

УДК 577.113

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

Севастопольский национальный технический университет

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

E-mail: Viktor_Kostukov@mail.ru

ЭНЕРГЕТИКА СВЯЗЫВАНИЯ ДИАМИДИНОВОГО ПРЕПАРАТА DB293 С ДНК

Выполнен расчет и анализ энергетических вкладов различных физических факторов в полную энергию Гиббса связывания двуспиральных АТ- и GC-участков ДНК с препаратом DB293 по мономерному и димерному механизмам. Показано, что энергетически выгодными при комплексообразовании DB293 с ДНК являются гидрофобный и электростатический вклады, а энтропийный, ван-дер-ваальсовый компоненты и потеря водородных связей с водой оказываются неблагоприятными.

Ключевые слова: диамидин, малая канавка, энергетические вклады, димер.

Введение

Среди биологически активных ароматических соединений (БАС) отдельную группу составляют препараты, образующие комплексы с двуспиральной ДНК путем укладки в ее малый желобок [1]. Их молекулы имеют серповидную форму, повторяющую форму малого желобка дуплекса ДНК, и донорные и акцепторные центры водородных связей, специфичные к АТ-трактам ДНК. Многие из «желобочников», например, нетропсин и дистамицин, проявляют антиопухолевую активность и широко используются в клинической практике для химиотерапии раковых заболеваний [1-3]. К таким соединениям относится и препарат DB293 (рисунок 1). Данное соединение проявляет выраженную антипаразитарную активность, специфически связываясь с ДНК микроорганизмов, и широко используется для лечения пневмонии [4] и трипаносомиаза [5].

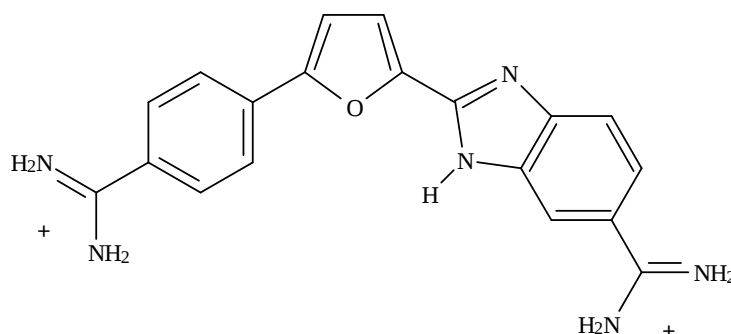


Рисунок 1 – Химическая структура препарата DB293

Препарат DB293 интересен тем, что способен связываться с двуспиральными участками ДНК не только в качестве мономера, но и по димерному механизму – две молекулы лиганда укладываются вместе в малую канавку, несмотря на наличие с обоих концов молекулы положительно заряженных диамидиновых групп [6] (см. рисунок 1). При этом они взаимодействуют как друг с другом, так и с обеими нуклеотидными нитями, образующими «стенки» малого желобка. Хотя дистамицин из семейства лекситропсинов с зарядом на одном из концов молекулы также образует димерные антипараллельные комплексы с ДНК [7], важным преимуществом DB293 является то, что он связывается по димерному механизму с сайтами ДНК, содержащими GC пары оснований [6]. В то же время, остальные «желобочники» связываются исключительно с АТ участками, что объясняется стерическими препятствиями со стороны 2-NH₂ группы гуанина [8]. Эта особенность является весьма перспективной для поиска новых препаратов со специфичностью к определенным нуклеотидным последовательностям. В частности, недавно были синтезированы новые лекситропсиновые производные, также связывающиеся с ДНК по димерному механизму и специфичные к GC парам [9]. Однако молекулы лекситропсинов представляют собой полиамидные цепи, значительно большие по своим размерам и массе, чем диамидин DB293, что затрудняет прохождение данных препаратов через мембраны клеток [9]. Это во многом обуславливает перспективность внедрения препарата DB293 в клиническую практику [4-6].

Общая термодинамика связывания DB293 с ДНК исследована достаточно подробно [6]. В частности, экспериментально установлены энергия Гиббса ΔG , энтальпия ΔH и энтропия ΔS реакций комплексообразования с ДНК, а также изменение температуры плавления ΔT_m ДНК при связывании с препаратом. Показано, что связывание лиганда с GC-содержащим участком ДНК носит энтальпийный

характер, в то время как с АТ-участком – энтропийный [6]. Однако для понимания физического механизма действия существующих препаратов и создания новых, более эффективных, необходимо детальное знание физических факторов, влияющих на процесс связывания БАС с ДНК, и их энергетических вкладов в термодинамику комплексообразования [3]. К основным из них, согласно [1, 3], относятся: электростатические, ван-дер-ваальсовы, гидрофобные взаимодействия, водородные связи, энтропийные и полиэлектролитный вклады. Вычисление энергетических вкладов физических факторов в наблюдаемую энергию Гиббса реакций комплексообразования DB293 с ДНК, выполненное в работе [6], включает лишь гидрофобный, полиэлектролитный и энтропийный вклады. Такой подход к задаче разделения энергии комплексообразования на составляющие не является полным и требует дальнейшей детализации.

Целью настоящей работы является расчет и анализ вкладов различных физических факторов в полную энергию Гиббса образования мономерного и димерного комплексов диаминодинового препарата DB293 с двуспиральными АТ и GC участками ДНК.

Методы

Пространственная структура молекулы DB293 взята из Protein Data Bank (PDB ID 2I2I). Топология лиганда, а также параметризация валентных и ван-дер-ваальсовых взаимодействий, соответствующая силовому полю AMBER, получены с использованием пакета XPLOR2D. Заряды атомов молекулы БАС рассчитаны при помощи программы Gaussian03W на уровне теории MP2 с базисным набором 6-31G* методом Мерца-Коллмана. Согласно работе [6], в качестве рецепторов лиганда были использованы шпильчатые структуры ДНК: d(CTATGACTCTCGTCATAG), содержащая семь пар оснований в стебле и четырехнуклеотидную петлю TCTC («GC-шпилька»), и d(CGAATTCGTCTCCGAATTCG) («АТ-шпилька») со стеблем из восьми пар оснований и такой же петлей (рисунок 2).

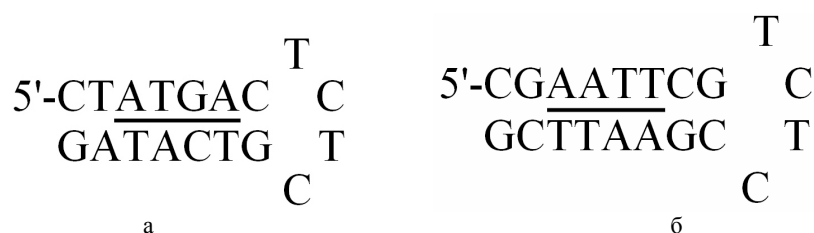


Рисунок 2 – Схематическое изображение исследуемых GC (а) и АТ (б) шпильчатых структур ДНК. Участки связывания мономера и димера DB293 показаны линиями

Ввиду отсутствия опубликованных структурных данных, пространственные структуры шпилек ДНК были получены с помощью программы HyperChem8.0 (Hypercube, Inc., Toronto, Canada). Параметризация атом-атомных взаимодействий ДНК соответствовала силовому полю AMBER. Комплексы шпилек ДНК с мономером (1:1) и димером (2:1) лиганда построены с использованием пакета X-PLOR (рисунок 3). Явное задание водного окружения свободных шпилек и комплексов с лигандами производилось с помощью молекул воды модели TIP3P, размещенных в прямоугольном боксе размером 54×30×30 Å (1663 молекулы). Для моделирования водной оболочки лиганда в свободном состоянии использовался кубический бокс с ребром 35 Å (1423 молекулы).

Расчет конформационной динамики лиганда, шпилек ДНК и их комплексов в процессе теплового движения выполнен с помощью программы X-PLOR. После минимизации потенциальной энергии выполнялась процедура молекулярной динамики (МД) по алгоритму Verlet с временным шагом $\Delta t = 2$ фс и использованием алгоритма SHAKE при постоянной температуре $T = 298$ К. Суммарное время эволюции составляло 160 пс. Координаты всех атомов записывались каждую 1 пс.

Средние количества молекул воды, формирующих водородные связи с гидрофильными атомами (N, O) шпилек ДНК и БАС (гидратационные индексы), рассчитывались по траекториям теплового движения в течение последних 40 пс МД. Наличие водородной связи фиксировалось, если расстояния между электроотрицательными атомами молекул и атомами кислорода (водорода) воды не превышали 3,2 (2,4) Å, соответственно.

В соответствии с разработанной ранее методикой [10], полная энергия ΔG_{total} комплексообразования лиганда с ДНК в водном растворе является суммой энергетических вкладов различных физических факторов:

$$\Delta G_{\text{total}} = \Delta G_{\text{vdw}} + \Delta G_{\text{el}} + \Delta G_{\text{pe}} + \Delta \Delta G_{\text{HB}} + \Delta G_{\text{hyd}} + \Delta G_{\text{entr}}, \quad (1)$$

где ΔG_{vdw} – вклад ван-дер-ваальсовых взаимодействий (межмолекулярных и водным окружением); ΔG_{el} – электростатический вклад; ΔG_{pe} – полиэлектролитный вклад; $\Delta \Delta G_{\text{HB}}$ – вклад водородных связей; ΔG_{entr} –

энергетический эффект изменения трансляционных ΔG_{tr} , ротационных ΔG_{rot} и вибрационных ΔG_{vibr} степеней свободы:

$$\Delta G_{entr} = \Delta G_{tr} + \Delta G_{rot} + \Delta G_{vibr} . \quad (2)$$

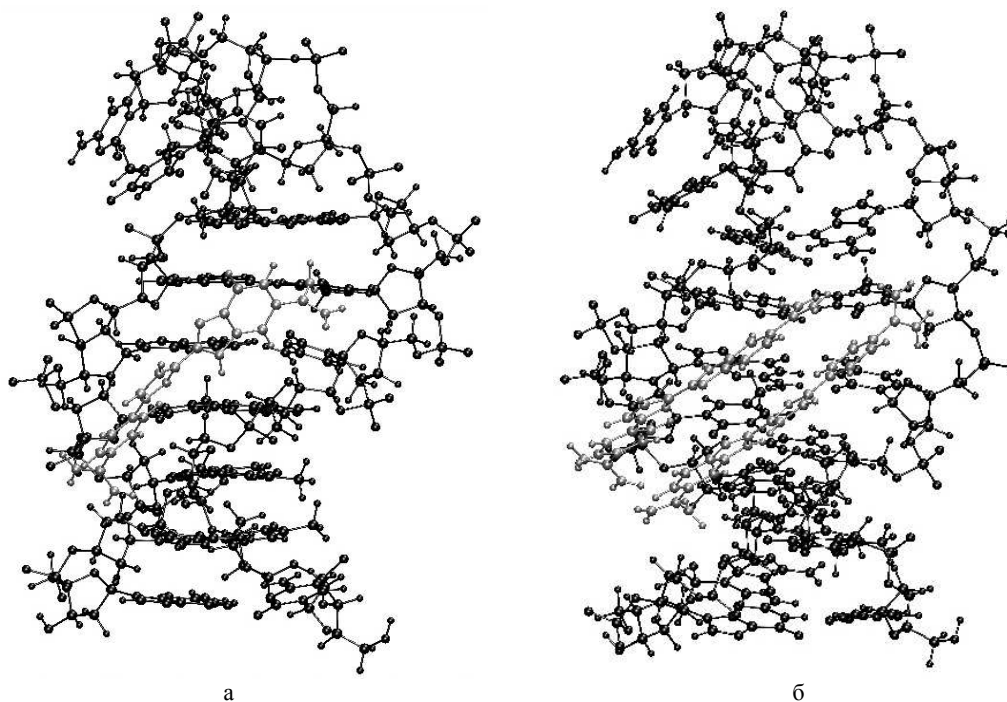
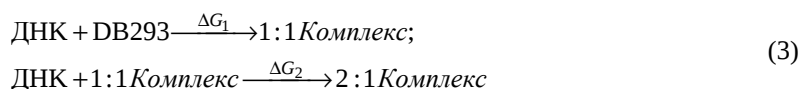


Рисунок 3 – Расчетные пространственные структуры комплексов препарата DB293 со шпильками ДНК: 1:1 с АТ (а) и 2:1 с GC (б)

В настоящей работе была принята следующая схема комплексообразования препарата DB293 со шпильчатыми структурами ДНК:



Согласно (3), энергетические вклады межмолекулярных взаимодействий и с водным окружением при образовании 2:1 комплекса ΔG_{2vdw}^{im} и ΔG_{2vdw}^{solv} , соответственно, вычислялись как

$$\begin{aligned} \Delta G_{2vdw}^{im} &= G_{2vdw}^{im} - G_{1vdw}^{im}; \\ \Delta G_{2vdw}^{solv} &= G_{2vdw}^{solv} - G_{1vdw}^{solv} - G_{lvdw}^{solv}, \end{aligned} \quad (4)$$

где G_{2vdw}^{im} – энергия межмолекулярных взаимодействий в 2:1 комплексе (лиганд 1-лиганд 2, ДНК-лиганд 1, ДНК-лиганд 2), G_{1vdw}^{im} – в 1:1 комплексе (ДНК-лиганд); G_{2vdw}^{solv} , G_{1vdw}^{solv} , G_{lvdw}^{solv} – энергия взаимодействия с водным окружением 2:1 и 1:1 комплексов, а также свободного лиганда, соответственно.

Расчет энергии ван-дер-ваальсовых взаимодействий ΔG_{vdw} (внутри- и межмолекулярных и с водным окружением) проводился при помощи программы X-PLOR, согласно потенциалу Леннарда-Джонса

$$G_{vdw} = \frac{A}{r^{12}} - \frac{B}{r^6}, \quad (5)$$

где A и B – параметры отталкивания и притяжения, соответствующие силовому полю AMBER; r – расстояние между атомами. Величины G_{vdw} усреднялись за последние 40 пс процедуры МД.

Энергия электростатических взаимодействий ΔG_{el} рассчитывалась методом, основанном на решении нелинейного уравнения Пуассона-Больцмана (НУПБ) при неявном задании водно-солевого окружения. В настоящей работе для решения НУПБ и вычисления ΔG_{el} использована программа DelPhi (версия 4.0). С помощью DelPhi вычислены составляющие электростатической энергии: энергия взаимодействия зарядов атомов растворенного вещества с индуцированными поверхностными зарядами на границе раздела с водой (энергия сольватации ΔG_{solv}) и энергия кулоновских (внутри- и межмолекулярных) взаимодействий ΔG_{im} .

Полиэлектронный вклад ΔG_{pe} содержит как энтальпийную составляющую, происходящую от кулоновского взаимодействия исследуемых молекул с ионами соли, так и энтропийную компоненту, обусловленную нарушением ионной атмосферы при интеркаляции лиганда. Составляющую ΔG_{pe} целесообразно отделить от полной электростатической энергии, ΔG_{el} , поскольку она может быть сравнительно легко измерена экспериментально. Для большинства «желобочников» значение ΔG_{pe} составляет около -2 ккал/моль [6], принятое и в данной работе.

Энергетический вклад водородных связей $\Delta \Delta G_{HB}$ вычислялся как

$$\Delta \Delta G_{HB} = -0,25 \cdot 9 \cdot (N_{im} + \Delta N_{solv}), \text{ ккал/моль}, \quad (6)$$

где N_{im} – количество межмолекулярных Н-связей, ΔN_{solv} – изменение числа Н-связей с водой (гидратационного индекса) при комплексообразовании.

Расчет гидрофобного вклада ΔG_{hyd} в энергию комплексообразования лиганда с ДНК в настоящей работе выполнен на основании известной корреляции энергии гидрофобного растворения ΔG_{hyd} и изменения площади поверхности, доступной для растворителя (SASA), ΔA :

$$\Delta G_{hyd} = \gamma \cdot \Delta A, \quad (7)$$

где γ – микроскопический коэффициент поверхностного натяжения, $\gamma = 50 \text{ ккал}/(\text{моль} \cdot \text{\AA}^2)$. Вычисление величин SASA молекул ДНК и их комплексов проводилось при помощи программы HyperChem 8.0. Гидрофобный вклад ΔG_{hyd} является энтропийным по своей природе и обусловлен высвобождением части молекул воды, связанных с ДНК и лигандом при комплексообразовании.

Энтропийный вклад ΔG_{entr} в энергетику комплексообразования ароматических лигандов с ДНК обусловлен изменением числа трансляционных, ротационных и вибрационных степеней свободы (см. уравнение (2)). Компоненты ΔG_{tr} и ΔG_{rot} возникают благодаря потере трех трансляционных и трех ротационных движений при комплексообразовании. Компонента ΔG_{vibr} является энергетическим эквивалентом изменения вибрации химических связей.

Свободная энергия Гиббса изменения трансляционных и ротационных степеней свободы может быть записана в стандартной форме:

$$\Delta G_{tr} = \Delta H_{tr} - T\Delta S_{tr}, \quad \Delta G_{rot} = \Delta H_{rot} - T\Delta S_{rot}, \quad (8)$$

где $\Delta H_{tr} = \Delta H_{rot} = -\frac{3}{2}RT$ – энтальпийный эквивалент изменения трансляционных и ротационных степеней свободы, соответственно; R – газовая постоянная; T – абсолютная температура.

Выражения для молярных трансляционной и ротационной энтропий известны из классической статистической термодинамики:

$$S_{tr} = R \left[\frac{5}{2} + \frac{3}{2} \ln \frac{2\pi mkT}{h^2} - \ln \frac{N}{V} \right], \quad S_{rot} = R \left[\frac{3}{2} + \frac{1}{2} \ln \pi I_x I_y I_z + \frac{3}{2} \ln \frac{8\pi^2 kT}{h^2} - \ln \sigma \right], \quad (9)$$

где $N = N_A = 6.02 \cdot 10^{23} \text{ моль}^{-1}$; $V = 10^{-3} \text{ м}^3$; k и h – константы Больцмана и Планка, соответственно; I_x, I_y, I_z – главные моменты инерции молекул, σ – параметр симметрии, равный единице для несимметричных комплексов. Величины моментов инерции для лиганда, шпильки ДНК и их комплексов получены с помощью программы X-PLOR.

Таким образом, энтропии изменения поступательных и вращательных степеней свободы при образовании 1:1 и 2:1 комплексов рассчитывались как

$$\begin{aligned} \Delta S_2 &= S_2 - S_1 - S_L, \\ \Delta S_1 &= S_1 - S_{\text{ДНК}} - S_L, \end{aligned} \quad (10)$$

где $S_2, S_1, S_{\text{ДНК}}$ и S_L – абсолютные значения трансляционных (ротационных) энтропий 2:1 и 1:1 комплексов, а также шпильки ДНК и лиганда в свободном состоянии, соответственно, вычисленные по формулам (9).

Выражения для расчета изменений в энтропии и энтальпии вибраций химических связей также следуют из статистической термодинамики:

$$S_{vib}^I = \frac{1}{T} \sum_{j=1}^{3N-6} \left(\frac{h\nu_j}{e^{h\nu_j/kT} - 1} - kT \ln \left(1 - e^{-h\nu_j/kT} \right) \right), \quad H_{vib}^I = \sum_{j=1}^{3N-6} \left(\frac{h\nu_j}{e^{h\nu_j/kT} - 1} + \frac{h\nu_j}{2} \right), \quad (11)$$

где ν_j – нормальные моды колебаний лигандов, рассчитанные при помощи пакета Gaussian03W методом РМЗ; N – число атомов. В настоящей принималось, что, в силу своей значительной конформационной жесткости двуспирального стебля шпильки ДНК, изменения мод колебаний его атомов пренебрежимо малы по сравнению с гибкими «желобочниками».

Результаты и обсуждение

Вклад ван-дер-ваальсовых взаимодействий ΔG_{vdw} представлен в таблице 1. Расчет показывает, что энергетический эффект конформационных изменений ΔG_{vdw}^{conf} молекулы DB293 при образовании как 1:1, так и 2:1 комплекса незначительны и не превышают 0.2 ккал/моль (данные не приведены). В то же время, изменение энергии ван-дер-ваальсовых внутримолекулярных взаимодействий в шпильке ДНК при встраивании первой молекулы оказывается существенным (см. таблицу 1). При этом энергия деформации стебля шпильки при связывании с первой молекулой лиганда существенно больше, чем второй, что согласуется с кооперативным характером комплексообразования [6]. В то же время известно, что при связывании «желобочников» с АТ-трактами ДНК по обычному мономерному механизму конформационные изменения последней незначительны [1-3]. Вероятно, большая величина ΔG_{vdw}^{conf} GC-шпильки по сравнению с АТ (см. таблицу 1) объясняется упомянутыми выше стерическими препятствиями со стороны аминогруппы гуанина GC пары, которые преодолеваются первой молекулой лиганда, увеличивающей ширину малой канавки на этом участке. При этом вторая молекула БАС встраивается в малую канавку уже без существенных конформационных изменений, чему соответствует малая величина ΔG_{vdw}^{conf} .

Таблица 1 – Энергетический вклад ван-дер-ваальсовых взаимодействий при связывании DB293 с АТ и GC шпильками ДНК (ккал/моль)

Шпилька ДНК	Комплекс	Внутримолекулярные в ДНК ΔG_{vdw}^{conf}	Межмолекулярные ΔG_{vdw}^{im}			С водой ΔG_{vdw}^{solv}
			ДНК-лиганд 1	ДНК-лиганд 2	лиганд 1-лиганд 2	
GC	1:1	8,8	-51,8	-	-	52,5
	2:1	0,55	10,4	-33,6	-23,1	49,0
АТ	1:1	0,96	-55,5	-	-	55,0

Как следует из таблицы 1, встраивание второй молекулы DB293 ослабляет энергетически выгодное взаимодействие первой молекулы с ДНК примерно на 10 ккал/моль, что обусловлено, по-видимому, слишком «тесным» размещением двух молекул в малой канавке, при котором возникает энергетически невыгодное ван-дер-ваальсовское отталкивание. Косвенно это подтверждается и тем, что энергия взаимодействия второй молекулы лиганда с ДНК меньше, чем первой (см. таблицу 1). Изменения энергий взаимодействий с водой ΔG_{vdw}^{solv} связывания первой и второй молекул БАС с ДНК оказываются примерно одинаковыми. В то же время, как будет показано ниже, величина ΔA образования 1:1 комплекса существенно выше, чем в случае 2:1 комплекса.

Вклад электростатических взаимодействий ΔG_{el} представлен в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, связывание первой молекулы лиганда вызывает энергетически невыгодные конформационные изменения в ДНК ΔG_{el}^{conf} , что также согласуется с характером изменения ван-дер-ваальсовых энергий (см. выше). Встраивание в малую канавку второй молекулы БАС, наоборот, с точки зрения внутримолекулярных взаимодействий, оказывается выгодным, что также согласуется с отмеченным выше кооперативным характером этого процесса [6]. В то же время, посадка второй молекулы незначительно изменяет межмолекулярные электростатические взаимодействия первой с ДНК, в отличие от ван-дер-ваальсовых. Вероятно, это объясняется более слабой зависимостью энергетики кулоновских взаимодействий от расстояния по сравнению с ван-дер-ваальсовыми (5). При этом электростатические энергии межмолекулярных взаимодействий первой и второй молекул DB293 с ДНК приблизительно равны (см. таблицу 2), что, по всей видимости, отражает дальнедействующий характер электростатических взаимодействий, т.е. каждая молекула БАС взаимодействует достаточно интенсивно как с ближней к ней, так и с дальней «стенками» малой канавки.

Таблица 2 – Энергетический вклад электростатических взаимодействий при связывании DB293 со шпилькой ДНК (ккал/моль)

Шпилька ДНК	Комплекс	Внутримолекулярные в ДНК ΔG_{el}^{conf}	Межмолекулярные ΔG_{el}^{im}			С водой ΔG_{el}^{solv}
			ДНК-лиганд 1	ДНК-лиганд 2	лиганд 1-лиганд 2	
GC	1:1	13,2	-259	-	-	250
	2:1	-11,5	2,1	-252	42,1	202
АТ	1:1	13,3	-294	-	-	282

Кулоновские взаимодействия между лигандами в 2:1 комплексе являются энергетически невыгодными. Это обусловлено близостью положительно заряженных диамидиновых групп (см. рисунки 1 и 3). В то же время, потеря контакта с водой первой молекулы БАС имеет большую электростатическую энергию, чем второй, причем эта разность приблизительно равна энергии электростатических взаимодействий между лигандами в 2:1 комплексе. Таким образом, в целом полные энергии электростатического вклада при образовании 1:1 и 2:1 комплексов оказываются весьма малыми величинами, близкими между собой (≈ -9 и ≈ -6 ккал/моль). Это согласуется с результатами расчетов для связывания с ДНК интеркаляторов [10].

Вклад водородных связей $\Delta\Delta G_{\text{НВ}}$ представлен в таблице 3.

Таблица 3 – Энергетический вклад водородных связей

Шпилька ДНК	N				$\Delta N_{1\text{solv}}$	$\Delta N_{2\text{solv}}$	$\Delta\Delta G_{1\text{solv}},$ ккал/моль	$\Delta\Delta G_{2\text{solv}},$ ккал/моль	$\Delta\Delta G_{\text{im}},$ ккал/моль ($N_{\text{im}} = 2$)
	ДНК	Лиганд	1:1 комплекс	1:2 комплекс					
GC	145	9,4	147	155	-7,4	-1,2	16,7	2,7	-4,5
AT	161		158	-	-12,1	-	27,2	-	

Связывание первой молекулы DB293 с молекулой ДНК, по всей видимости, практически полностью вытесняет воду из малой канавки на участке связывания. Поэтому при посадке второй молекулы дегидратация $\Delta N_{2\text{solv}}$ оказывается уже существенно меньше $\Delta N_{1\text{solv}}$, поскольку обусловлена разрушением гидратной оболочки молекул лигандов, к тому же имеющих небольшое число гидрофильных групп по сравнению с малой канавкой стебля шпильки. Количество межмолекулярных водородных связей лиганд-ДНК принято равным двум как для первой, так и для второй молекул в соответствии с расчетными структурами комплексов (см. рисунок 3), а также с литературными данными для различных диамидинов [8]. В целом, имеет место существенная дегидратация при комплексообразовании, характерная также для связывания с ДНК ароматических интеркаляторов [1,10].

Гидрофобный вклад $\Delta G_{\text{гид}}$ представлен в таблице 4.

Результаты расчета величины SASA для лигандов достаточно хорошо согласуются с результатами [6], вычисленными при помощи программы GRASP. Однако величина $\Delta G_{1\text{гид}} = -15,6$ ккал/моль, полученная в [6] на основании известного соотношения [1] $\Delta G_{\text{гид}} = 80 \Delta C_p$, сильно отличается от полученного в настоящей работе. Однако ранее нами было показано [10], что более корректным является расчет гидрофобного вклада с использованием микроскопического коэффициента поверхностного натяжения γ , а не изменения теплоемкости ΔC_p . В целом, согласно расчетам, гидрофобный эффект связывания второй молекулы БАС со шпилькой ДНК оказывается меньше, чем первой. Это согласуется с общей термодинамической картиной дегидратации (см. выше), т.е. первая молекула лиганда полностью экранирует малую канавку на участке связывания от молекул воды, а вторая частично дегидратируется сама и дегидратирует первую.

Таблица 4 – Площади поверхностей A молекул DB293 и ДНК и их комплекса ($\text{\AA}^2$) и соответствующий гидрофобный вклад $\Delta G_{\text{гид}}$ (ккал/моль). В скобках приведены данные работы [6]

Шпилька ДНК	A				ΔA_1	ΔA_2	$\Delta G_{1\text{гид}}$	$\Delta G_{2\text{гид}}$
	ДНК	Лиганд	1:1 комплекс	1:2 комплекс				
GC	3643 (3150)	621 (652)	3420 (3188)	3531	-844	-510	-42,2	-25,5
AT	3896 (4791)		3718 (4614)	-	-798	-		-39,9

Энтропийный вклад ΔG_{entr} представлен в таблице 5. Составляющие ΔG_{tr} и ΔG_{rot} являются преимущественно энтропийными по своей природе ($|T\Delta S| > |\Delta H|$) и дают неблагоприятный вклад в общую энергию комплексообразования. Такой результат является вполне ожидаемым, учитывая энтропийную невыгодность потери трех ротационных и трансляционных степеней свободы при связывании лиганда с ДНК. Данная закономерность проявляется и для связывания интеркаляторов с ДНК [10], причем ΔG_{tr} и ΔG_{rot} имеют примерно такие же значения (≈ 10 ккал/моль), что объясняется слабой логарифмической зависимостью величин ΔG_{tr} и ΔG_{rot} от значений масс и моментов инерций лигандов (см. (9)).

Таблица 5 – Энергетический вклад энтропийных составляющих при связывании препарата DB293 со шпилькой ДНК (ккал/моль)

Шпилька ДНК	Комплекс	Трансляционные ΔG_{tr}			Ротационные ΔG_{rot}			Вибрационные ΔG_{vibr}			ΔG_{entr}
		ΔG	ΔH	$-T\Delta S$	ΔG	ΔH	$-T\Delta S$	ΔG	ΔH	$-T\Delta S$	
ГС	1:1	10,1	-0,89	10,9	10,0	-0,89	10,9	0,24	0,23	0,01	20,3
	2:1	10,1		11,0	9,9		10,8	-3,7	1,9	-5,6	16,3
АТ	1:1	10,1		11,0	10,0		10,9	0,54	-0,25	0,79	20,6

В работе [6] вклад потери трансляционных и ротационных степеней свободы принят $\Delta G_{tr}=15$ ккал/моль, при этом вибрационные компоненты в [6] не учитывались. Величина ΔG_{2vibr} оказывается весьма малой. Вибрационный вклад ΔG_{2vibr} обусловлен появлением новых мод колебаний химических связей в молекулах DB293 при их димеризации в малой канавки стебля шпильки, является энтропийно выгодным $\Delta S_{vibr} > 0$ и отражает интенсивное взаимодействие их ароматических систем (см. таблицу 5). Поэтому вклад изменения вибраций химических связей для 2:1 комплекса оказывается значительным и сравнимым с таковым для интеркаляторов, для которых $\Delta G_{vibr} = -4,3$ ккал/моль [10]. В целом, сумма всех энтропийных составляющих $\Delta G_{entr} = \Delta G_{tr} + \Delta G_{rot} + \Delta G_{vibr} > 0$ положительна и дестабилизирует комплекс DB293-ДНК.

Анализ суммарной энергии комплексообразования. В таблице 6 представлены результаты расчетов разных энергетических вкладов, взятых из таблиц 1-5. На рисунке 4 в виде диаграмм представлены энергетические вклады различных видов физических взаимодействий в образование 1:1 и 2:1 комплексов.

Главным выводом из анализа таблицы 6 является хорошее совпадение суммы расчетных величин ΔG_{total} , вычисленных различными методами, с экспериментально измеренными в [6] полными энергиями Гиббса ΔG_{exp} . Это свидетельствует, прежде всего, о корректности примененной методики расчета энергетических вкладов. Вместе с тем, расчетные величины энтальпии ΔH_{total} и энтропийного вклада $-T\Delta S_{total}$ сильно отличаются от экспериментальных (см. таблицу 6). Основной причиной этого является условное деление рассмотренных вкладов на энтальпийные (электростатические, ван-дер-ваальсовы и Н-связи) и энтропийные (остальные), поскольку каждый из них имеет и энтальпийную, и энтропийную составляющие, которые не могут быть отделены друг от друга в рамках настоящей методики. Однако качественно величины ΔH_{total} и $-T\Delta S_{total}$ согласуются с экспериментом [6]: для ГС-шпильки экспериментальное и теоретическое значения ΔH оказываются большими по абсолютной величине, чем для АТ, а, соответственно, энтропийного вклада – наоборот (см. таблицу 6). Таким образом, результаты расчетов, выполненных в настоящей работе, также указывают на то, что связывание препарата DB293 с ГС-шпилькой носит преимущественно энтальпийный, а с АТ – энтропийный характер.

Таблица 6 – Составляющие полной энергии связывания препарата DB293 со шпилькой ДНК (ккал/моль), полная и экспериментальная энергии

Шпилька ДНК	Комплекс	ΔG_{tr}	ΔG_{rot}	ΔG_{vibr}	ΔG_{el}	ΔG_{vdw}	$\Delta \Delta G_{HB}$	ΔG_{hyd}	ΔG_{pe}	ΔG_{total}	ΔG_{exp} [6]	ΔH_{exp} [6] (ΔH_{total})	$-T\Delta S_{exp}$ [6] ($-T\Delta S_{total}$)
ГС	1:1	10,1	10,0	0,2	-9,2	9,4	12,2	-42,2	-2,0	-11,5	-9,0	-10,9	-1,9
	2:1	10,1	9,9	-3,7	-5,8	5,3	-1,8	-25,5	0,0	-11,6		(5,0)	(-16,6)
АТ	1:1	10,1	10,0	0,5	-13,0	0,48	22,7	-39,9	-2,0	-11,1	-9,6	-3,6 (10,2)	-6,0 (-21,3)

Выводы

Из анализа данных таблицы 6 и рисунка 4 можно сделать окончательные выводы о вкладах различных физических факторов в стабилизацию комплексов DB293 с двуспиральным участком ДНК – стеблем шпильки. Основной движущей силой образования 1:1 и 2:1 комплексов являются гидрофобные взаимодействия, что согласуется с выводами [6] и результатами, полученными ранее для интеркаляторов [10]. Электростатический вклад также стабилизирует оба типа комплексов. Ван-дер-ваальсовы взаимодействия в целом дестабилизируют комплексы. Полный вклад водородных связей оказывается энергетически невыгодным для 1:1 комплекса и незначительно стабилизирует 2:1 комплекс. Энтропийная составляющая, обусловленная изменением числа степеней свободы системы, является в целом энергетически невыгодной.

Полученные результаты могут быть в дальнейшем использованы при направленном синтезе производных DB293 с заданным термодинамическим профилем.

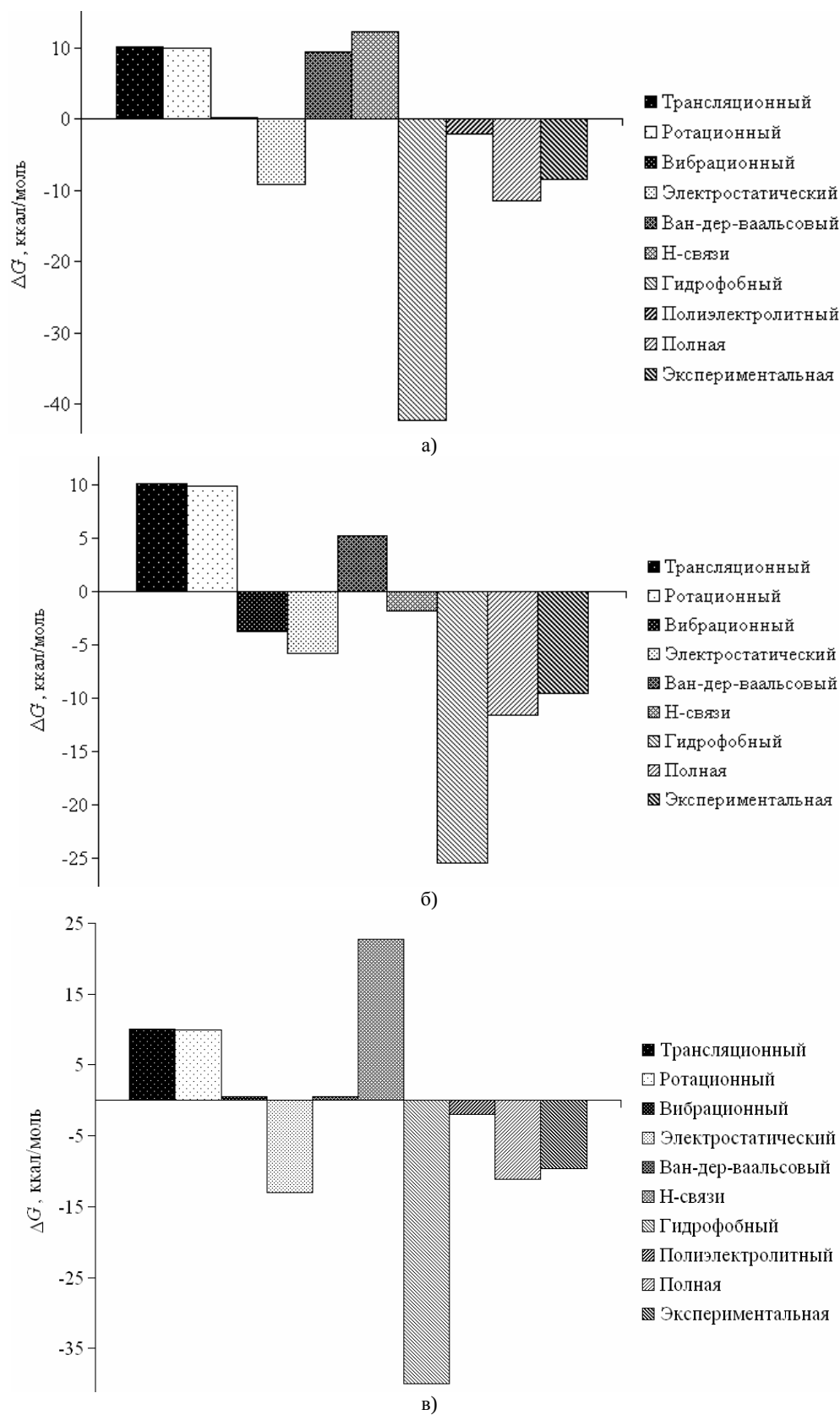


Рисунок 4 – Вклады различных составляющих в полную энергию Гиббса комплексообразования препарата DB293 с GC (1:1 (а), 2:1 (б)) и AT (в) шпилькой ДНК

Библиографический список использованной литературы

1. Haq I. Thermodynamics of Drug-DNA interactions / I. Haq // Arch. Biochem. Biophys. — 2002. — Vol. 403. — P. 1–15.
2. Reddy B.S.P. Synthetic DNA minor groove-binding drugs / B.S.P. Reddy, S.M. Sondhi, J.W. Lown // Pharm. & Ther. — 1999. — Vol. 84. — P. 1–111.
3. Shaikh S.A. A molecular thermodynamic view of DNA–drug interactions: a case study of 25 minor-groove binders / S.A. Shaikh, S.R. Ahmed, B. Jayaram // Arch. Biochem. Biophys. — 2004. — Vol. 429. — P. 81–99.
4. Boykin D.W. Dicationic diarylfurans as anti-Pneumocystis carinii agents / D.W. Boykin, A. Kumar, J. Szychala [et al.] // J. Med. Chem. — 1995. — Vol. 38. — P. 912–916.
5. Mathis A.M. Diphenyl Furans and Aza Analogs: Effects of Structural Modification on In Vitro Activity, DNA Binding, and Accumulation and Distribution in Trypanosomes / A.M. Mathis, A.S. Bridges, M.A. Ismaile [et al.] // Antimicrob. Agents and Chemother. — 2007. — Vol. 51. — P. 2801–2810.
6. Wang L. Comparative Thermodynamics for Monomer and Dimer Sequence-dependent Binding of a Heterocyclic Dication in the DNA Minor Groove / L. Wang, A. Kumar, D.W. Boykin [et al.] // J. Mol. Biol. — 2002. — Vol. 317. — P. 361–374.
7. Pelton J.G. Structural characterization of a 2:1 distamycin A d(CGCAAATTGGC) complex by two-dimensional NMR / J.G. Pelton, D.E. Wemmer // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1989. — Vol. 86. — P. 5723–5727.
8. Nguyen B. A Role for Water Molecules in DNA–Ligand Minor Groove Recognition / B. Nguyen, S. Neidle, W.D. Wilson // Acc. Chem. Res. — 2009. — Vol. 42. — P. 11–21.
9. Parkinson J.A. Comparison of DNA Complex Formation Behaviour for Two Closely Related Lexitropsin Analogues / J.A. Parkinson, A.I. Khalaf, N.G. Anthony [et al.] // Helvetica Chimica Acta. — 2009. — Vol. 92. — P. 795–822.
10. Kostjukov V.V. Partition of Thermodynamic Energies of Drug–DNA Complexation / V.V. Kostjukov, N.M. Khomytova, M.P. Evstigneiev // Biopolymers. — 2009. — Vol. 91. — P. 773–790.

Поступила в редакцию 30.06.2010 г.

Костюков В.В. Энергетика зв'язування діамідинового препарату DB293 з ДНК

Виконано розрахунок і аналіз енергетичних внесків різних фізичних факторів у повну енергію Гіббса зв'язування двоспіральних АТ– і GC–ділянок ДНК з препаратом DB293 за мономерним та димерним механізмами. Показано, що енергетично вигідними при комплексоутворенні DB293 з ДНК є гідрофобний і електростатичний внески, а ентропійний, ван-дер-ваальсівський компоненти і втрата водневих зв'язків з водою виявляються несприятливими.

Ключові слова: діамідин, мала канавка, енергетичні внески, димер.

Kostjukov V.V. Energetics of binding of diamidine drug DB293 with the DNA

The calculation and analysis of energy contributions of various physical factors to the total Gibbs energy of binding of double-stranded AT and GC DNA fragments with DB293 drug by monomeric and dimeric mechanisms are performed. It is shown that hydrophobic and electrostatic contributions are energetically favorable on complexation of DB293 with DNA, whereas the entropic, van der Waals components and the loss of hydrogen bonds with water are unfavorable.

Keywords: diamidine, minor groove, energetic contributions, dimer.