \frac{1 - n_x \theta_x - n_y \theta_y}{1 - (n_x - 1) \theta_x - (n_y - 1) \theta_y} \right)^{n_x - 1} \\ \theta_y = K_{yN} y_1 (1 - n_x \theta_x - n_y \theta_y) \left( \frac{1 - n_x \theta_x - n_y \theta_y}{1 - (n_x - 1) \theta_x - (n_y - 1) \theta_y} \right)^{n_y - 1} \end{cases}$$

При этом величина  $\theta_x$  эквивалентна молярной доле  $f_{C_2}^x$ . Для нахождения  $f_{C_2(0)}^x$  решается нелинейное модифицированное уравнение МакГи — фон Хиппеля:

$$\theta_x^{(0)} = K_{xN} (x_0 - \theta_x^{(0)} N_0) (1 - n_x \theta_x^{(0)}) \left( \frac{1 - n_x \theta_x^{(0)}}{1 - (n_x - 1) \theta_x^{(0)}} \right)^{n_x - 1},$$

в котором величина  $\theta_x^{(0)}$  эквивалентна молярной доле  $f_{C_2(0)}^x$ .

Для системы ТРТ–C<sub>60</sub> система уравнений выглядит несколько иначе (неопубликованные данные, статья готовится нами к печати), хотя общий принцип сохраняется.

**Р.Г. Ефремов:** Как именно получали экспериментальные (in vitro) данные по значениям КГГ? Информация, представленная на слайде 6, не дает однозначного ответа на этот вопрос. Как варьировали значения КГГ в зависимости от пациента? Хватает ли статистики (выборка из трех человек)? Чувствительность данных к методам пробоподготовки? И т.д.

**В.А. Сало:** Оценка степени конденсации хроматина в ядрах клеток буккального эпителия человека по КГГ производилась в соответствии с методикой, которая описана в работе [5]. Эксперименты делались на клетках, обработанные смесью ТРТ–CAF/FMN/C<sub>60</sub> и контрольный образец (клетки без препаратов), были окрашены красителем орсеином. Ядра клеток были исследованы под микроскопом с увеличением 400 раз (на слайде 6 показаны примеры фотографий клеток). В каждом образце параметр КГГ был посчитан для 30 клеток. Это количество клеток является

близким к оптимальному и не приводит к существенному уменьшению стандартной ошибке, как было ранее показано в работе [5]. Для каждого образца выборка из трёх человек является оптимальной. Посчитанные значения КГГ, далее используются в формуле 2 (слайд 12) для получения фактора  $A_D$ .

#### *Литература*

- [1] Buchelnikov A.S., Khrustalev A.F., Evstigneev M.P. Development of an analytical approach to study a three-component hetero-association by means of spectrophotometry // *Appl. Spectrosc.* 2013, 67(1), 29–35. DOI: 10.1366/12-06619
- [2] Buchelnikov A.S., Evstigneev V.P., Evstigneev M.P. Hetero-association models of non-covalent molecular complexation // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2019, 21(15), 7717–7731. DOI: 10.1039/c8cp03183e
- [3] Mosunov A., Evstigneev V., Buchelnikov A., Salo V., Prylutskiy Yu., Evstigneev M. General up-scaled model of ligand binding with  $C_{60}$  fullerene clusters in aqueous solution // *Chem. Phys. Lett.* 2019, 721, 22–26. DOI: 10.1016/j.cplett.2019.01.051
- [4] Evstigneev M.P., Buchelnikov A.S., Evstigneev V.P. The theory of interceptor-protector action of DNA binding drugs // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2019, 149, 131–146. DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2019.04.003
- [5] Shckorbatov Yu.G., Pasiuga V.N., Kolchigin N.N., Grabina V.A., Batrakov D.O., Kalashnikov V.V., Ivanchenko D.D., Bykov V.N. The influence of differently polarised microwave radiation on chromatin in human cells // *Int. J. Radiat. Biol.* 2009, 85(4), 322–329. DOI: 10.1080/09553000902781113