

## Энергия интеркаляции ароматических гетероциклических лигандов в ДНК и ее разделение на аддитивные составляющие

В. В. Костюков

Севастопольский национальный технический университет  
Ул. Университетская, 33, Севастополь, Украина, 99053

viktor\_kostukov@mail.ru

***Цель.** Разделение экспериментальной энергии Гиббса реакции комплексообразования с двуспиральной ДНК на отдельные энергетические составляющие для гетероциклических соединений фаскаплизина, эллиптицина, триоксатриангулена, тионина и феносафранина. **Методы.** Молекулярное моделирование (молекулярная динамика, квантово-механические расчеты). **Результаты.** Вычислены энергетические вклады различных физических факторов, выполнен их сравнительный анализ. **Выводы.** Показано, что основными факторами, стабилизирующими интеркаляционные комплексы ароматических соединений при связывании с ДНК, являются гидрофобные и ван-дер-ваальсовы взаимодействия. Вклады электростатических взаимодействий, водородных связей в целом и энтропийных факторов являются энергетически невыгодными. Перенос электрона от ДНК к лиганду представляется маловероятным.*

*Ключевые слова:* двуспиральная ДНК, интеркаляция, ароматический лиганд, энергетические вклады.

**Введение.** В настоящее время ароматические гетероциклические соединения, например, эллиптицин и тионин активно используют в клинической практике в качестве антиопухолевых препаратов. В основе механизма их медико-биологического действия в большинстве случаев лежит непосредственное связывание с ядерной ДНК за счет интеркаляции с последующим блокированием жизненно важных клеточных процессов [1]. Поэтому детальное изучение комплексообразования ароматических молекул с ДНК является важным для понимания закономерностей действия таких препаратов на генетический материал клетки.

Большую роль при решении данной задачи играет знание вкладов различных физических факторов в суммарную энергию Гиббса реакции комплексообразования [2, 3]. Методика расчета составляющих полной энергии связывания ароматичес-

ких интеркаляторов с ДНК разработана и опробована нами ранее [4]. Однако в связи с постоянным синтезированием и выделением из природного материала новых эффективных препаратов [5] данная методика требует дальнейшего применения и апробации для молекул с другими типами хромофоров. Это обусловлено необходимостью ответа на вопрос: какие факторы стабилизируют/дестабилизируют комплексы биологически активных соединений с ДНК? Последнее является важным для компьютерного скрининга лекарственных средств и направленного синтеза новых препаратов с заданной биологическим действием.

В настоящей работе методами молекулярного моделирования выполнено разделение полных энергий Гиббса реакций комплексообразования с двуспиральной ДНК на отдельные энергетические составляющие для пяти структурно различных гетероциклических соединений. Исследованы природные алкалоиды фаскаплизин (FAS) и эллиптицин

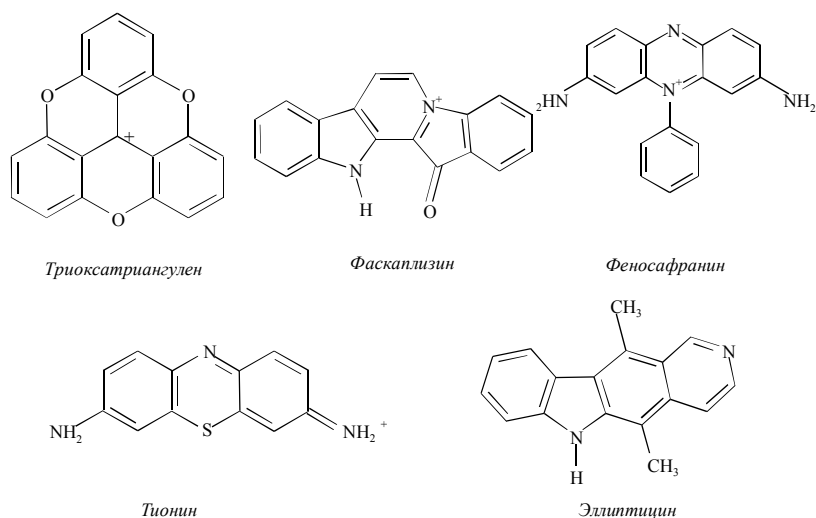


Рис. 1. Структурные формулы гетероциклических лигандов

(EL), синтетические красители триоксатриангулен (ТОТА), тионин (ТН) и феносафранин (PS) (рис. 1).

**Материалы и методы.** Построение структур комплексов. Данные о пространственных структурах комплексов взяты из публикаций [6–10]. В качестве участка связывания лигандов в данной работе, как и в [4], принят центральный CG-сайт декамера ДНК  $d(\text{GCGTTCGACGC})_2$ . Атомные заряды гетероциклических соединений вычислены при помощи пакета Gaussian09W методом Мерца-Коллмана на уровне теории MP2/6-31G\*. Структуры комплексов лиганд–ДНК (рис. 2, см. вклейку) построены методом молекулярной механики (ММ) с использованием программы X-PLOR3.1. Значения параметров ММ соответствуют силовому полю AMBER для нуклеиновых кислот. Водное окружение задано на основе модели TIP3P (1663 молекулы).

Молекулярную динамику (МД) рассчитывали, применяя программу X-PLOR, по алгоритму Verlet с временным шагом  $\Delta t = 2$  фс и алгоритму SHAKE при постоянной температуре  $T = 298$  К. Время эволюции составило 2 нс. Координаты всех атомов записывали каждую 1 пс.

Расчет энергии ван-дер-ваальсовых взаимодействий  $\Delta G_{VDW}$ . Межмолекулярные VDW взаимодействия и с водным окружением вычисляли согласно потенциалу Леннарда-Джонса с помощью программы X-PLOR, усредняя за последние 40 пс МД. Изменение энергии внутримолекулярных VDW взаимодействий  $\Delta G_{int}^{inv}$  в ДНК при образовании интеркаляционной полости в вакууме рассчи-

тывали методом возмущения свободной энергии (Free Energy Perturbation, FEP) с использованием программы MOIL. Заряды ДНК в данной процедуре обнулены. Энергию VDW взаимодействий с водным окружением находили из МД комплекса, раскрученной ДНК, В-формы ДНК и свободного лиганда в водных боксах. При этом МД раскрученной ДНК проводили при фиксированных азотистых основаниях сайта интеркаляции.

Энергии электростатических взаимодействий  $\Delta G_{el}$  рассчитывали методом решения нелинейного уравнения Пуассона-Больцмана (НУПБ) при помощи программы DelPhi4.0, задавая ионную силу, равную 0,1 М. Подробное изложение использованной методики вычислений дано в [11].

Расчет полиэлектролитного вклада  $\Delta G_{pe}$ . Составляющую  $\Delta G_{pe}$  целесообразно отделить от полной электростатической энергии  $\Delta G_{el}$ , вычисляемой в DelPhi (составляющая, обусловленная взаимодействием с противоионами  $\Delta G_i$  [11, 20]), поскольку ее можно сравнительно легко измерить экспериментально [12]. Из исследуемых соединений в литературе есть значение  $\Delta G_{pe} = -1,1$  ккал/моль лишь для PS [8]. В то же время результаты работы [12] свидетельствуют о том, что полиэлектролитный вклад для моноинтеркаляторов мало зависит от типа молекулы и в среднем равен  $-1,1$  ккал/моль. Поэтому данное значение использовано здесь при оценке  $\Delta G_{pe}$  для остальных четырех лигандов.

Расчет энергии водородных связей  $\Delta \Delta G_{HB}$ . Методика вычисления изменения гидратации  $\Delta N_{solv}$

при комплексообразовании ароматических соединений с ДНК приведена нами в [13]. Методика расчета  $\Delta\Delta G_{HB}$  из количества межмолекулярных H-связей  $N_{im}$  и изменения гидратации  $\Delta N_{solv}$  подробно описана в [4]. На ее основе получено выражение, использованное в настоящей работе:

$$\Delta\Delta G_{HB} = -225 \cdot (N_{im} + \Delta N_{solv}), \text{ ккал / моль. (1)}$$

Расчет энергии гидрофобного вклада  $\Delta G_{hyd}$  выполнен на основании корреляции энергии гидрофобного растворения  $\Delta G_{hyd}$  и изменения площади поверхности, доступной растворителю (solvent accessible surface area – SASA)  $\Delta A$  [14]:

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

где  $\gamma$  – микроскопический коэффициент поверхностного натяжения. В работе [15] нами осуществлена «калибровка» его величины, подтвердившая корректность значения  $\gamma = 50$  ккал/(моль · Å<sup>2</sup>) [14]. SASA вычисляет при помощи программы HyperChem8.0. Подробно обоснование выбора методики (2) расчета  $\Delta G_{hyd}$  при связывании ароматических молекул с ДНК сделано нами в [16].

Расчет энтропийного вклада  $\Delta G_{entr}$ . Величина  $\Delta G_{entr}$  является суммой энергетических эквивалентов изменения числа поступательных  $\Delta G_{tr}$ , вращательных  $\Delta G_{rot}$  и колебательных  $\Delta G_{vibr}$  степеней свободы при образовании комплексов лиганд–ДНК:

$$\Delta G_{entr} = \Delta G_{tr} + \Delta G_{rot} + \Delta G_{vibr}. \quad (3)$$

Компонента  $\Delta G_{vibr}$  является энергетическим эквивалентом изменения вибраций химических связей (вибрации I рода  $\Delta G_{vibr}^I$ ), а также образования новых колебательных степеней свободы, обусловленных механическими колебаниями лиганда в интеркаляционной полости (вибрации II рода  $\Delta G_{vibr}^{II}$ ):

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

Подробно методика расчета каждой из энтропийных составляющих комплексообразования интеркаляторов с ДНК описана нами в работе [17].

Расчет энергии переноса заряда  $\Delta G_{ct}$ . В некоторых публикациях [18] считают возможным переход

электрона от ДНК к молекуле интеркалятора. Это явление (charge transfer) также может давать вклад в энергетику комплексообразования. В настоящей работе вероятность переноса электрона оценена по потенциалу ионизации ДНК и сродству к электрону ароматических молекул  $\Delta E$  [19], а также по наивысшей занятой (highest occupied, HOMO) и наинизшей незанятой (lowest unoccupied, LUMO) энергиям молекулярных орбиталей:

$$\Delta E (CG_2) = E (CG_2^{-1}) - E (CG_2^{-2});$$

$$\Delta E (Л) = E (Л^*) - E (Л^{\circ}), \quad (5)$$

где  $E$  – энергии внутримолекулярных взаимодействий в CG<sub>2</sub>-сайте ДНК с отдачей электрона (с зарядом –1) и без (–2) и в лиганде (Л) с получением электрона (\*) и без (°). Вычисления энергий выполнены при помощи пакета Gaussian09W на уровне теории HF/6-31G\*\* с предварительной оптимизацией геометрии.

**Результаты и обсуждение.** *Общий подход к расчету составляющих суммарной энергии Гиббса реакции комплексообразования лигандов с ДНК.* Согласно методике [4], полная расчетная энергия Гиббса реакции комплексообразования ароматических интеркаляторов с ДНК в водном растворе  $\Delta G_{total}$  является суммой энергетических вкладов различных физических факторов:

$$\begin{aligned} \Delta G_{total} = & \Delta G_{conf} + \Delta G_{VDW} + \Delta G_{el} + \Delta G_{pe} + \Delta\Delta G_{HB} + \\ & + \Delta G_{hyd} + \Delta G_{entr} + \Delta G_{ct}, \end{aligned} \quad (6)$$

где  $\Delta G_{conf}$  – вклад конформационных изменений в ДНК и интеркаляторе;  $\Delta G_{VDW}$  – ван-дер-ваальсовых взаимодействий;  $\Delta G_{el}$  – электростатический вклад;  $\Delta G_{pe}$  – полиэлектролитный;  $\Delta G_{HB}$  – водородных связей;  $\Delta G_{hyd}$  – гидрофобный;  $\Delta G_{entr}$  – энтропийный;  $\Delta G_{ct}$  – вклад переноса заряда.

Интеркаляцию лиганда можно рассматривать как двухстадийный процесс (рис. 3) [20]: раскручивание ДНК с образованием интеркаляционной полости (ДНК\*)  $\Delta G_{uw}$  и вставка лиганда  $\Delta G_{ins}$ :

$$\Delta G_{total} = \Delta G_{uw} + \Delta G_{ins}. \quad (7)$$

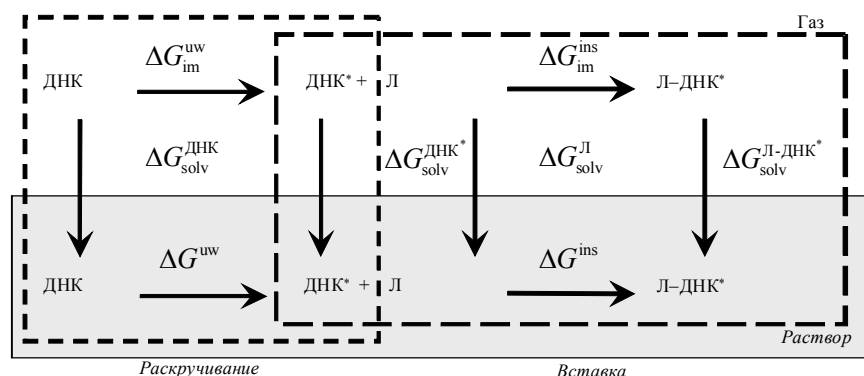


Рис. 3. Термодинамический цикл связывания ароматического лиганда

 Таблица 1  
 Расчетные значения энергий (ккал/моль) ван-дер-ваальсовых взаимодействий

Лиганд	Раскручивание			Вставка			Интеркаляция		
	$\Delta G_{im}^{uw}$	$\Delta G_{solv}^{uw}$	$\Delta G_{vdw}^{uw}$	$\Delta G_{im}^{ins}$	$\Delta G_{solv}^{ins}$	$\Delta G_{vdw}^{ins}$	$\Delta G_{im}^{bind}$	$\Delta G_{solv}^{bind}$	$\Delta G_{vdw}^{bind}$
ТОТА	24,2	-19,0	5,2	-53,8	45,5	-8,3	-29,7	26,5	-3,1
FAS	31,6	-15,3	16,3	-55,0	41,0	-14,0	-23,4	25,7	2,3
PS	30,2	-8,3	21,9	-46,3	27,2	-19,1	-16,1	19,0	2,9
ТН	32,2	-16,1	16,1	-41,9	36,0	-5,9	-9,7	19,8	10,2
ЕЛ	27,1	-6,4	20,6	-56,2	26,8	-29,5	-29,2	20,3	-8,9

При этом именно конформационные изменения в ДНК при раскручивании  $\Delta G_{uw}$  дают основной вклад в составляющую  $\Delta G_{conf}$  в уравнении (6), т. е.  $\Delta G_{conf} \approx \Delta G_{uw}$ .

Кроме того, полный энергетический анализ должен содержать разделение  $\Delta G_{total}$  на внутри- и межмолекулярные взаимодействия ДНК и лиганда  $\Delta G_{im}$  и их взаимодействие с водной средой  $\Delta G_{solv}$ :

$$\Delta G_{total} = \Delta G_{im} + \Delta G_{solv}. \quad (8)$$

Анализ энергетического вклада ван-дер-ваальсовых взаимодействий  $\Delta G_{VDW}$  (табл. 1). Энергия внутримолекулярных взаимодействий пар оснований ДНК на этапе раскручивания  $\Delta G_{im}^{uw} > 0$ , что обусловлено нарушением стэкинг-взаимодействий при образовании интеркаляционной полости. Энергия VDW взаимодействий с водной средой при раскручивании  $\Delta G_{solv}^{uw} < 0$ , что вызвано гидратацией сайта интеркаляции. В целом, VDW взаимодействия на этапе раскручивания ДНК препятствуют комплексообразованию ( $\Delta G_{VDW}^{uw} > 0$ ).

На этапе вставки лигандов межмолекулярная энергия взаимодействия лиганда и ДНК  $\Delta G_{im}^{ins} < 0$  и

отражает характер притяжения VDW сил. При этом величина  $\Delta G_{im}^{ins}$  коррелирует с площадью хромофоров молекул, так как четыре молекулы (за исключением ТОТА, обладающей симметрией третьего порядка) встраиваются вдоль больших осей оснований ДНК (рис. 1; рис. 2, см. вклейку).

Как видно из данных табл. 1, наибольшее по модулю значение  $\Delta G_{im}^{ins} = -56,2$  ккал/моль наблюдается для ЕЛ. Вероятно, это обусловлено изогнутой формой хромофора молекулы, повторяющей кривизну пар оснований ДНК [21]. Отметим, что ЕЛ демонстрирует одну из самых высоких среди интеркаляторов константу связывания с двуспиральной ДНК [22]. В работе [23] также указано на высокое сродство ЕЛ к ДНК, существенно превышающее таковое для РF, имеющего примерно те же размеры молекулы. Наименьшее по абсолютной величине значение  $\Delta G_{im}^{ins} = -41,9$  ккал/моль проявляет ТН, имеющий неплоский хромофор без массивных боковых групп (табл. 1).

Энергия VDW взаимодействия комплекса с растворителем  $\Delta G_{solv}^{ins} > 0$  за счет дегидратации лиганда при его вставке в ДНК. При этом молекула ТОТА имеет наибольшее значение  $\Delta G_{solv}^{ins}$ , что согласуется с

Таблица 2  
Расчетные значения энергий (ккал/моль) электростатических взаимодействий

Лиганд	Раскручивание			Вставка			Интеркаляция		
	$\Delta G_{im}^{uw}$	$\Delta G_{solv}^{uw}$	$\Delta G_{el}^{uw}$	$\Delta G_{im}^{ins}$	$\Delta G_{solv}^{ins}$	$\Delta G_{el}^{ins}$	$\Delta G_{im}^{bind}$	$\Delta G_{solv}^{bind}$	$\Delta G_{el}^{bind}$
TOTA	-31,1	31,3	0,2	-131,1	127,6	-3,5	-162,2	158,9	-3,3
FAS	-30,6	22,1	-8,5	-133,4	129,5	-3,9	-164,1	151,6	-12,5
PS	-12,2	8,2	-4,0	-135,1	129,1	-6,0	-147,3	137,3	-10,0
TH	-20,2	14,2	-6,0	-145,0	137,5	-7,5	-165,2	151,6	-13,5
EL	-35,5	34,9	-0,5	-0,9	3,5	2,5	-36,4	38,4	2,0

максимальной среди рассматриваемых соединений площадью ее хромофора (рис. 1).

Суммарная энергия межмолекулярных VDW взаимодействий  $\Delta G_{im}^{bind} = \Delta G_{im}^{uw} + \Delta G_{im}^{ins} < 0$  способствует связыванию.

*Анализ энергетического вклада электростатических взаимодействий  $\Delta G_{el}$ .* Из табл. 2 видно, что изменение электростатической составляющей энергии взаимодействия с водным окружением при раскручивании ДНК для всех лигандов  $\Delta G_{solv}^{uw} > 0$ . Это объясняется тем, что при раскручивании ДНК увеличивается ее длина, следовательно, плотность заряда на поверхности уменьшается, вследствие чего ослабляется взаимодействие с водным окружением [20]. Вклад кулоновских взаимодействий в свободную энергию при раскручивании  $\Delta G_{im}^{uw} < 0$  для всех лигандов. Это вызвано увеличением расстояния между отрицательно заряженными фосфатами при образовании интеркаляционной полости, что является энергетически выгодным процессом [20]. Электростатические взаимодействия при интеркаляции в целом  $\Delta G_{el}^{bind}$  и на этапе вставки лиганда  $\Delta G_{el}^{ins}$  значительно стабилизируют комплексы лиганд–ДНК в водной среде, за исключением EL. Для EL значения  $\Delta G_{el}^{bind}$  и  $\Delta G_{el}^{ins}$  существенно меньше, поскольку он является единственной среди рассматриваемых незаряженной молекулой. Для FAS, PS, TH  $\Delta G_{el}^{bind}$  характеризуется большими значениями, соизмеримыми с  $\Delta G_{total}$  (табл. 7). Существенная роль электростатических взаимодействий косвенно подтверждается сильной зависимостью сродства PS к ДНК от концентрации соли [24].

*Полиэлектролитный вклад  $\Delta G_{pe}$*  существенно меньше экспериментальной энергии связывания (табл. 7) и способствует образованию комплекса.

*Анализ энергетического вклада водородных связей  $\Delta \Delta G_{HB}$ .* При раскручивании молекулы ДНК ее гидратация увеличивается,  $\Delta N_{solv} > 0$  (табл. 3). Величина  $\Delta N_{solv}$  максимальна для TOTA. На этапе вставки значения  $\Delta N_{solv}$  отрицательны для всех лигандов, что обусловлено дегидратацией лиганда и сайта встраивания. Это согласуется с положительными величинами VDW энергии  $\Delta G_{solv}^{ins}$  (табл. 1). Также аналогично VDW взаимодействиям наибольшую величину  $\Delta N_{solv}$  при встраивании имеет TOTA, а наименьшую – PS. В целом, при комплексобразовании происходит существенная дегидратация для всех рассматриваемых комплексов.

Межмолекулярные Н-связи в исследуемых комплексах обнаружены для молекул PS и TH между их боковыми аминогруппами (рис. 1) и фосфатами ДНК.

*Анализ гидрофобного вклада  $\Delta G_{hyd}$ .* На этапе раскручивания ДНК гидрофобный вклад  $\Delta G_{hyd}^{uw}$  энергетически невыгоден для всех рассматриваемых лигандов и связан с увеличением SASA (табл. 4). Однако при вставке уменьшение величин SASA и соответствующих гидрофобных энергий  $\Delta G_{hyd}^{ins}$  оказывается значительно больше по модулю, так что суммарная гидрофобная энергия при интеркаляции лигандов  $\Delta G_{hyd}^{bind} < 0$  и вносит большой вклад в стабилизацию комплексов (табл. 4).

В работе [8] для PS на основе соотношения  $\Delta G_{hyd} = 80 \Delta C_p$  [25] вычислена величина гидрофобного вклада  $\Delta G_{hyd} = -7,8$  ккал/моль, сильно отличающаяся от полученной нами  $\Delta G_{hyd} = -22$  ккал/моль. Подобное расхождение наблюдалось и для ранее исследованных комплексов [16]. При этом в [4, 16] нами показано, что, по-видимому, более корректным является расчет гидрофобных энергий при

Таблица 3

Энергетический вклад водородных связей (ккал/моль) при комплексообразовании лигандов с ДНК

Лиганд	Раскручивание		$N_{im}$	Вставка		Интеркаляция	
	$\Delta N_{solv}$	$\Delta \Delta G_{HB}$		$\Delta N_{solv}$	$\Delta \Delta G_{HB}$	$\Delta N_{solv}$	$\Delta \Delta G_{HB}$
TOTA	3,8	-8,6	0	-11,3	25,3	-7,5	16,8
FAS	3,2	-7,2	0	-10,6	23,7	-7,4	16,5
PS	2,9	-6,5	1	-9,6	19,4	-6,7	12,9
TH	3,3	-7,4	1	-8,3	16,4	-5,0	9,0
EL	2,1	-4,7	0	-7,0	15,9	-5,0	11,2

Таблица 4

Площади поверхностей молекул и их комплексов  $A$  ( $\text{\AA}^2$ ) и соответствующий гидрофобный вклад  $\Delta G_{hyd}$  (ккал/моль) при комплексообразовании лигандов с ДНК

Лиганд	$A$ (Л)	$A$ (ДНК)	Раскручивание			Вставка			Интеркаляция
			$A$ (ДНК*)	$\Delta A$	$\Delta G_{hyd}^{inv}$	$A$ (К)	$\Delta A$	$\Delta G_{hyd}^{ins}$	$\Delta G_{hyd}^{bind}$
TOTA	492	4063	4280	217	10,8	4164	-608	-30,4	-19,6
FAS	446	-	4195	132	6,6	4090	-551	-27,5	-21,0
PS	526	-	4208	145	7,2	4148	-586	-29,3	-22,1
TH	405	-	4227	164	8,2	4102	-531	-26,5	-18,4
EL	444	-	4287	224	11,2	4175	-556	-27,8	-16,6

Примечание: Л – лиганд; К – комплекс.

связывании ароматических соединений с ДНК «методом  $\gamma$ » (2).

Анализ энтропийного вклада  $\Delta G_{entr}$ . Как следует из данных табл. 5, составляющие  $\Delta G_{tr}$  и  $\Delta G_{rot}$  являются преимущественно энтропийными по своей природе ( $|T\Delta S| > |\Delta H|$ ) и дают неблагоприятный вклад в общую энергию комплексообразования. Это объясняется энтропийной невыгодностью потери трех поступательных и трех вращательных степеней свободы при связывании лиганда с ДНК. Изменения колебаний I рода являются энтальпийно невыгодными, но энтропийно выгодными (табл. 5), что можно объяснить образованием новых мод колебаний связей в комплексе лиганд–ДНК [17]. В общем, энтропийный фактор оказывается доминирующим, и колебания I рода способствуют образованию комплексов для всех рассматриваемых лигандов. Как видно из табл. 5, колебания II рода также имеют преимущественно энтропийную природу и благоприятствуют связыванию, что является ре-

зультатом образования новых колебательных степеней свободы. Отметим, что в работе [26] вычислен энергетический эквивалент изменения конфигурационной энтропии дуплексной ДНК при связывании с EL:  $\Delta G_{config} = 38$  ккал/моль, однако другие энтропийные вклады (3), (4) в ней не учитывали.

Сумма всех энтропийных составляющих  $\Delta G_{entr} = \Delta G_{tr} + \Delta G_{rot} + \Delta G_{vib}^I + \Delta G_{vib}^{II} > 0$  и дестабилизирует комплексы лиганд–ДНК.

Перенос электрона в комплексах лиганд–ДНК. Из табл. 6 видно, что сродство к электрону для заряженных лигандов  $\Delta E < 0$ , т. е. они служат акцепторами электрона. Подтверждением этому являются и отрицательные значения  $\epsilon_{LUMO}$  для всех лигандов. Однако сам  $CG_2$ -сайт ДНК имеет потенциал ионизации  $\Delta E > 0$ . Это свидетельствует об энергетической невыгодности отдачи электрона для него и согласуется с  $\epsilon_{LUMO} < 0$ . Отметим, что в соответствии с [6, 18], передачи электрона от ДНК к TOTA и EL также не происходит. Таким образом, перенос

Таблица 5

Энергетический вклад энтропийных составляющих (ккал/моль) при комплексообразовании лигандов с ДНК

Лиганд	Трансляционные			Вращательные			Колебательные I рода			Колебательные II рода			$\Delta G_{ent}$
	$\Delta H$	$-T\Delta S$	$\Delta G$	$\Delta H$	$-T\Delta S$	$\Delta G$	$\Delta H$	$-T\Delta S$	$\Delta G$	$\Delta H$	$-T\Delta S$	$\Delta G$	
TOTA	-0,9	10,9	10,0	-0,9	10,1	9,2	0,8	-5,1	-4,3	1,8	-10,4	-8,6	6,2
FAS	-	10,8	9,9	-	9,9	9,0	-	-	-	-	-10,2	-8,4	6,1
PS	-	10,8	10,0	-	10,2	9,3	-	-	-	-	-9,3	-7,5	7,4
TH	-	10,5	9,6	-	9,5	8,6	-	-	-	-	-8,7	-6,9	7,0
EL	-	10,7	9,8	-	9,8	8,9	-	-	-	-	-9,9	-8,1	6,3

Таблица 6

Значения энергий внутримолекулярных взаимодействий  $E$ , сродства к электрону  $\Delta E$  и молекулярных орбиталей  $\varepsilon$  (эВ)

Молекула	Заряд (1 e)	$E$	$\Delta E$	$\varepsilon_{HOMO}$	$\varepsilon_{LUMO}$
TOTA	+1	-25686	-6	-12,4	-3,7
	0	-25691	-6	-12,4	-3,7
FAS	+1	-23588	-5	-11,9	-3,7
	0	-23593	-5	-11,9	-3,7
PS	+1	-24573	-4	-10,9	-2,8
	0	-24578	-4	-10,9	-2,8
TH	+1	-27638	-6	-11,1	-3,6
	0	-27643	-6	-11,1	-3,6
EL	0	-20590	1	-6,9	1,9
	-1	-20589	1	-6,9	1,9
CG <sub>2</sub>	-2	-12226	3	-2,9	-1,8
	-1	-12225	3	-2,9	-1,8

заряда между ДНК и исследуемыми интеркаляторами представляется маловероятным,  $\Delta G_{ct} = 0$ . Аналогичный вывод сделан ранее и для других интеркаляторов [4].

Анализ суммарной энергии комплексообразования лиганд-ДНК  $\Delta G_{total}$  (табл. 7, рис. 4). Поскольку этап раскручивания ДНК не дает вклада в стабилизацию комплексов, в табл. 7 представлена полная энергия раскручивания как сумма  $\Delta G^{sw}$  для VDW, электростатических и гидрофобных взаимодействий. Абсолютное значение каждой из составляющих может достигать сотни ккал/моль (табл. 2). Это означает фактическую соизмеримость ошибки

расчета суммарной энергии  $\Delta \Delta G_{total}$  с самой энергией  $\Delta G_{total}$ . Данный факт отмечен и другими авторами (см., например, [29] и обсуждение в [4]) и означает, что для класса систем, исследованных в настоящей работе, совпадение теоретической  $\Delta G_{total}$  и экспериментальной  $\Delta G_{exp}$  энергий в пределах наибольшей погрешности  $\pm \Delta G_{total}$  можно считать удовлетворительным. В среднем для исследуемых соединений в настоящей работе получено расхождение  $\langle |\Delta G_{total} - \Delta G_{exp}| \rangle = 1,4$  ккал/моль, что является хорошим совпадением.

Установленное выше совпадение  $\Delta G_{total}$  и  $\Delta G_{exp}$  в пределах оценочной погрешности дает основание для проведения сравнительного анализа расчетных значений компонент полной энергии Гиббса реакций комплексообразования исследуемых лигандов с ДНК (табл. 7) и выявления физических факторов, стабилизирующих/дестабилизирующих комплексы. Процесс раскручивания ДНК в целом является энергетически невыгодным для всех рассматриваемых лигандов. Наиболее существенный вклад в стабилизацию комплексов вносят гидрофобные взаимодействия  $\Delta G_{hyd}$ , что согласуется с существующими представлениями [2]. Меньшую роль играют ван-дер-ваальсовы взаимодействия  $\Delta G_{VDW}$ . Вклад электростатики и Н-связей  $\Delta G_{el+HB}$  в общем энергетически невыгоден. При этом межмолекулярные ван-дер-ваальсовы и электростатические взаимодействия стабилизируют комплекс, а потеря соответствующих контактов (и водородных связей) с водой энергетически невыгодна. Энтропийный фактор  $\Delta G_{ent}$  в целом также является дестабилизирующим для всех рассмотренных комплексов. При этом энергетическая выгодность обеих его колеба-

Таблица 7

 Составляющие полной энергии связывания (ккал/моль) и равновесная константа комплексообразования  $K$ 

Лиганд	Раскручивание	Вставка					$\Delta G_{total}$	$\Delta G_{exp}$	$K, 10^5 \text{ M}^{-1}$
		$\Delta G_{vdw}$	$\Delta G_{el+HB}$	$\Delta G_{pe}$	$\Delta G_{hyd}$	$\Delta G_{entp}$			
TOTA	7,6	-8,3	21,8	-1,1	-30,4	6,2	-4,1	-6,3	0,40 [6]
FAS	7,2	-14,0	19,8	-	-27,5	6,1	-9,5	-8,0	6,8 [7]
PS	18,6	-19,1	13,4	-	-29,3	7,4	-10,0	-7,9	5,8 [8]
TH	10,9	-5,9	8,8	-	-26,5	7,0	-6,9	-6,2	0,34 [27]
EL	26,6	-29,5	18,4	-	-27,8	6,3	-7,1	-7,5	3,3 [28]

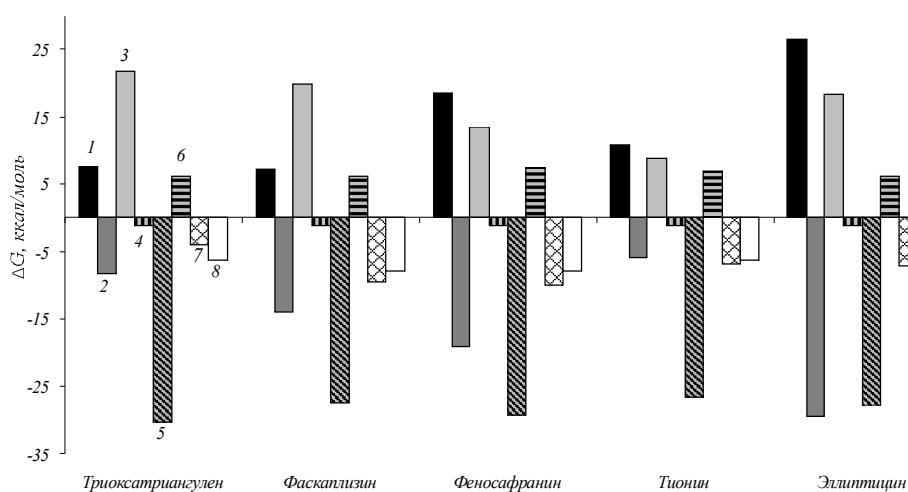


Рис. 4. Вклады различных составляющих в полную энергию Гиббса комплексообразования гетероциклических соединений с ДНК: 1 – раскручивание; 2 – ван-дер-ваальсова; 3 – электростатика и Н-связи; 4 – полиэлектролитная; 5 – гидрофобная; 6 – энтропийная; 7 – полная; 8 – экспериментальная

тельных составляющих перекрывается неблагоприятной потерей поступательных и вращательных степеней свободы.

V. V. Kostyukov

Energy of intercalation of aromatic heterocyclic ligands into DNA and its partition into additive components

Sevastopol National Technical University  
33, Universitetskaya Str., Sevastopol, Ukraine, 99053

Summary

**Aim.** Partition of experimental Gibbs energy of complexation with double-stranded DNA into separate energy components for heterocyclic compounds: fаскаплизин, эллиптицин, триоксатриангуленум (TOTA), тионин (TH), and феносафранин (PS). **Methods.** Molecular modeling (molecular dynamics simulation, quantum-mechanical calculations). **Results.** The energy contributions from different physical factors were calculated, a comparative analysis was performed. **Conclusions.** It was shown that the major factors stabilizing the intercalation complexes of aromatic compounds with DNA are hydrophobic and van der Waals interactions. The contributions from electrostatic interactions and hydrogen bonds in total and the entropic factors are energetically

unfavorable. Electron transfer from DNA to ligand appears to be unlikely.

**Keywords:** double-stranded DNA, intercalation, aromatic ligand, energy contribution.

V. V. Kostyukov

Енергія інтеркаляції ароматичних гетероциклічних лігандів у ДНК та її розділення на адитивні складові

Резюме

**Мета.** Розділення експериментальної енергії Гіббса реакції комплексоутворення з двоспіральною ДНК на окремі енергетичні складові для гетероциклічних сполук фаскаплизину, еліптицину, триоксатриангулену, тионіну і феносафраніну. **Методи.** Молекулярне моделювання (молекулярна динаміка, квантово-механічні розрахунки). **Результати.** Обчислено енергетичні внески від різних фізичних чинників, зроблено їхній порівняльний аналіз. **Висновки.** Показано, що основними факторами, які стабілізують інтеркаляційні комплекси ароматичних сполук при зв'язуванні з ДНК, є гідрофобні і ван-дер-ваальсові взаємодії. Внески електростатичних взаємодій, водневих зв'язків у цілому та ентропійних чинників є енергетично не вигідними. Перенесення електрона від ДНК до ліганда видається малоімовірним.

**Ключові слова:** двоспіральна ДНК, інтеркаляція, ароматичний ліганд, енергетичні внески.



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Martinez R., Chacon-Garcia L.* The search of DNA-intercalators as antitumoral drugs: what it worked and what did not work // *Curr. Med. Chem.*—2005.—**12**, N 2.—P. 127–151.
2. *Haq I.* Thermodynamics of drug-DNA interactions // *Arch. Biochem. Biophys.*—2002.—**403**, N 1.—P. 1–15.
3. *Ren J., Jenkins T. C., Chaires J. B.* Energetics of DNA intercalation reactions // *Biochemistry.*—2000.—**39**, N 29.—P. 8439–8447.
4. *Kostjukov V. V., Khomytova N. M., Evstigneev M. P.* Partition of thermodynamic energies of drug-DNA complexation // *Biopolymers.*—2009.—**91**, N 9.—P. 773–790.
5. *Nakamoto K., Tsuboi M., Strahan G. D.* Drug-DNA interactions. Structures and spectra.—New York: John Wiley & Sons, 2008.—378 p.
6. *Reynisson J., Schuster G. B., Howerton S. B., Williams L. D., Barnett R. N., Cleveland C. L., Landman U., Harrit N., Chaires J. B.* Intercalation of trioxatriangulenium ion in DNA: binding, electron transfer, X-ray crystallography, and electronic structure // *J. Am. Chem. Soc.*—2003.—**125**, N 8.—P. 2072–2083.
7. *Hormann A., Chaudhuri B., Fretz H.* DNA binding properties of the marine sponge pigment faspalyisin // *Bioorg. Med. Chem.*—2001.—**9**, N 4.—P. 917–921.
8. *Saha I., Hossain M., Kumar G. S.* Base pair specificity and energetics of binding of the phenazinium molecules phenosafranine and safranin-O to deoxyribonucleic acids: a comparative study // *Phys. Chem. Chem. Phys.*—2010.—**12**, N 39.—P. 12771–12779.
9. *Paul P., Hossain M., Yadav R. C., Kumar G. S.* Biophysical studies on the base specificity and energetics of the DNA interaction of photoactive dye thionine: spectroscopic and calorimetric approach // *Biophys. Chem.*—2010.—**148**, N 1–3.—P. 93–103.
10. *Canals A., Purciolas M., Aymami J., Coll M.* The anticancer agent ellipticine unwinds DNA by intercalative binding in an orientation parallel to base pairs // *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.*—2005.—**61**, Pt 7.—P. 1009–1012.
11. *Kostjukov V. V., Khomytova N. M., Davies D. B., Evstigneev M. P.* Electrostatic contribution to the energy of binding of aromatic ligands with DNA // *Biopolymers.*—2008.—**89**, N 8.—P. 680–690.
12. *Chaires J. B.* Dissecting the free energy of drug binding to DNA // *Anticancer Drug Des.*—1996.—**11**, N 8.—P. 569–580.
13. *Kostjukov V. V., Khomytova N. M., Evstigneev M. P.* Hydration change on complexation of aromatic ligands with DNA: molecular dynamics simulations // *Biopolym. Cell.*—2010.—**26**, N 1.—P. 36–44.
14. *Sharp K. A., Nicholls A., Fine R. F., Honig B.* Reconciling the magnitude of the microscopic and macroscopic hydrophobic effects // *Science.*—1991.—**252**, N 5002.—P. 106–109.
15. *Kostjukov V. V., Khomytova N. M., Evstigneev M. P.* Referencing of hydrophobic contribution to the free energy of the complexation reactions of aromatic molecules in solution // *Ukr. Chem. J.*—2010.—**76**, N 8.—P. 96–101.
16. *Kostjukov V. V., Khomytova N. M., Lantushenko A. O., Evstigneev M. P.* Hydrophobic contribution to the free energy of complexation of aromatic ligands with DNA // *Biopolym. Cell.*—2009.—**25**, N 2.—P. 133–141.
17. *Kostjukov V. V., Khomutova N. M., Evstigneev M. P.* Contribution of changes in translational, rotational, and vibrational degrees of freedom to the energy of complex formation of aromatic ligands with DNA // *Biophysics.*—2009.—**54**, N 4.—P. 606–615.
18. *Reha D., Kabelac M., Ryjacek F., Sponer J., Sponer J. E., Elstner M., Suhai S., Hobza P.* Intercalators. 1. Nature of stacking interactions between intercalators (ethidium, daunomycin, ellipticine, and 4',6'-diaminide-2-phenylindole) and DNA base pairs. *Ab initio* quantum chemical, density functional theory, and empirical potential study // *J. Am. Chem. Soc.*—2002.—**124**, N 13.—P. 3366–3376.
19. *Butchosa C., Simon S., Voityuk A. A.* Electron transfer from aromatic amino acids to guanine and adenine radical cations in pi stacked and T-shaped complexes // *Org. Biomol. Chem.*—2010.—**8**, N 8.—P. 1870–1875.
20. *Baginski M., Fogolari F., Briggs J. M.* Electrostatic and non-electrostatic contributions to the binding free energies of anthracycline antibiotics to DNA // *J. Mol. Biol.*—1997.—**274**, N 2.—P. 253–267.
21. *Patel N., Bergman J., Graslund A.* <sup>1</sup>H-NMR studies of the interaction between a self-complementary deoxyoligonucleotide duplex and indolo[2,3-b]quinoxaline derivatives active against herpes virus // *Eur. J. Biochem.*—1991.—**197**, N 3.—P. 597–604.
22. *Muller W., Crothers D. M.* Studies of the binding of actinomycin and related compounds to DNA // *J. Mol. Biol.*—1968.—**35**, N 2.—P. 251–290.
23. *Kohn K. W., Waring M. J., Glaubiger D., Friedman C. A.* Intercalative binding of ellipticine to DNA // *Cancer Res.*—1975.—**35**, N 1.—P. 71–76.
24. *Saha I., Kumar G. S.* Spectroscopic characterization of the interaction of phenosafranine and safranin O with double stranded, heat denatured and single stranded calf thymus DNA // *J. Fluoresc.*—2011.—**21**, N 1.—P. 247–255.
25. *Ha J.-H., Spolar R. S., Record M. T. Jr.* Role of the hydrophobic effect in stability of site-specific protein-DNA complexes // *J. Mol. Biol.*—1989.—**209**, N 4.—P. 801–816.
26. *Kolar M., Kubar T., Hobza P.* Sequence-dependent configurational entropy change of DNA upon intercalation // *J. Phys. Chem. B.*—2010.—**114**, N 42.—P. 13446–13454.
27. *Baranovsky S. F., Bolotin P. A., Evstigneev M. P., Chernyshev D. N.* Complexation of heterocyclic ligands with DNA in aqueous solution // *J. Appl. Spectrosc.*—2008.—**75**, N 2.—P. 242–249.
28. *Dodin G., Schwaller M.-A., Aubard J., Paoletti C.* Binding of ellipticine base and ellipticinium cation to calf-thymus DNA. A thermodynamic and kinetic study // *Eur. J. Biochem.*—1988.—**176**, N 2.—P. 371–376.
29. *Dolenc J., Oostenbrink C., Koller J., van Gunsteren W. F.* Molecular dynamics simulations and free energy calculations of netropsin and distamycin binding to an AAAAAA DNA binding site // *Nucl. Acids Res.*—2005.—**33**, N 2.—P. 725–733.

UDC 577.113:577.32  
Received 28.02.11

Figure to article by V. V. Kostyukov

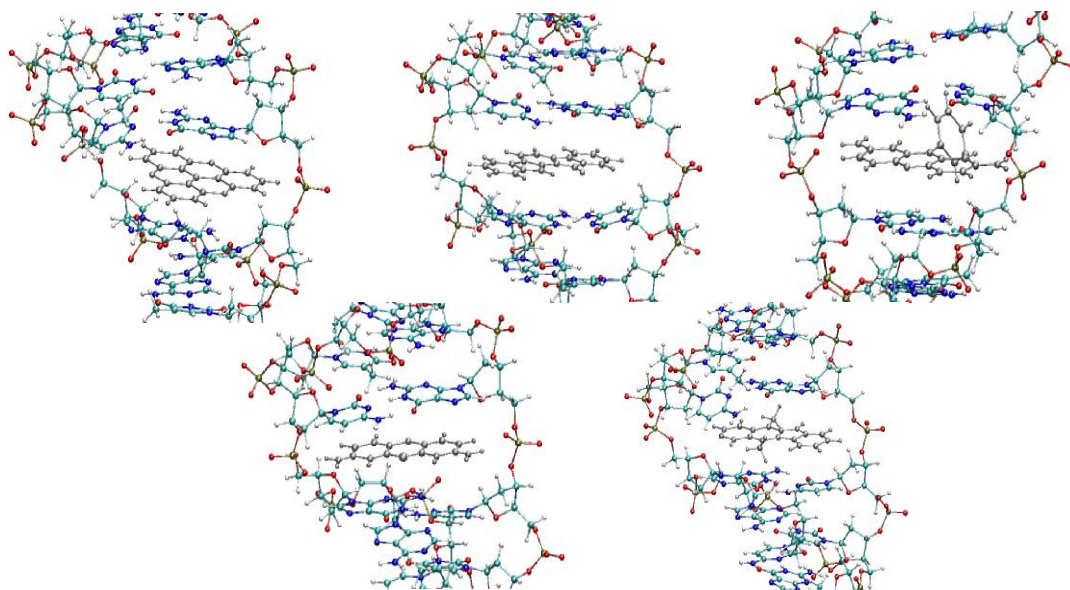


Рис. 2. Центральные участки расчетных структур комплексов гетероциклических лигандов с двуспиральной ДНК

Figures to article by O. V. Balynska et al.

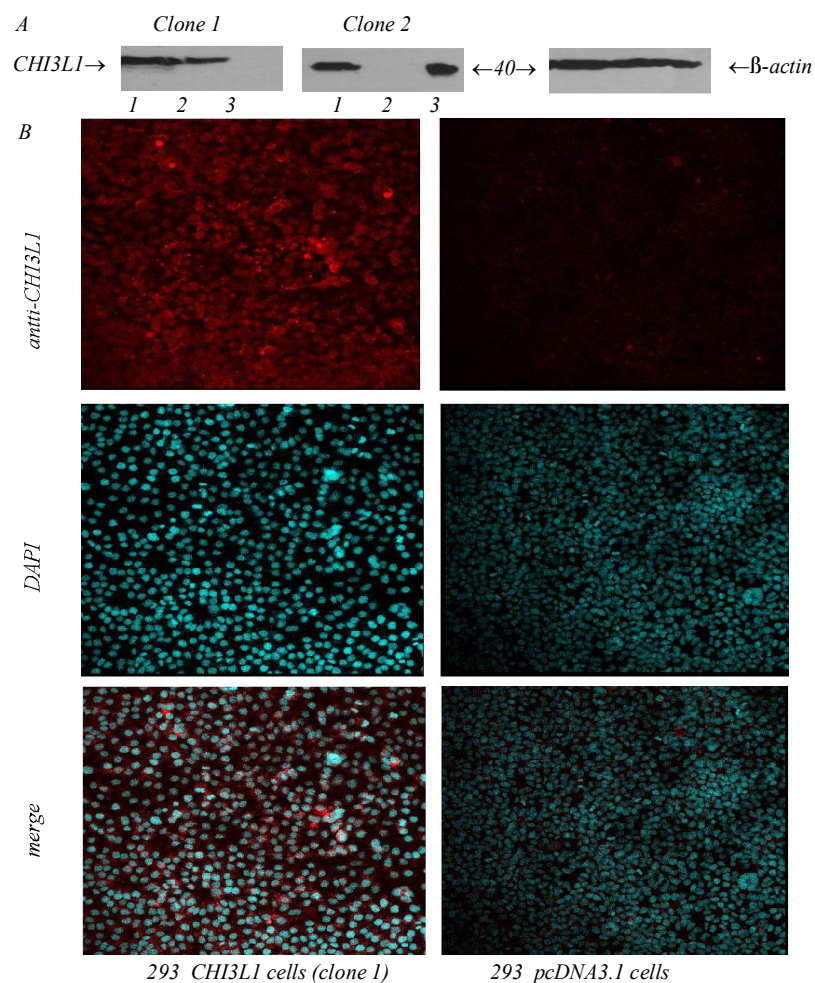


Fig. 2. *A* – Western blot analysis of CHI3L1 protein in 293\_CHI3L1 cells clone 1: 1 – 293 cells stably expressing CHI3L1; 2 – glioblastoma total lysate, prepared earlier; 3 – 293 cells, stably transfected with an «empty» vector clone 2: 1 – 293 cells stably expressing CHI3L1; 2 – 293 cells, stably transfected with an «empty» vector; 3 – glioblastoma total lysate, prepared earlier [27]; *B* – Immunofluorescent analysis of CHI3L1 in paraformaldehyde fixed 293 cells, stably expressing CHI3L1 (clone 1) and in 293\_pcDNA3.1 cells