

УДК 536-33

М.А. Ермолаев, студент

П.А. Сухонос, студент

В.В. Костюков, ст. преподаватель, канд. физ.-мат. наук

Севастопольский национальный технический университет

ул. Университетская, 33, г. Севастополь, Украина, 99053

E-mail: Viktor_Kostukov@mail.ru

РАЗЛОЖЕНИЕ ЭНЕРГИИ ГИББСА ГЕТЕРОАССОЦИИ АРОМАТИЧЕСКИХ АНТИБИОТИКОВ С НИКОТИНАМИДОМ В ВОДНОМ РАСТВОРЕ

Методами молекулярного моделирования выполнен расчет и анализ энергетических вкладов различных физических факторов при комплексообразовании антибиотиков дауномицина, новантрона и норфлоксацина с ароматическим витамином никотинамидом. Показано, что гидрофобный и вибрационный вклады, а также межмолекулярные ван-дер-ваальсовы взаимодействия стабилизируют гетерокомплексы. При этом трансляционные и ротационные вклады, а также потеря ван-дер-ваальсовых контактов с водным окружением, являются энергетически невыгодными.

Ключевые слова: *никотинамид, энергия Гиббса, ароматические антибиотики.*

Введение

Известно, что витамины выполняют важнейшую каталитическую функцию в организме и выступают в роли коферментов. Никотинамид NMD (никотиновая кислота, ниацин; витамин PP) – это единственный витамин, который традиционная медицина считает лекарством. Считается, что он является одним из самых эффективных лекарственных препаратов, нормализующих содержание холестерина в крови [1]. NMD также является компонентом В-комплекса, играющим важную роль в нормальном функционировании сердца и оптимального кровообращения. Он участвует более чем в полусотне реакций, в ходе которых сахар и жир преобразуются в энергию.

NMD также необходим для обмена аминокислот и участвует в превращении жиров в эйкозаноиды, – гормоноподобные агенты, управляющие метаболизмом организма. NMD стабилизирует процессы тканевого дыхания, жирового и углеводного обмена, систему биотрансформации ксенобиотиков [2, 3].

Учитывая естественное присутствие никотинамида в организме, его комплексообразование с антибиотиками может иметь большое значение в комбинированной химиотерапии – применении смеси антибиотик-витамин для усиления действия и/или снижения токсичности [4]. Для понимания механизмов биологического действия комбинации препаратов требуются не только структурные и общетермодинамические параметры [5, 6], но и знание физических факторов, вносящих вклад в полную энергию комплексообразования.

Целью настоящей работы является разделение экспериментальной энергии Гиббса реакции комплексообразования (гетероассоциации) NMD с ароматическими антибиотиками дауномицином (DAU), новантроном (NOV) и норфлоксацином (NOR).

Методы

Наиболее полная методика разделения общей энергии Гиббса реакции комплексообразования биомолекул в водном растворе на вклады от отдельных физических факторов [7], примененная в настоящей работе, основывается на следующем уравнении:

$$\Delta G_{\text{total}} = \Delta G_{\text{vdw}} + \Delta G_{\text{el}} + \Delta \Delta G_{\text{HB}} + \Delta G_{\text{hyd}} + \Delta G_{\text{tr}} + \Delta G_{\text{rot}} + \Delta G_{\text{vibr}}, \quad (1)$$

где ΔG_{vdw} , ΔG_{el} – энергии ван-дер-Ваальсовых (ВДВ) и электростатических взаимодействий, соответственно, $\Delta \Delta G_{\text{HB}}$ – вклад водородных связей, не учитываемый в ΔG_{vdw} и ΔG_{el} ; ΔG_{hyd} – гидрофобный вклад, ΔG_{tr} , ΔG_{rot} , ΔG_{vibr} – соответственно энергетические эквиваленты изменения трансляционных, ротационных и вибрационных степеней свободы при образовании комплекса.

Пространственные структуры биологически активных соединений (БАС) DAU, NOR, NOV и NMD взяты из Protein Data Bank. Атомные заряды антибиотиков вычислены с помощью программы Gaussian03W (B3LYP/6-31G*/Merz-Kollman). Топология молекул БАС и параметризация валентных и ван-дер-ваальсовых взаимодействий получены с помощью пакета XPLO2D. Расчет пространственных структур гетерокомплексов DAU+NMD, NOR+NMD и NOV+NMD (рисунок 2) выполнен на основе данных ЯМР-эксперимента [5, 6] методом молекулярной механики с помощью программы X-PLOR.

Явное задание водного окружения выполнялось с помощью молекул воды модели TIP3P, размещенных в кубическом боксе с длиной ребра 35 Å (1423 молекулы). Процедура МД выполнялась после минимизации потенциальной энергии гетерокомплекса по алгоритму Verlet с временным шагом

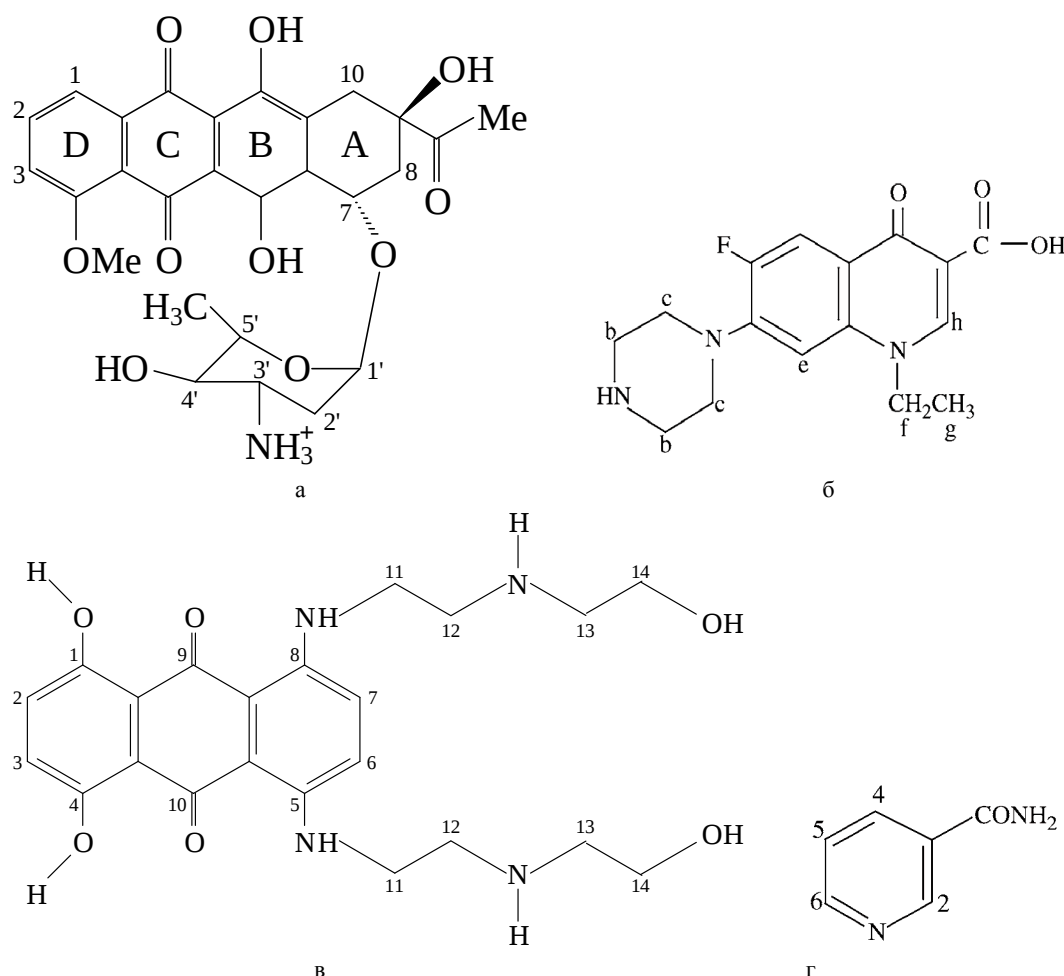


Рисунок 1 – Структуры aromaticких антибиотиков дауномицина (а), норфлоксацина (б), новантрона (в) и никотинамида (г)

$\Delta t = 2$ фс и использованием алгоритма SHAKE при постоянной температуре $T = 298$ К. Время эволюции составило 80 пс. Координаты всех атомов записывались каждую 1 пс. Средние количества молекул воды, формирующих водородные связи с гидрофильными атомами (N, O) БАС (гидратационные индексы N_{solv}), рассчитывались по траекториям теплового движения в течение последних 40 пс МД. Наличие Н-связи фиксировалось, если расстояния между электроотрицательными атомами молекул и атомами кислорода (водорода) воды не превышали 3,2 (2,4) Å, соответственно. Расчет площади поверхности, доступной растворителю (solvent accessible surface area – SASA) в настоящей работе проводился при помощи программы HyperChem8. Ван-дер-ваальсовы радиусы атомов соответствовали силовому полю AMBER. Вычисление гидрофобного вклада в энергию образования гетерокомплекса aromaticких антибиотиков выполнено на основании известной корреляции энергии гидрофобного растворения ΔG_{hyd} и изменения площади поверхности, доступной растворителю ΔSASA [8]:

$$\Delta G_{\text{hyd}} = \gamma \cdot \Delta \text{SASA}, \quad (2)$$

где $\gamma = 50$ кал/(моль·Å²) – микроскопический коэффициент поверхностного натяжения [9].

Усредненные в ходе МД величины энергии ван-дер-ваальсовых взаимодействий (межмолекулярных $\Delta G_{\text{vdw}}^{\text{im}}$ и с молекулами воды $\Delta G_{\text{vdw}}^{\text{solv}}$) рассчитывались при помощи программы X-PLOR с параметрами силового поля AMBER. Энергии электростатических взаимодействий ΔG_{el} (межмолекулярных ΔG_{im} и с водным окружением ΔG_{solv}) вычислялись с помощью программы DelPhi4 методом решения нелинейного уравнения Пуассона-Больцмана.

Межмолекулярных Н-связей в исследуемых гетерокомплексах, согласно данным [5,6], не образуется. Энергетический вклад водородного связывания с водой, обусловленный дегидратацией молекул БАС, оценивался по изменению гидратационного индекса ΔN_{solv} в процессе МД [7].

$$\Delta \Delta G_{\text{HB}} = -2,25 \cdot \Delta N_{\text{solv}} \text{ ккал/моль}. \quad (3)$$

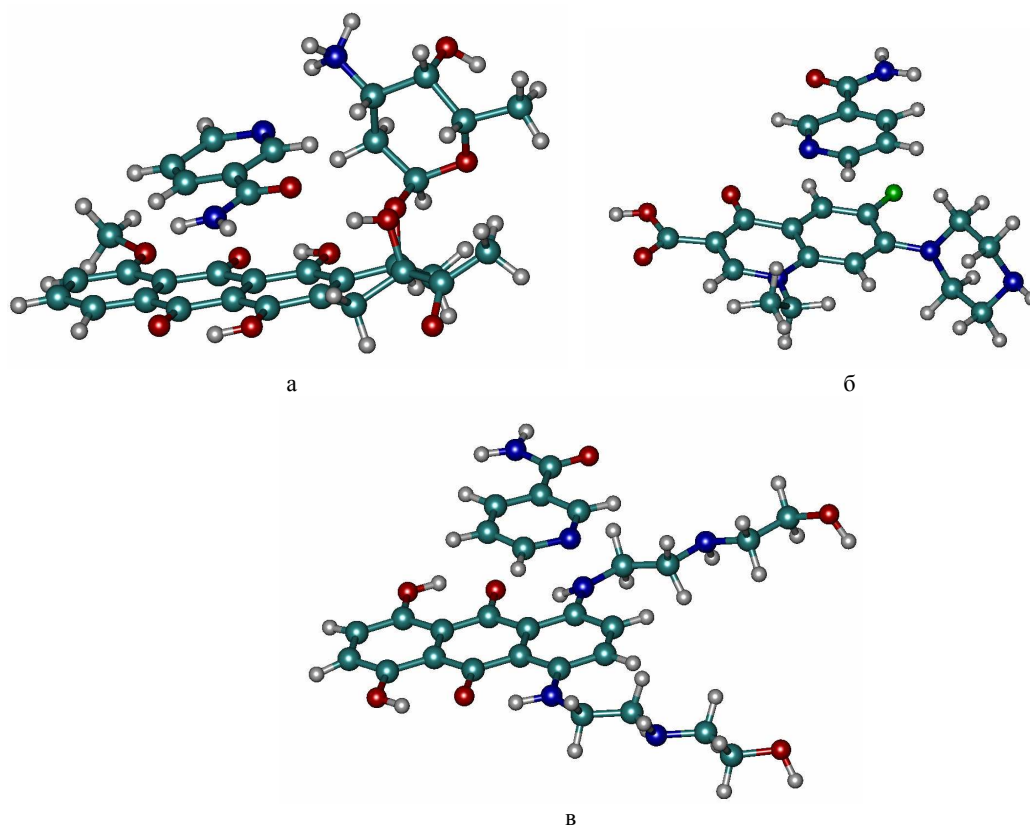


Рисунок 2 – Расчетные пространственные структуры гетерокомплексов никотинамида с дауномицином (а), новантроном (б) и норфлоксацином (в), построенные на основе данных работ [5, 6]

Энтропийный вклад в энергетику образования гетерокомплексов DAU+NMD, NOR+NMD и NOV+NMD обусловлен изменением числа трансляционных, ротационных и вибрационных степеней свободы (см. уравнение (1)). Компоненты ΔG_{tr} и ΔG_{rot} возникают вследствие потери трех трансляционных и трех ротационных движений при комплексообразовании. Компонента ΔG_{vibr} является энергетическим эквивалентом изменения вибрации химических связей и образования трех новых колебательных степеней свободы, обусловленных низкочастотными механическими колебаниями молекул БАС в комплексе:

$$\Delta G_{vibr} = \Delta G_{vibr}^I + \Delta G_{vibr}^{II}, \quad (4)$$

где $\Delta G_{vibr}^I, \Delta G_{vibr}^{II}$ – энергетические вклады изменений вибраций химических связей (вибрации I рода) и механических колебаний (вибрации II рода), соответственно [10].

Частоты вибраций химических связей лигандов и их комплексов вычислялись при помощи пакета Gaussian, а частоты и коэффициенты квазиупругих сил низкочастотных механических колебаний – программы X-PLOR.

Результаты и обсуждение

Результаты вычислений энергетических вкладов физических факторов в полную энергию гетероассоциации DAU+NMD, NOR+NMD и NOV+NMD представлены в таблице 1. Соответствующие гистограммы показаны на рисунке 3.

Таблица 1 – Вклады различных составляющих в полную энергию Гиббса образования гетерокомплексов (ккал/моль)

NMD +	ΔG_{tr}	ΔG_{rot}	ΔG_{vibr1}	ΔG_{vibr2}	ΔG_{el}		ΔG_{vdw}		$\Delta \Delta G_{HB}$	ΔG_{hyd}	ΔG_{total}	ΔG_{exp} [5, 6]
					ΔG_{solv}	ΔG_{im}	ΔG_{solv}	ΔG_{im}				
DAU	9,2	7,2	-3,7	-7,4	4,8	-4,3	12,5	-13,0	3,7	-11,5	-2,5	-2,4
NOR	8,8	9,3	-2,0	-12,1	0,2	-1,0	9,5	-8,7	3,1	-8,6	-1,5	-1,5
NOV	9,0	6,8	0,3	-9,7	4,0	-7,0	9,2	-9,8	4,7	-8,8	-1,2	-2,3

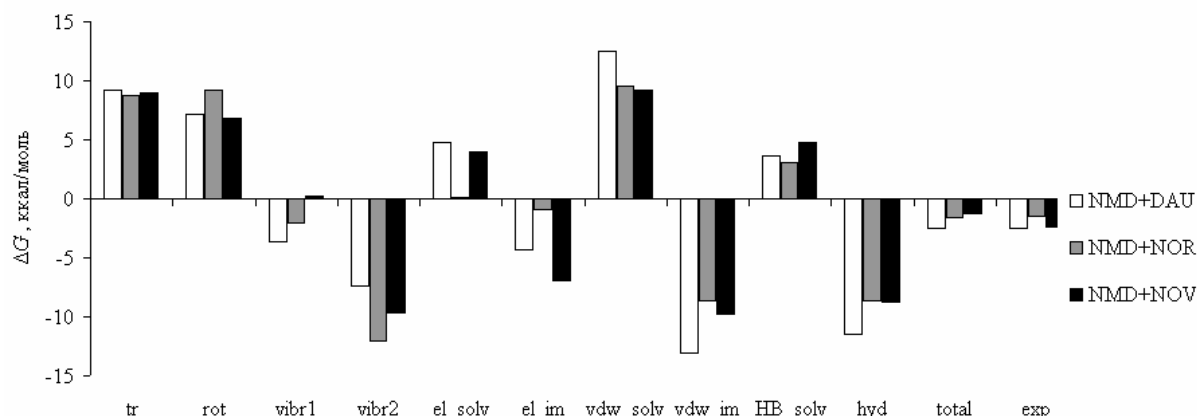


Рисунок 3 – Вклады различных составляющих в полную энергию Гиббса образования гетерокомплексов

Наибольшие по модулю значения имеют ВДВ взаимодействия, причем дегидратация $\Delta G_{\text{vdw}}^{\text{solv}} > 0$ вносит неблагоприятный вклад в энергию Гиббса, а межмолекулярные $\Delta G_{\text{vdw}}^{\text{im}} < 0$ и по абсолютной величине несколько превышают $\Delta G_{\text{vdw}}^{\text{solv}}$. В целом, ВДВ взаимодействия оказываются энергетически выгодными для комплексов NMD с DAU и NOV и неблагоприятными для NMD + NOR. Из таблицы 1 следует также, что, в целом, электростатические взаимодействия стабилизируют гетерокомплексы NMD с NOR и NOV, а для DAU+NMD электростатические взаимодействия оказываются дестабилизирующими. Суммарный вклад от изменения числа степеней свободы при агрегации в целом положителен ($\Delta G_{\text{tr}} + \Delta G_{\text{rot}} > 0$) и, в основном, определяется энтропийной невыгодностью потери трансляционных и ротационных степеней свободы при образовании гетерокомплексов. При этом появление низкочастотных вибраций, обусловленных относительными движениями молекул БАС в гетерокомплексах ($\Delta G_{\text{vibr}}^{\text{II}}$) дает значительный отрицательный вклад. Уменьшение числа Н-связей с водой (дегидратация $\Delta \Delta G_{\text{HB}}$) положительно и дестабилизирует гетерокомплексы. Гидрофобные взаимодействия (ΔG_{hyd}) характеризуются отрицательной энергией и дают основной вклад в стабилизацию гетерокомплексов.

Таким образом, проведенные расчеты показали, что уменьшение ван-дер-ваальсовых контактов с водой и потери трансляционных и ротационных степеней свободы при образовании гетерокомплексов DAU+NMD, NOR+NMD и NOV+NMD энергетически наиболее невыгодны среди всех физических вкладов, а основной вклад в его стабилизацию дают появление низкочастотных вибраций ($\Delta G_{\text{vibr}}^{\text{II}}$), а также гидрофобные и межмолекулярные ван-дер-ваальсовые взаимодействия. Полученные результаты являются важными для понимания механизмов стабилизации комплексов антибиотиков с никотинамидом, присутствующем в организме в процессе химиотерапии.

Библіографічний список використаної літератури

1. Knip M. Safety of high-dose nicotinamide: a review / M. Knip, I.F. Douek, W.P.T. Moore [et al.] // *Diabetologia*. — 2000. — Vol. 43. — P. 1337–1345.
2. Ungerstedt J.S. Nicotinamide is a potent inhibitor of proinflammatory cytokines / S. Ungerstedt, M. Blomback, T. Soderstrom // *Clin. Exp. Immunol.* — 2003. — Vol. 131. — P. 48–52.
3. Bogan K.L. Nicotinic Acid, Nicotinamide, and Nicotinamide Riboside: A Molecular Evaluation of NAD+ Precursor Vitamins in Human Nutrition / K.L. Bogan, C. Brenner // *Ann. Rev. Nutr.* — 2008. — Vol. 28. — P. 115–130.
4. Lin S.-H. Nicotinamide: a nutritional supplement that provides protection against neuronal and vascular injury / S.-H. Lin, Z.Z. Chong, K. Maiese // *J. Med. Food*. — 2001. — Vol. 4. — P. 27–38.
5. Розвадовська А.О. Взаємодія ароматических антибіотиків і вітамінів: 1Н ЯМР аналіз гетероасоціації нікотинаміда з антрацикліновими антиопухольовими антибіотиками / А.О.Розвадовська, В.П. Евстигнеев, Д.Б. Дэвис [и др.] // *Биофизика*. — 2006. — Т. 51. — № 2. — С. 214–24.
6. Евстигнеев М. П. Гетероасоциация антибиотика норфлоксацина с ароматическими витаминами в водном растворе / М. П. Евстигнеев, К. А. Рыбакова, Д. Б. Дэвис // *Биофизика*. — 2006. — Т. 51. — С. 661–668.

7. Kostjukov V.V. Partition of Thermodynamic Energies of Drug–DNA Complexation / V.V. Kostjukov, N.M. Khomytova, M.P. Evstigneev // Biopolymers. — 2009. — Vol. 91. — P. 773–790.
8. Lee B. The Interpretation of Protein Structures: Estimation of Static Accessibility / B. Lee, F.M. Richards // J. Mol. Biol. — 1971. — Vol. 55. — P. 379–400.
9. Sharp K.A. Reconciling the magnitude of the microscopic and macroscopic hydrophobic effects / K.A. Sharp, A. Nicholls, A. Fine [et al.] // Science. — 1991. — Vol. 252. — P. 106–109.
10. Костюков В.В. Расчет термодинамических потенциалов изменения трансляционных, ротационных и вибрационных степеней свободы при димеризации ароматических молекул / В.В. Костюков, Н.М. Хомутова, М.П. Евстигнеев // Хим. физика. — 2009. — Т.28. — С. 54–60.

Поступила в редакцию 30.06.2010 г.

Єрмолаєв М.О., Сухоніс П.О., Костюков В.В. Розкладення енергії гіббса гетероасоціації ароматичних антибіотиків з нікотинамідом у водному розчині

Методами молекулярного моделювання виконано розрахунок і аналіз енергетичних внесків різних фізичних чинників при комплексоутворенні антибіотиків дауноміцина, новантрона і норфлоксацина з ароматичним вітаміном нікотинамідом. Показано, що гідрофобний і вібраційний внески, а також міжмолекулярні ван-дер-ваальсівські взаємодії стабілізують гетерокомплекси. При цьому трансляційні і ротаційні внески, а також втрата ван-дер-ваальсівських контактів з водним оточенням є енергетично не вигідними.

Ключові слова: нікотинамід, енергія Гіббса, ароматичні антибіотики.

Ermolaev M.A., Sukhonos P.A., Kostjukov V.V. Parsing of Gibbs energy of heteroassociation of aromatic antibiotics with nicotinamide in aqueous solution

The calculation and analysis of the energy contributions of various physical factors in the complexation of antibiotics daunomycin, novantrone and norfloxacin with aromatic vitamin nicotinamide has been performed by the methods of molecular modeling. It is shown that the hydrophobic and vibrational contributions, as well as intermolecular van der Waals interactions stabilize heterocomplexes. At the same time translational and rotational contributions, as well as the loss of van der Waals contacts with the aqueous environment are energetically unfavorable.

Keywords: nicotinamide, Gibbs energy, aromatic antibiotics.