

ЭЛЕКТРОАНАЛИЗ В ФАРМАКОГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ: МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ С ДНК

© 2024 г. В. В. ШУМЯНЦЕВА^{1,2*}, В. В. ПРОНИНА¹,
Т. В. БУЛКО¹, Л. Е. АГАФОНОВА¹

¹ Научно-исследовательский институт биомедицинской химии
имени В.Н. Ореховича, Лаборатория биоэлектрохимии, Москва

² Российский национальный исследовательский медицинский
университет имени Н.И. Пирогова, Кафедра биохимии, Москва

I. Введение. II. Модификации электродов для анализа ДНК.
III. Взаимодействие лекарственных препаратов с ДНК как модель
фармакогеномики. IV. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Фармакогеномика – изучение изменений физико-химических характеристик ДНК и РНК, связанных с реакцией на лекарственные средства [1–3]. Физико-химические свойства нуклеиновых кислот, в свою очередь, влияют на биохимические и молекулярно-биологические функции этого важнейшего класса биологически активных соединений. Нуклеиновые кислоты (ДНК, РНК, микроРНК, олигонуклеотиды, вирусная ДНК или РНК, терапевтические олигонуклеотиды, внеклеточная ДНК, циркулирующая опухолевая ДНК) могут присутствовать как в нормальных, так и в патологических клетках живых организмов и выполнять важнейшие функции по

Принятые сокращения: УНТ – углеродные нанотрубки; ПГЭ – печатный графитовый электрод; дцДНК – двухцепочечная ДНК; ДИВА – метод дифференциально-импульсной вольтамперометрии; ГЦО – гетероциклические основания, НК – нуклеиновые кислоты.

Адрес для корреспонденции: viktorina.shumyantseva@ibmc.msk.ru

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период 2021–2030 годы (№122030100168-2).

хранению, передаче и реализации наследственной информации, а также как маркеры заболеваний и диагностические биомолекулы [4–9]. Лекарственные препараты различной химической структуры, являясь мишенями ферментных систем и рецепторов, могут взаимодействовать также и с другими биомолекулами, в частности с ДНК или РНК, имеющими различные функции [8–10]. Изучение механизмов взаимодействия лекарственного средства и ДНК/РНК в роли фармакологической мишени играет ключевую роль в фармакологии и имеет большое значение для разработки и синтеза новых лекарственных средств [12]. Эффективность связывания и тип взаимодействия с фармакологическими препаратами влияет как на структурно-функциональные свойства (форма и архитектура молекулы), так и на молекулярно-биологические свойства ДНК (репликация, транскрипция, трансляция, репарация) [4]. Анализ таких взаимодействий складывается из трех задач: количественный анализ собственно ДНК (РНК), анализ лекарственного препарата и анализ образующегося комплекса ДНК-лекарство. Исследование комплекса включает анализ механизма взаимодействия лекарственного средства с молекулой ДНК (РНК).

Разработаны различные методы анализа для исследования взаимодействия ДНК-лекарство, такие как УФ-видимая спектроскопия, флуоресцентная и люминесцентная спектроскопия, круговой дихроизм; ядерный магнитный резонанс, исследования по измерению вязкости, изотермическая дифференциальная (титрационная) калориметрия и инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье, электрофоретические методы, поверхностный плазмонный резонанс, микровзвешивание с помощью кварцевых резонаторов, атомная силовая микроскопия, конфокальная Рамановская спектроскопия, масс-спектрометрия, а также методы молекулярной динамики [10–16]. Описанные методы основаны на регистрации изменения свойств нуклеиновых кислот в результате проявления различных типов взаимодействий с низкомолекулярными соединениями.

Анализ и детектирование нуклеиновых кислот в биологических жидкостях является одной из наиболее актуальных в современной медицине проблем, поскольку её решение способствует развитию персонализированной медицины, диагностики и фармакогеномики как науки об изучении влияния лекарственного средства на ДНК.

Лекарства, способные связываться с ДНК, могут влиять на жизненно важные функции клеток, воздействуя на экспрессию, модифицируя гистоны, вызывая карциногенез или мутагенез. Химическая реакционная способность лекарственных препаратов и образование

активных форм кислорода может приводить к повреждению ДНК и разрывам сахарофосфатного остова [4, 17]. Взаимодействие лекарственных препаратов с двухцепочечной ДНК может происходить различными способами (Рис. 1А), включая интеркаляцию, связывание в бороздках спирали, электростатические взаимодействия, расщепление ДНК и встраивание аналогов нуклеозидов, что может приводить к термодинамической нестабильности и изменению функциональных свойств ДНК [4, 17–19]. Понимание механизмов комплексообразования лекарство-ДНК имеет решающее значение для конструирования и синтеза новых лекарственных препаратов [19]. Индукция повреждения или разрывов цепи ДНК является серьезной проблемой для многих противоопухолевых терапий, мишенью которых является ДНК. Кроме того, для экспериментальной и клинической онкологии необходим дизайн новых ДНК-связывающих молекул, способных изменять архитектуру ДНК и блокировать различные типы транскрипции, не вызывая повреждения ДНК.

Различные методы анализа ДНК, олигонуклеотидов, гетероциклических оснований являются информативными, однако не позволяют регистрировать взаимодействия индивидуально с каждым из гетероциклических оснований. Электрохимические методы регистрации НК основаны на электроокислении гетероциклических оснований (ГЦО) при определенном потенциале, специфичном для каждого основания [19–25]. В данном обзоре проанализированы электрохимические методы исследования механизмов взаимодействия лекарственных препаратов с ДНК (Рис. 1Б).

II. МОДИФИКАЦИИ ЭЛЕКТРОДОВ ДЛЯ АНАЛИЗА ДНК

Электроанализ в фармакогеномных исследованиях хорошо зарекомендовал себя благодаря высокой чувствительности анализа (мкг/мл), небольшому объему реагентов (2–60 мкл), селективности анализа биологических объектов, а также процедуре наноструктурирования поверхности рабочего электрода для улучшения метрологических параметров биосенсора [21, 24]. Для анализа комплексообразования ДНК–лекарство используются различные методы из арсенала электрохимии, такие как циклическая, дифференциально-импульсная и квадратно-волновая вольтамперометрия, спектроскопия электрохимического импеданса [26]. Дифференциальная импульсная вольтамперометрия (ДИВА) обладает высокой чувствительностью, что позволяет регистрировать гетероциклические основания отдельно для детального изучения взаимодействия лекарство-ДНК [4, 26–28].

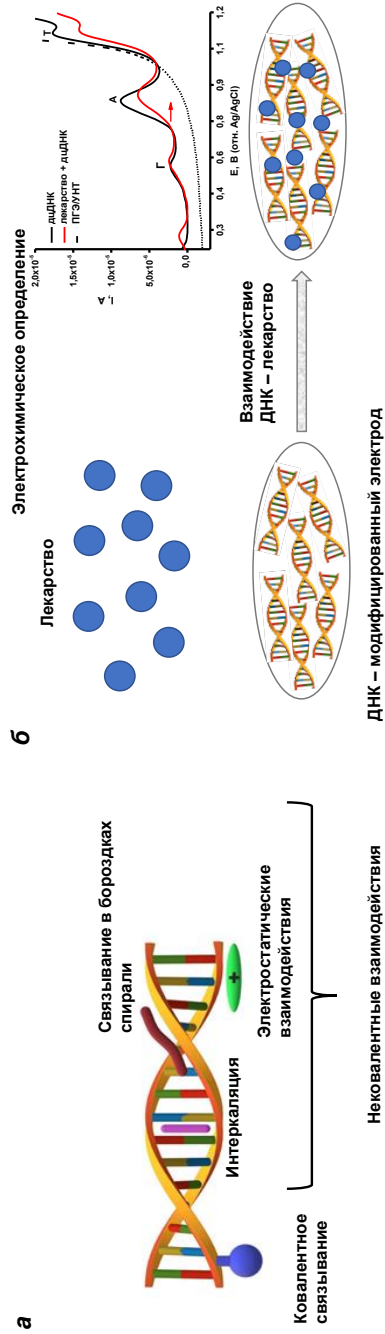


Рис. 1. Типы взаимодействий ДНК–лекарство (а) и их анализ на электроде (б).

Механизмы электрохимического окисления как пуриновых, так и пиримидиновых оснований хорошо изучены. Продуктами этих реакций являются оксо-производные гуанина и аденина (8-оксогуанин, 8-оксоаденин, 2,8-диоксоаденин, а также радикальные производные, подвергающиеся гидролизу и олигомеризации [21, 28–32].

Электрохимические методы активно применяются в биохимических, биомедицинских, молекулярно-биологических исследованиях вследствие высокой чувствительности, позволяющей регистрировать низкие концентрации НК (мкг/мл) многопараметричности регистрируемых сигналов, использованию нанотехнологий и наноматериалов, а также широкому арсеналу методов получения и обработки результатов электроанализа [21, 24, 27, 28]. Преимуществом электрохимических методов является количественное определение электроактивного биокомпонента на основе применения фундаментальных законов электрохимии, при этом измерительные устройства могут быть как стационарными для проведения фундаментальных исследований, так и портативными для проведения анализов в клинических лабораториях, для скрининга потенциальных лекарственных препаратов и исследования их мишеней, таких как белки (цитохромы P450, ДНК, рецепторы) [29–34].

Для анализа ДНК, олигонуклеотидов, ГЦО используются различные типы материалов для изготовления электродов: золото; алмаз, допированный бором; оксид олова, легированный индием; платина; а также различные типы электродов на основе углерода (стеклоуглеродные, графитовые) [35]. Наибольшее число публикаций принадлежит использованию именно электродов на основе углерода [35].

Функционализация электродной поверхности играет важную роль при разработке сенсорных систем для биохимии, клинической медицины, фармакологии [33, 36, 37].

Для модификации электродной поверхности используются различные материалы: полимеры, гели, природные биомолекулы, металлы и их оксиды, в том числе и наноматериалы, такие как коллоидные растворы золота, серебра (наночастицы металлов), оксидов железа, одностеночные и многостеночные углеродные нанотрубки, графен, оксид графена, графен, допированный бором, азотом, серой, липиды, синтетические мембраноподобные вещества, полимерные композиции [33–44].

Модификация электродов многостеночными или одностеночными углеродными нанотрубками (УНТ) широко используется в биосенсорном анализе. Углеродные наноматериалы имеют увеличенную площадь поверхности, улучшенную проводимость и широкой

диапазон рабочих потенциалов, а также высокую чувствительность и низкий предел определяемых концентраций при анализе пуриновых и пиримидиновых оснований, входящих в состав ДНК [40, 41, 44, 45].

Необходимо отметить, что при проведении фармакогеномных исследований решающее значение имеет «разрешающая способность» сенсора, т.е. регистрация отдельных ГЦО для получения электрохимической сигнатуры соответствующей молекулы ДНК [22–25, 45]. В наших исследованиях при модификации электродов, получаемых методом трафаретной печати, дисперсиями УНТ в карбоксиметилцеллюлозе (Tuball Batt H₂O 0.4 wt.%, OCSIAL Ltd., Oksial Additives NSK LLC, Novosibirsk, Russia, <https://ocsial.com>) (ПГЭ/УНТ) были зарегистрированы три гетероциклических основания, частично фрагментированной дцДНК рыб [24, 25, 46, 47] (Рис. 2).

Кроме того, модифицированные электроды должны обладать высокой чувствительностью по отношению к лекарственному препарату в области неперекрывающихся потенциалов электроокисления ДНК и лекарства (Рис. 3). На рис. 3 представлена ДИВА электродов с иммобилизованной ДНК (потенциалы электроокисления гуанина $E = +0,59 \pm 0,01$ В, аденина $E = +0,88 \pm 0,01$ В, тимина $E = +1,12 \pm 0,05$ В) и ДИВА доксорубицина, $E = +0,26 \pm 0,01$ В [25, 47].

Электроокисление цитозина происходит при более положительных значениях потенциалов и имеет низкие скорости реакции при использовании стеклоуглеродных и ртутных капельных электродов [33]. При использовании графитовых электродов, получаемых методом трафаретной печати, «окно» рабочих потенциалов не позволяет зарегистрировать цитозин.

Для исследования влияния лекарственного препарата на структуру и взаимодействие с гетероциклическими основаниями ДНК необходим выбор соответствующего нуклеотидного материала как модели для фармакогеномики. Плазмидная ДНК pTagGFP2-N представляет собой высокомолекулярную структуру (4729 пар оснований). При электроанализе методом ДИВА плазмидная суперскрученная ДНК регистрируется как один широкий неразрешимый пик с максимумом при потенциале $E = 0,50 \pm 0,01$ В. Такой тип ДНК менее информативен при исследовании взаимодействия с лекарственными препаратами. Тимусная ДНК также представляет высокомолекулярную структуру и электрохимически регистрируется ее электроокисление как один пик [48].

Для наиболее полной характеристики типов и избирательности (Рис. 4) взаимодействий с лекарственными препаратами предпочтительнее анализировать структуры ДНК, позволяющие регистрировать влияние лекарства на отдельные ГЦО ДНК [25, 33, 49, 50].

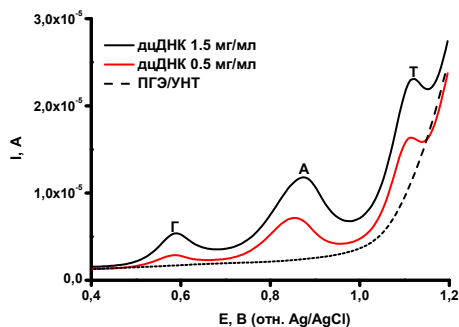


Рис. 2. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы электродов, модифицированных УНТ (---) без ДНК, концентрация дцДНК 0,5 (-) и 1,5 мг/мл (-): Г – гуанин, А – аденин, Т – тимин.

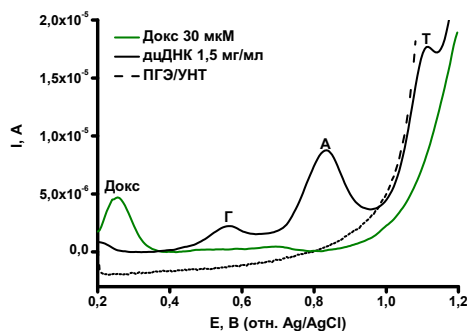


Рис. 3. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы электродов, модифицированных УНТ (---) без ДНК, дцДНК (-): Г – гуанин, А – аденин, Т – тимин, доксорубицином (Докс) (-).

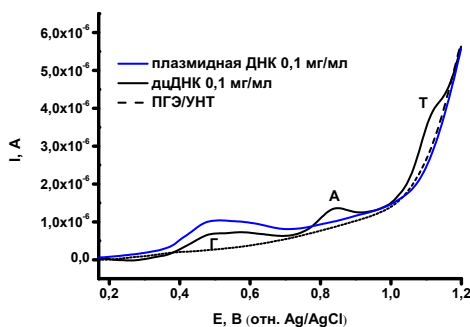


Рис. 4. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы электродов, модифицированных УНТ (---) без ДНК, плазмидной ДНК (-) и дцДНК (-) при концентрации 0.1 мг/мл: Г – гуанин, А – аденин, Т – тимин.

III. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ С ДНК КАК МОДЕЛЬ ФАРМАКОГЕНОМИКИ

Фармакогеномика является комплексным направлением, объединяющим изучение изменений физико-химических характеристик ДНК и РНК, связанных с реакцией на лекарственные средства. Электрохимический анализ позволяет проводить такие исследования для получения информации о механизме влияния лекарства на ДНК. Так как электроанализ ДНК позволяет зарегистрировать как пуриновые, так и пиримидиновые основания, возможно проанализировать связывание отдельно с каждым из оснований и сделать вывод о типе взаимодействия. Для получения количественных характеристик взаимодействия ДНК и лекарства проводится расчёт константы связывания в системе ДНК-лекарство. Регистрация концентрационно-зависимого снижения интенсивности электроокисления оснований дцДНК (ДНК-опосредованного токсического эффекта) соответствует образованию электрохимически менее активного, чем интактная ДНК, комплекса, что даёт возможность оценки электрохимического коэффициента токсического эффекта препарата (T). Информация о смещении потенциала электроокисления пуринов в отрицательную (катодную) или положительную (анодную) область потенциалов даёт возможность охарактеризовать процесс связывания ДНК-лекарство. При интеркаляционном виде связывания регистрируется смещение потенциалов электрохимического окисления ГЦО в положительную (анодную) область потенциалов, смещение в отрицательную (катодную) область потенциалов может свидетельствовать об образовании водородных связей и/или электростатических взаимодействий в системе ДНК-лиганд [51–55]. Анализ взаимодействия дцДНК с противовирусным препаратом умифеновиром (арбидол) продемонстрировал смещение потенциалов электроокисления оснований в область отрицательных значений, подтверждающих электростатический тип взаимодействия (Рис. 5А,Б) [46, 56–66].

Для количественной оценки ДНК-опосредованного токсического эффекта рассчитывается электрохимический коэффициент токсического эффекта препарата, как величина изменения интенсивности токов электроокисления ГЦО ДНК (формула 1):

$$T = (T_s / T_b) \times 100\% \quad (1),$$

где T_b и T_s – интенсивности пиков электроокисления ДНК до и после взаимодействия с лекарством, соответственно. По принятым критериям препарат считается нетоксичным, если коэффициент токсического эффекта (T) больше 85%; препарат проявляет умеренно токсический эффект, если T имеет значения от 50 до 85%, и препарат с выраженным токсическим эффектом, если T меньше 50% [48, 56, 57].

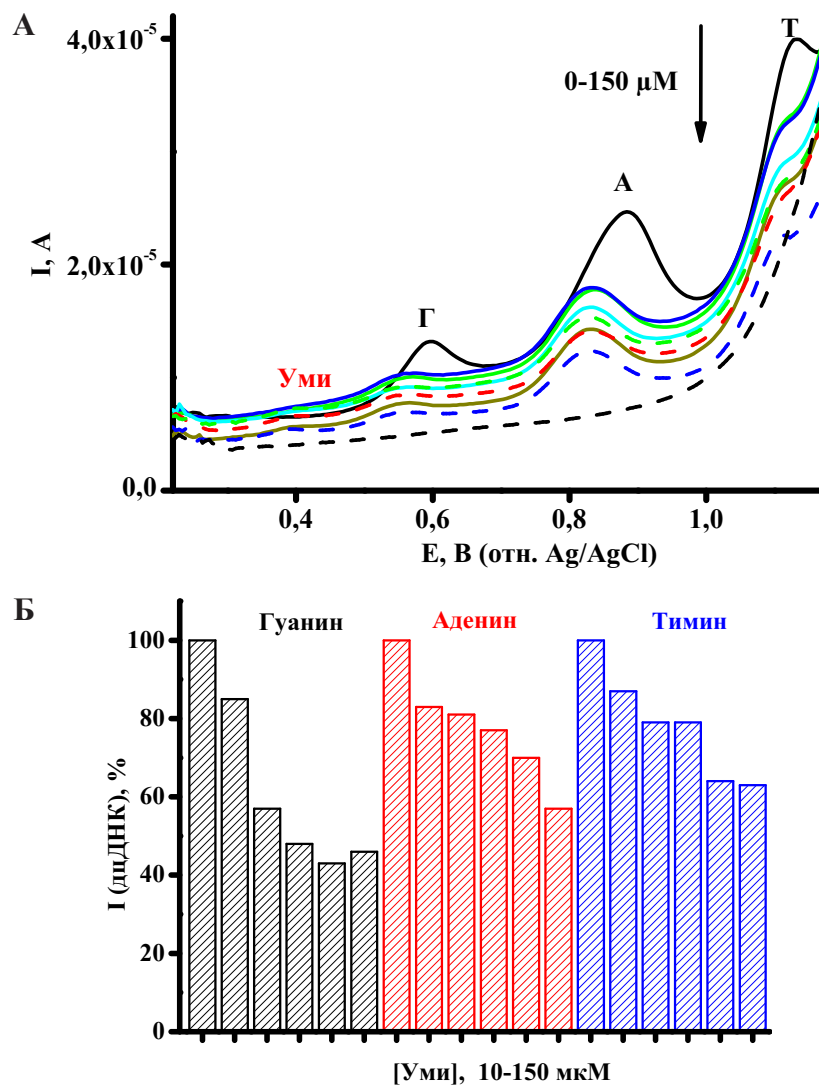


Рис. 5. (А) Дифференциально-импульсная вольтамперограмма дцДНК без лекарственного препарата умифеновир (-) и в присутствии умифеновира (Уми) в диапазоне концентраций 10–150 мкМ (цветные линии), стрелкой показано увеличение концентрации умифеновира (Уми), ПГЭ/УНТ без ДНК (---).

(Б) Гистограммы, соответствующие изменению интенсивности токов электро-окисления гуанина (Г), аденина (А) и тимина (Т) до взаимодействия с умифеновиром (100 % ток) и после взаимодействия с умифеновиром в диапазоне концентраций 10–150 мкМ (10 мкМ, 70 мкМ, 100 мкМ, 120 мкМ, 150 мкМ умифеновира).

Для противоопухолевого препарата доксорубицина и его фосфолипидной композиции (препарат, встроенный в фосфолипидные наночастицы), коэффициент токсического эффекта (T) был более 50%, что свидетельствует о средней ДНК-опосредованной токсичности препарата в диапазоне концентраций 0,5–290 мкМ [47].

Константа связывания для процесса образования комплекса [ДНК×лекарство] (2) рассчитывается по уравнениям (3, 4) при постоянной концентрации ДНК, используя логарифмическую форму [67–70].



$$Kb = [\text{ДНК} \times \text{лекарство}] / ([\text{ДНК}] \times [\text{лекарство}]) \quad (3),$$

$$\log\left(\frac{1}{[\text{Лекарство}]}\right) = \log Kb + \log\left(\frac{I(\text{ДНК} \times \text{Лекарство})}{I(\text{ДНК}) - I(\text{ДНК} \times \text{Лекарство})}\right) \quad (4),$$

где Kb – константа связывания, (M^{-1}), $I(\text{ДНК})$ – максимальная амплитуда тока электроокисления ДНК, $I(\text{ДНК} \times \text{лекарство})$ – максимальная амплитуда тока электроокисления комплекса [ДНК×лекарство].

Для расчета константы связывания необходимо регистрировать зависимости изменения интенсивности тока электроокисления оснований от концентрации лекарственного препарата [67]. Расчёт константы связывания может быть использован не только для анализа ДНК, но и для других молекул, которые могут электроокисляться, например, лекарственные препараты, в том числе, включённые в фосфолипидные наночастицы как системы адресной доставки и другие биологически активные соединения. Константы связывания для интеркаляционных типов взаимодействий лекарства с ДНК находятся в пределах 10^4 – $10^6 M^{-1}$. Для электростатических взаимодействий константы связывания имеют существенно более низкие значения (как правило, $10^3 M^{-1}$) [25, 26, 46, 47, 60–70]. Смещение потенциалов электроокисления ГЦО ДНК позволяет определить механизм комплексообразования. При интеркаляции лекарства, затрудняющем процесс окисления основания, регистрируется смещение потенциала в область положительных значений. Смещение потенциала в отрицательную область сигнализирует о наличии электростатических взаимодействий, которые могут проявляться также в связывании с малой бороздкой ДНК.

На основании анализа полученных результатов по смещению потенциалов электрохимического окисления ГЦО при образовании комплекса [ДНК×лекарство] и значений констант связывания можно сделать вывод о механизме взаимодействия препарата с ДНК.

Термодинамический профиль связывания лиганда с нуклеиновыми кислотами, изменения свободной энергии Гиббса (ΔG), энтальпии (ΔH) и энтропии (ΔS), характеризует механизм действия препаратов (формулы 5–7). Электрохимические методы могут использоваться при расчёте термодинамических параметров комплексообразования ДНК-лекарство и лиганд-рецепторных взаимодействий. Значение свободной энергии Гиббса позволяет сделать вывод о самопроизвольном протекании реакции комплексообразования при $\Delta G < 0$ и рассчитывается по формуле (5), энтропийный и энтальпийный вклады рассчитываются по формулам (6, 7):

$$\Delta G = -RT \ln Kb \quad (5),$$

$$\ln Kb = -\Delta H/RT \quad (6),$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (7),$$

где ΔG – свободная энергия Гиббса, ΔH – изменение энтальпии, ΔS – изменение энтропии, R – газовая постоянная, T – температура, Kb – константа связывания [69].

Связывание лиганда с бороздками ДНК обычно имеет благоприятный энтропийный вклад, тогда как интеркаляторы характеризуются отрицательным вкладом энтропии. Положительное изменение энтальпии является благоприятным для интеркаляторов. Связывание в бороздках ДНК представляет собой энтропийно управляемый процесс, а в интеркаляционные взаимодействия вносит вклад энтальпийный фактор [69, 70].

Введение дополнительных функций (например, систем адресной доставки лекарств или заключение препарата в наночастицы) в молекулу лекарственного препарата может изменить характер взаимодействия с ДНК. Механизм действия противоопухолевого препарата доксорубицина основан на интеркаляционных взаимодействиях с ДНК. Доксорубин (Докс) и наночастица доксорубицина (доксорубин, встроенный в фосфолипидные наночастицы, ДоксНЧ) взаимодействуют с ДНК, вызывая смещение потенциала электроокисления ГЦО (гуанина, аденина и тимина) в анодную область, что доказывает интеркаляционный характер взаимодействия (Рис. 6А, Б).

Однако, при иммобилизации целевого пептида NGR несущего функцию аффинности к аминопептидазе N, играющей роль маркера (CD13) мембранной поверхности раковых клеток, к фосфолипидным наночастицам со встроенным доксорубицином (ДоксНЧ–NGR) меняется механизм взаимодействия, что регистрируется по смещению потенциалов электроокисления ГЦО в катодную область (на 8–30 мВ) (Рис. 6В). Такой механизм отражает включение электростатических взаимодействий, вероятно за счет заряженных функциональных групп целевого пептидного фрагмента [25, 47].

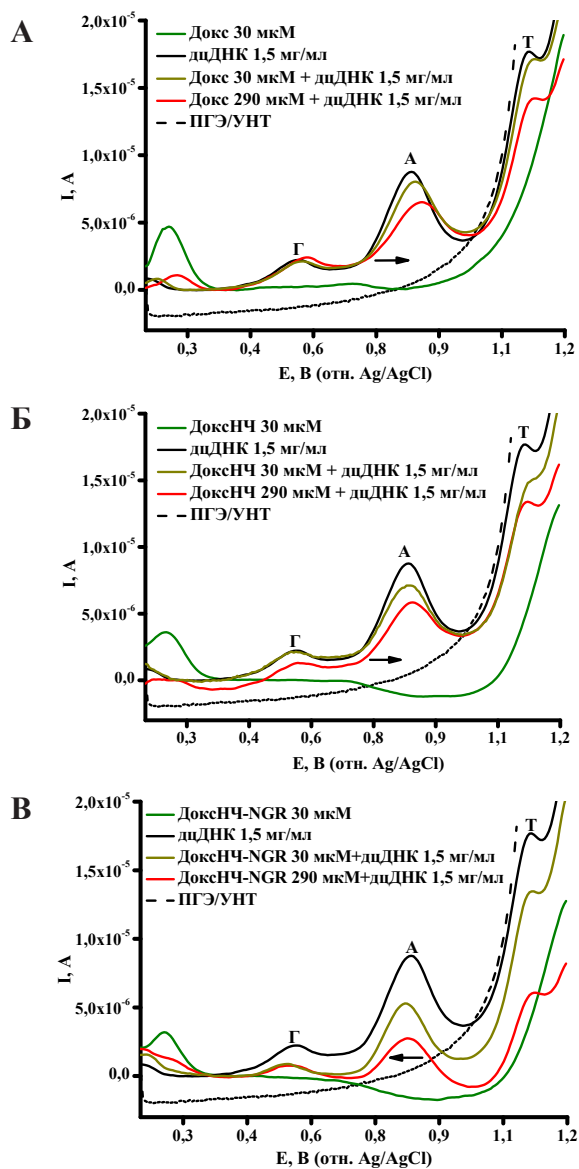


Рис. 6. (А) Дифференциально-импульсная вольтамперограмма дцДНК без лекарственного препарата (-) и в присутствии доксорубина (Докс - и -).

(Б) в присутствии наноформы доксорубина (ДоксНЧ - и -).

(В) в присутствии наноформы доксорубина с таргетным пептидом (ДоксНЧ-NGR - и -), ПГЭ/УНТ (---).

Стрелки указывают смещение потенциала электроокисления ГЦО ДНК.

В Таблице приведены значения констант связывания и тип взаимодействия ряда широко используемых в практической медицине лекарственных препаратов. Вывод о типе взаимодействия также может быть сделан на основании смещения потенциалов электроокисления гетероциклических оснований таргетной молекулы ДНК.

IV. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В обзоре рассмотрены электрохимические методы анализа для исследования взаимодействия лекарственных препаратов с ДНК. Электроанализ основан на регистрации изменения в результате взаимодействия как потенциала электроокисления, так и интенсивности тока (максимальной амплитуды) электроокисления ГЦО. Смещение потенциала электроокисления в катодную или анодную область является индикатором для отнесения процесса комплексообразования к определенному типу взаимодействия. При интеркаляции лекарственного соединения регистрируется смещение потенциала в область положительных значений, что свидетельствует о термодинамически невыгодном процессе, затрудняющем процесс окисления основания. Смещение потенциала в отрицательную область свидетельствует об электростатических

Таблица. Константы связывания и типы взаимодействия лекарственных препаратов

Лекарственный препарат	Константа связывания, M^{-1}	Тип взаимодействия	Ссылка
Дауномицин	7×10^5	Интеркаляция	[4]
Доксорубицин	$1,2 \times 10^4$ 10^6	Интеркаляция Интеркаляция	[25] [47]
Досатиниб	$4,49 \times 10^4$	Интеркаляция	[4, 67]
Рифампицин	$0,38-1,1 \times 10^4$	Интеркаляция	[22]
Рибавирин	$4,4 \times 10^3$	Связывание в бороздке, электростатические взаимодействия	[49]
Кверцетин	$4,8 \times 10^3$	Связывание в бороздке, электростатические взаимодействия	[49]
Умифеновир	(Гуанин) $2,8 \times 10^4$ (Аденин) $5,7 \times 10^4$ (Тимин) $4,7 \times 10^4$	Связывание в бороздке, электростатические взаимодействия	[46]
Абигатерон	$1,35-0,36 \times 10^6$ $1,63 \times 10^4$	Связывание в бороздке, электростатические взаимодействия	[57] [23]

взаимодействиях, которые могут проявляться в связывании с малой бороздкой ДНК. Этот процесс не препятствует электрохимическому окислению оснований. Концентрационно-зависимое снижение интенсивности электроокисления ГЦО позволяет количественно оценить тип взаимодействия и рассчитать константы связывания. Интеркаляционные взаимодействия характеризуются значениями констант 10^4 – 10^6 M^{-1} , электростатические взаимодействия и связывание с малой бороздкой молекулы ДНК характеризуется значениями порядка 10^3 M^{-1} . Кроме того, изменение интенсивности амплитуды тока окислительного процесса ДНК позволяет рассчитать электрохимический коэффициент токсического эффекта препарата. Препарат проявляет ДНК-опосредованное токсическое эффект, если коэффициент токсичности менее 50 %, средне токсичный эффект, если T имеет значение между 50 и 85 % и препарат не является токсичным, если T выше 85% [44–48]. Электрохимические методы позволяют регистрировать малейшие изменения во взаимодействиях различных форм препаратов с ДНК при внесении дополнительных функций, например, таргетных фрагментов, таких как NGR пептид, несущий функцию аффинности к аминопептидазе N, играющей роль маркера (CD13) мембранной поверхности раковых клеток [23, 47].

ЛИТЕРАТУРА

1. Katara P. (2013) Role of bioinformatics and pharmacogenomics in drug discovery and development process, *Netw Model Anal Health Inform Bioinforma*, **2**, 225–230.
2. Singh D.B. (2020) The impact of pharmacogenomics in personalized medicine, *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*, **171**, 369–394.
3. Ojha A., Joshi T. (2016) A review on the role of pharmacogenomics in drug discovery and development, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **7**, 3587–3595.
4. Hasanzadeh M., Shadjou N. (2016) Pharmacogenomic Study Using Bio- and Nanobioelectrochemistry: Drug-DNA Interaction, *Materials Science and Engineering C*, **61**, 1002–1017.
5. Campos-Carrillo A., Weitzel J.N., Sahoo P., Rockne R., Mokhnatkin J.V., Murtaza M., Gray S.W., Goetz L., Goel A., Schorka N., Slavin T.P. (2020) Circulating tumor DNA as an early cancer detection tool, *Pharmacology & Therapeutics*, **207**, 107458.
6. Rykova E.Y., Morozkin E.S., Ponomaryova A.A., Loseva E.M., Zaporozhchenko I.A., Cherdyntseva N.V., Laktionov P.P. (2012) Cell-free and cell-bound circulating nucleic acid complexes: mechanisms of generation, concentration and content, *Expert Opinion on Biological Therapy*, **12**, 141–153.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

7. Nikolaev S., Lemmens L., Koessler T., Blouin J.-L., Nospikel T. (2018) Circulating tumoral DNA: preanalytical validation and quality control in a diagnostic laboratory, *Analytical Biochemistry*, **542**, 34–39.
8. Bafna V., Mischel P.S. (2022) Extrachromosomal DNA in Cancer, *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, **23**, 29–52.
9. Crowley E., Di Nicolantonio F., Loupakis F., Bardelli A. (2013) Liquid biopsy: monitoring cancer-genetics in the blood, *Nature Reviews Clinical Oncology*, **10**, 472–484.
10. Talap J., Zhao J., Shen M., Song Z., Zhou H., Kang Yu., Sun L., Yu L., Zenga S., Cai S. (2021) Recent advances in therapeutic nucleic acids and their analytical methods, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **206**, 114368.
11. Jhawata V., Guliaa M., Guptab S., Maddiboyinac B., Dutt R. (2020) Integration of pharmacogenomics and theranostics with nanotechnology as quality by design (QbD) approach for formulation development of novel dosage forms for effective drug therapy, *Journal of Controlled Release*, **327**, 500–511.
12. Chaires J.B. (2006) A thermodynamic signature for drug-DNA binding mode, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **453**, 26–31.
13. Qais F.A., Abdullah K.M., Alam M.M., Naseem I., Ahmad I. (2017) Interaction of capsaicin with calf thymus DNA: A multi-spectroscopic and molecular modelling study, *International Journal of Biological Macromolecules*, **97**, 392–402.
14. Zhang R.; Zhu J.; Sun D.; Li J.; Yao L.; Meng S.; Li Y.; Dang Y.; Wang K. (2022) The Mechanism of Dynamic Interaction between Doxorubicin and Calf Thymus DNA at the Single-Molecule Level Based on Confocal Raman Spectroscopy, *Micromachines*, **13**, 940.
15. Qian L.; Durairaj S.; Prins S.; Chen A. (2020) Nanomaterial-based electrochemical sensors and biosensors for the detection of pharmaceutical compounds, *Biosensors and Bioelectronics*, **175**, 112836.
16. Hua Yu, Ma J., Li D., Wang R. (2022) DNA-Based Biosensors for the Biochemical Analysis: A Review, *Biosensors*, **12**, 183.
17. Rehman S.U., Sarwar T., Husain M.A., Ishqi H.M., Tabish M. (2015) Studying Non-Covalent Drug–DNA Interactions, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **576**, 49–60.
18. Eckel R., Ros R., Ros A., Wilking S.D., Sewald N., Anselmetti D. (2003) Identification of Binding Mechanisms in Single Molecule–DNA Complexes, *Biophysical Journal*, **85**, 1968–1973.
19. Das S., Kumar G.S. (2008) Molecular aspects on the interaction of phenosafranine to deoxyribonucleic acid: Model for intercalative drug–DNA binding, *Journal of Molecular Structure*, **872**, 56–63.
20. Brabec V., Kasparkova J. (2018) Ruthenium Coordination Compounds of Biological and Biomedical Significance. DNA Binding Agents, *Coordination Chemistry Reviews*, **376**, 75–94.
21. Shumyantseva V.V., Bulko T.V., Tikhonova E.G., Sanzhakov M.A., Kuzikov A.V., Masamrekh R.A., Pergushov D.V., Schacher F.H., Sigolaeva, L.V. (2020) Electrochemical studies of the interaction of rifampicin and nanosome/rifampicin with dsDNA, *Bioelectrochemistry*, **140**, 107736.
22. Pronina V., Agafonova L., Masamrekh R., Kuzikov A., Shumyantseva V. (2022) Interaction of the Anticancer Drug Abiraterone with dsDNA, *Biomedical Chemistry: Research and Methods*, **5**, e00174–e00174.
23. Agafonova L., Tikhonova E., Sanzhakov M., Kostryukova L., Shumyantseva V. (2022) Electrochemical Studies of the Interaction of

- Phospholipid Nanoparticles with dsDNA, *Processes*, **10**, 2324.
24. Pronina V., Kostryukova L., Bulko T., Shumyantseva V.V. (2023) Interaction of Doxorubicin Embedded into Phospholipid Nanoparticles and Targeted Peptide-Modified Phospholipid Nanoparticles with DNA, *Molecules*, **28**, 5317.
 25. Ramotowska S., Ciesielska A., Makowski M. (2021) What Can Electrochemical Methods Offer in Determining DNA-Drug Interactions?, *Molecules*, **26**, 3478.
 26. Brotons A., Vidal-Iglesias F.J., Solla-Gull'ona J., Iniesta J. (2016) Carbon materials for the electrooxidation of nucleobases, nucleosides and nucleotides toward cytosine methylation detection: a review, *Analytical Methods*, **8**, 702–715.
 27. Trotter M., Borst N., Thewes R., von Stetten F. (2020) Review: Electrochemical DNA sensing – Principles, commercial systems, and applications, *Biosensors and Bioelectronics*, **154**, 112069.
 28. Ferapontova E.E. (2017) Hybridization biosensors relying on electrical properties of nucleic acids, *Electroanalysis*, **29**, 6–13.
 29. Ferapontova E.E. (2018) DNA electrochemistry and electrochemical sensor for nucleic acids, *Annual Review of Analytical Chemistry*, **11**, 197–218.
 30. Li Q., Batchelor-McAuley C., Compton R.G. (2010) Electrochemical oxidation of guanine: electrode reaction mechanism and tailoring carbon electrode surface to switch between adsorptive and diffusional responses, *The Journal of Physical Chemistry B*, **114**, 7423–7428.
 31. Gonçalves L.M., Batchelor-McAuley C., Barros A., Compton R.G. (2010) Electrochemical oxidation of adenine: a mixed adsorption and diffusion response on an edge-plane pyrolytic graphite electrode, *The Journal of Physical Chemistry*, **114**, 14213–14219.
 32. Шумянцева В.В., Агафонова Л.Е., Булко Т.В., Кузиков А.В., Масамрех Р.А., Ян Д., Шахер Ф.Х., Пергушов Д.В., Сиголаева Л.В. (2021) Электроанализ биомолекул: обоснованный выбор сенсорных конструкций, *Успехи биологической химии*, **61**, 295–316.
 33. Bard A.J., Faulkner L.R. (1980) *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, New York: John Wiley & Sons.
 34. Sharma V.K., Jelen F., Trnkova L. (2015) Functionalized Solid Electrodes for Electrochemical Biosensing of Purine Nucleobases and Their Analogues: A Review, *Sensors*, **15**, 1564–1600.
 35. Meng X., O'Hare D., Ladame S. (2023) Surface immobilization strategies for the development of electrochemical nucleic acid sensors, *Biosensors and Bioelectronics*, **237**, 115440.
 36. Alim S., Vejjayan J., Yusoff M., Kafi A.K.M. (2018) Recent uses of carbon nanotubes & gold nanoparticles in electrochemistry with application in biosensing, *Biosensors and Bioelectronics*, **121**, 125–136.
 37. Mi L., He F., Jiang L., Shangguan L., Zhang X., Ding T., Liu A., Zhang Y., Liu S. (2017) Electrochemically-driven benzo [a] pyrene metabolism via human cytochrome P450 1A1 with reductase coated nitrogen-doped graphene nano-composites, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **804**, 23–28.
 38. Sharma S., Singh N., Tomar V., Chandra R. (2018) A review on electrochemical detection of serotonin based on surface modified electrodes, *Biosensors and Bioelectronics*, **107**, 76–93.
 39. Anzar N., Hasan R., Tyagi M., Yadav N., Narang J. (2020) Carbon nanotube – A review on Synthesis, Properties and plethora of applications in the field of biomedical science, *Sensors International*, **1**, 100003.

40. Hu C., Hu S. (2009) Carbon nanotube-based electrochemical sensors: principles and applications in biomedical systems, *Journal of Sensors*, **2009**, 1–40.
41. Carrara S., Baj-Rossi C., Boero C., De Micheli G. (2014) Do carbon nanotubes contribute to electrochemical biosensing? *Electrochimica Acta*, **128**, 102–112.
42. Baig N., Sajid M., Saleh T.A. (2019) Recent trends in nanomaterial-modified electrodes for electroanalytical applications, *Trends in Analytical Chemistry*, **111**, 47–61.
43. L.M., Luis-Sunga M., Bousa M., Vales V., Kalbac M., Arévalo M.C., Pastor E., García G. (2020) S- and N-doped graphene-based catalysts for the oxygen evolution reaction, *Electrochimica Acta*, **340**, 135975.
44. Ren S., Wang H., Zhang H., Yu L., Li M., Li M. (2015) Direct electrocatalytic and simultaneous determination of purine and pyrimidine DNA bases using novel mesoporous carbon fibers as electrocatalyst, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **750**, 65–73.
45. Shumyantseva V.V., Bulko T.V., Agafonova L.E., Pronina V.V., Kostryukova L.V. (2023) Comparative Analysis of the Interaction between the Antiviral Drug Umifenovir and Umifenovir Encapsulated in Phospholipids Micelles (Nanosome/Umifenovir) with dsDNA as a Model for Pharmacogenomic Analysis by Electrochemical Methods, *Processes*, **11**, 992.
46. Kostryukova L.V., Tereshkina Yu. A., Tikhonova E.G., Khudoklinova Yu. Yu., Bobrova D.V., Gisina A.M., Morozovich G.E., Pronina V.V., Bulko T.V., Shumyantseva V.V. (2023) Effect of an NGR Peptide on the Efficacy of the Doxorubicin Phospholipid Delivery System, *Nanomaterials*, **13**, 2229.
47. Muti, M., Muti, M. (2018) Electrochemical monitoring of the interaction between anticancer drug and DNA in the presence of antioxidant, *Talanta*, **178**, 1033–1039.
48. Rupar J., Dobričić V., Brborić J., Čudina O., Aleksić M.M. (2023) Square wave voltammetric study of interaction between 9-acridinyl amino acid derivatives and DNA, *Bioelectrochemistry*, **149**, 108323.
49. Hua Y., Ma J., Li D., Wang R. (2022) DNA-Based Biosensors for the Biochemical Analysis: A Review, *Biosensors*, **12**, 183.
50. Gurova K. (2009) New hopes from old drugs: revisiting DNA-binding small molecules as anticancer agents, *Future Oncology*, **5**, 1685.
51. Lima D., Hacke A.C.M., Inaba J., Pessôa C.A., Kerman K. (2020) Electrochemical detection of specific interactions between apolipoprotein E isoforms and DNA sequences related to Alzheimer's disease, *Bioelectrochemistry*, **133**, 107447.
52. Meunier-Presta R., Bouyona A., Rampazzia E., Raveau S., Andreoletti P., Cherkaoui-Malki M. (2010). Electrochemical probe for the monitoring of DNA–protein interactions, *Biosensors and Bioelectronics*, **25**, 2598–2602.
53. Zhao M., Ma J., Li M., Zhang Y., Jiang B., Zhao X., Huai C., Shen L., Zhang N., He L., Qin S. (2021) Cytochrome P450 Enzymes and Drug Metabolism in Humans, *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, 12808.
54. Findik M., Bingol H., Erdem A. (2021) Hybrid nanoflowers modified pencil graphite electrodes developed for electrochemical monitoring of interaction between Mitomycin C and DNA, *Talanta*, **222**, 121647.
55. Bagni G, Osella D, Sturchio E, Macsini M. (2006) Deoxyribonucleic acid (DNA) biosensors for environmental risk assessment and drug studies, *Analytica Chimica Acta*, **573**, 81–89.
56. Wani T.A., Alsaif N., Bakheit A.H., Zargar S., Al-Mehizia A.A.,

- Khan A.A. (2020) Interaction of an abiraterone with calf thymus DNA: Investigation with spectroscopic technique and modelling studies, *Bioorganic Chemistry*, **100**, 103957.
57. Nafisi S., Saboury A.A., Keramat N., Neault J.F., Tajmir-Riahi H.A. (2007) Stability and structural features of DNA intercalation with ethidium bromide, acridine orange and methylene blue, *Journal of Molecular Structure*, **827**, 35–43.
58. Sirajuddin M., Ali S., Badshah A. (2013) Drug–DNA interactions and their study by UV–vis, fluorescence spectroscopies and cyclic voltammetry, *Journal of Photochemistry and Photobiology B Biology*, **124**, 1–19.
59. Dogan-Topal B., Bozal-Palabiyik B., Ozkan S.A., Uslu B. (2014) Investigation of anticancer drug lapatinib and its interaction with dsDNA by electrochemical and spectroscopic techniques, *Sensors and Actuators B-Chemical*, **194** 185–194.
60. Temerk Y., Ibrahim M., Ibrahim H., Kotb M. (2016) Interactions of an anticancer drug lomustine with single and double stranded DNA at physiological conditions analysed by electrochemical and spectroscopic methods, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **769**, 62–71.
61. Yazan Z., Bayraktepe D.E., Dinç E. (2020) Four-way parallel factor analysis of voltammetric four-way dataset for monitoring the etoposide-DNA interaction with its binding constant determination, *Bioelectrochemistry*, **134**, 107525.
62. Chiorcea-Paquim A-M., Oliveira-Brett A.M. (2021) DNA Electrochemical Biosensors for In Situ Probing of Pharmaceutical Drug Oxidative DNA Damage, *Sensors*, **21**, 1125.
63. Erdem A., Muti, M., Papakonstantinou P., Canavar E., Karadeniz H., Congur G., Sharma S. (2012) Graphene oxide integrated sensor for electrochemical monitoring of mitomycin C–DNA interaction, *Analyst*, **137**, 2129–2135.
64. Eksin E., Zor E., Erdem A., Bingöl H. (2017). Electrochemical monitoring of biointeraction by graphene-based material modified pencil graphite electrode, *Biosensors and Bioelectronics*, **92**, 207–214.
65. Fotouhi L., Bahmani F. (2013) MWCNT Modified Glassy Carbon Electrode: Probing Furazolidone-DNA Interactions and DNA Determination, *Electroanalysis*, **25**, 757–764.
66. Kalanur S.S., Katrahalli U., Seetharamappa J. (2009) Electrochemical studies and spectroscopic investigations on the interaction of an anticancer drug with DNA and their analytical applications, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **636**, 93–100.
67. Diculescu V.C., Chiorcea-Paquim A-M., Oliveira-Brett A.M. (2016) Applications of a DNA-electrochemical biosensor, *Trends in Analytical Chemistry (TrAC)*, **79**, 23–36.
68. Bayraktepe D.E. (2020) A voltammetric study on drug-DNA interactions: Kinetic and thermodynamic aspects of the relations between the anticancer agent dasatinib and ds-DNA using a pencil lead graphite electrode, *Microchemical Journal*, **157**, 104946.
69. Nimal R., Unal D.N., Erkmen C., Bozal-Palabiyik B., Siddiq M., Eren G., Shah A., Uslu B. (2022) Development of the electrochemical, spectroscopic and molecular docking approaches toward the investigation of interaction between DNA and anti-leukemic drug azacytidine, *Bioelectrochemistry*, **146**, 108135, 1567–5394.
70. Chaires J.B. (2006) A thermodynamic signature for drug-DNA binding mode, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **453**, 26–31.