

# Масс-спектрометрическое ( $^{252}\text{Cf}$ -PDMS) исследование взаимодействия аминогликозидных антибиотиков и компонентов нуклеиновых кислот

А. Н. Калинин, В. В. Пилипенко, Т. Г. Калинин, Л. Ф. Суходуб

Институт прикладной физики НАН Украины  
Ул. Петропавловская, 58, Сумы, 40030, Украина

E-mail: kalinkevich@yahoo.com

---

*Методом плазменно-десорбционной масс-спектрометрии ( $^{252}\text{Cf}$ -PDMS) изучено относительное сродство аминогликозидного антибиотика стрептомицина к нуклеозидам — аденозину, уридину, гуанозину, цитидину. Показано, что сродство убывает в ряду  $\text{Urd} > \text{Ado} > \text{Cyd} > \text{Guo}$ .*

---

**Введение.** Аминогликозиды представлены обширной группой антибиотиков [1]. Основной их мишенью являются нуклеиновые кислоты — 30S (16S РНК) субъединица рибосом. В последние годы, кроме рибосомных субъединиц, обнаружены и другие мишени аминогликозидов. Аминогликозиды специфически ингибируют группу I интронов (self-splicing group I), «молоточковый» (hammerhead) рибозим, а также способны конкурентно блокировать связывание вирусного (ВИЧ) белка Rev с его сайтом распознавания на вирусной РНК [2, 3].

**Материалы и методы.** В работе использован мягкоионизационный масс-спектрометрический метод плазменной десорбции/ионизации ( $^{252}\text{Cf}$ -PDMS), установка МСВХ-1 (производство АО «SELMI», Украина). Модельные смеси стрептомицина и нуклеозидов готовили в дистиллированной воде при молярном соотношении 1:1, инкубировали в течение 1 ч и затем высушивали непосредственно на пробонесущем диске масс-спектрометра.

**Результаты и обсуждение.** Как нуклеозиды, так и аминогликозиды дают достаточно «чистые» спектры с информативными (и немногочисленными) пиками в области молекулярных масс исследуемых соединений.

На рис. 1 показан масс-спектр чистого стрептомицина, пик молекулярного иона —  $m/z$  583

( $[\text{M} + \text{H}]^+$ ). Процесс фрагментации стрептомицина приводит к образованию двух фрагментных ионов — иона агликона  $m/z$  263 ( $[\text{AgI} + \text{H}]^+$ ), образовавшегося в результате разрыва гликозидной связи, и иона  $m/z$  406, отвечающего фрагменту молекулы, образовавшемуся в результате разрыва связи между двумя моносахаридными остатками. Пик  $m/z$  601 соответствует гидратированному иону  $[\text{M} + \text{H}_2\text{O}]^+$ .

В масс-спектрах модельных смесей (рис. 2), кроме пиков индивидуальных компонент, наблюдались пики, соответствующие ионам типа [нуклеозид + стрептомицин +  $\text{H}]^+$ . Интенсивность этих (так называемых гетерокластерных) пиков была различной и зависела от природы нуклеозида. Видно, что интенсивность пиков снижается в ряду  $\text{Urd} > \text{Ado} > \text{Cyd} > \text{Guo}$ , причем только в случае гуанозина в спектре присутствует пик димера  $2\text{Guo}$ .

Ранее показано [3], что в случае нативных РНК интенсивность кластерных пиков в масс-спектрах (ESI MS) коррелирует со значением констант диссоциации комплексов, измеренных другими методами.

Поскольку вопросы о силах, ответственных за нековалентное связывание малых молекул аминогликозидов и РНК (водородные связи, электростатические силы, другие силы или их совместный эффект), а также о частях молекул, обуславливающих взаимодействие (полярные радикалы — амино и/или гидроксильные группы антибиотиков, уг-

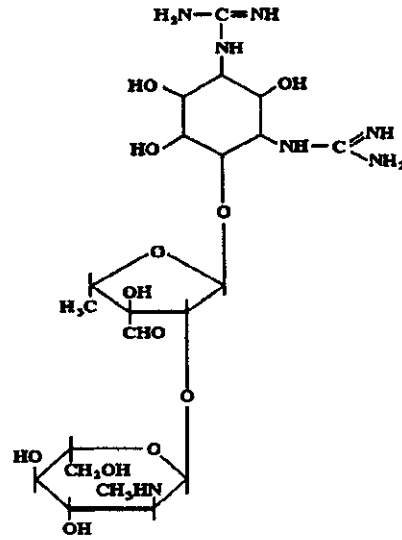
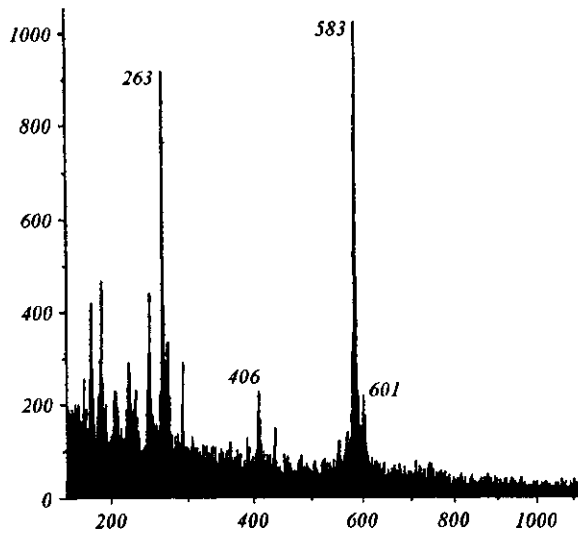


Рис. 1. Масс-спектр положительных ионов стрептомицина и его химическая структура

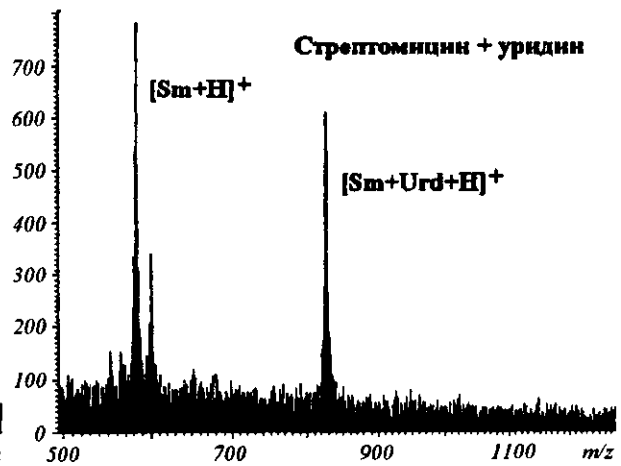
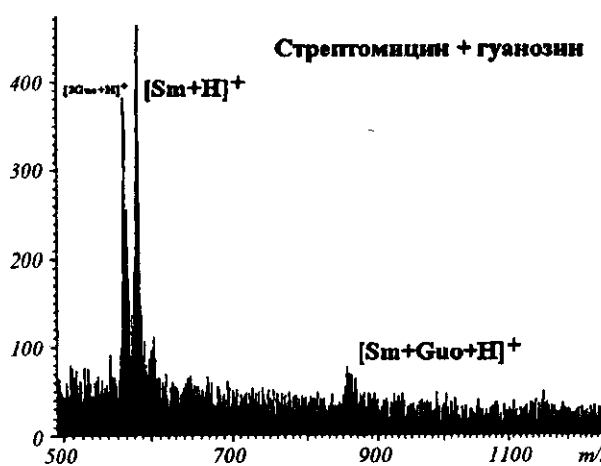
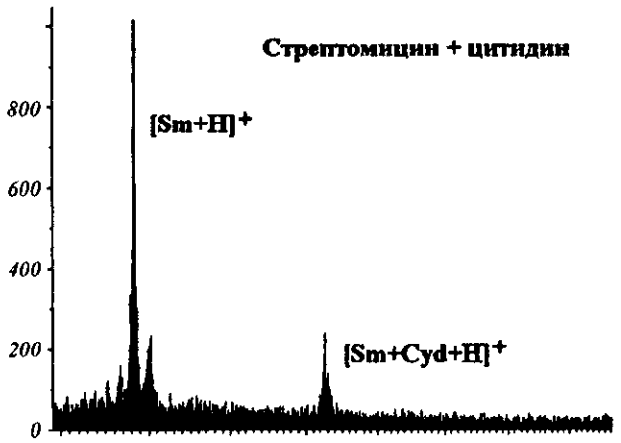
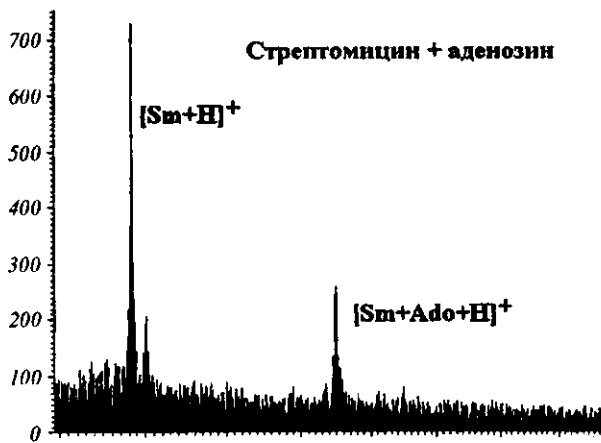


Рис. 2. Масс-спектры положительных ионов двухкомпонентных смесей стрептомицина и нуклеозидов

леводный скелет и/или гетероциклические основания РНК [2]), остаются открытыми, выяснение сродства молекул на уровне мономеров и фрагментов может оказаться полезным для определения уровня вклада различных сил и участков молекул в комплексный процесс их взаимодействия *in vivo*.

Представленные данные, по мнению авторов, свидетельствуют о том, что гетероциклические основания вносят существенный вклад, в сродство аминогликозида к фрагменту РНК, поскольку рибозный фрагмент у всех исследованных молекул нуклеозидов одинаков. Важной задачей при этом является выяснение структуры и закономерностей образования исследуемых комплексов (известно, что в трактовке подобных масс-спектрометрических данных по сей день существуют определенные разногласия), что требует дальнейших исследований.

A. N. Kalinkevich, V. V. Pilipenko, T. G. Kalinichenko,  
L. F. Sukhodub

Mass spectrometry ( $^{252}\text{Cf}$ -PDMS) study of aminoglycoside antibiotics interaction with nucleic acid components

#### Summary

Relative affinity of the aminoglycoside antibiotic streptomycine to nucleosides — adenosine, uridine, guanosine, cytidine was studied

by the plasma desorption mass spectrometry ( $^{252}\text{Cf}$ -PDMS). It has been shown that the affinity decreases in the row Urd > Ado > Cyd > Guo.

A. N. Kalinkevich, V. V. Pilipenko, T. G. Kalinichenko,  
L. F. Sukhodub

Мас-спектрометричне ( $^{252}\text{Cf}$ -PDMS) дослідження взаємодії аміноглікозидних антибіотиків і компонентів нуклеїнових кислот

#### Резюме

Методом плазмово-десорбційної мас-спектрометрії ( $^{252}\text{Cf}$ -PDMS) вивчали відносну спорідненість аміноглікозидного антибіотика стрептоміцину до нуклеозидів — аденозину, уридину, гуанозину, цитидину. Показано, що спорідненість зменшується в ряду Urd > Ado > Cyd > Guo.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Навашин С. М., Фомина И. П., Сазыкин Ю. О. Антибиотики группы аминогликозидов.—М.: Медицина, 1977.—273 с.
2. Wang H., Tor Y. Electrostatic interaction in RNA aminoglycosides binding // J. Amer. Chem. Soc.—1997.—119.—P. 8734—8735.
3. Sannes-Lowery K. A., Griffey R. H., Hofstadler S. A. Measuring dissociation constants of RNA and aminoglycoside antibiotics by electrospray ionization mass spectrometry // Anal. Biochem.—2000.—280.—P. 264—271

УДК 577.32, 539.196  
Надійшла до редакції 05.10.01