

研究简报

DNA 与二脒 DB293 复合物的分子动力学模拟

马国正 张青山

(华南师范大学化学与环境学院 广州 510006)

摘要 采用分子动力学模拟了 DNA 小沟与芳香二脒化合物 DB293 结合形成的复合物, 通过 5ns 的模拟研究表明, DB293 分子可紧密结合在 DNA 的 AATT 小沟区域, 和双螺旋 d[CGCGAATTCGCG]₂ 形成稳定的复合物。DB293 中苯并咪唑环的氮原子 N2 能够与 DNA 胸腺嘧啶碱基 T7 的 O2 原子和 T19 的 O2 原子形成两个较强的氢键, 同时, 其末端氨基的 N3 原子和 T20 的 O2 原子形成一个较弱的氢键。这些结果在分子水平上提供了 DB293 直接与双螺旋 DNA 相互作用的结构及复合物的动态变化情况, 为设计出更高活性的芳香二脒类 DNA 小沟结合剂提供一定的理论依据。

关键词 DNA DB293 动力学模拟

DNA-DB293 Complex: Molecular Dynamics Simulations

Ma Guozheng, Zhang Qingshan

(School of Chemistry & Environment, South China Normal University, Guangzhou 510006)

Abstract Molecular dynamics(MD) simulations were used to investigate the interaction of DB293 with the DNA oligonucleotide d[CGCGAATTCGCG]₂. A 5 ns MD calculation was performed to study the DB293-DNA complex and the results indicate that DB293 was inserted in the minor groove of DNA, binding to the region of duplex AATT bases. The bifurcated pair of H-bonds was formed between nitrogen atom of the benzimidazole ring and oxygen atoms of the thymine 7 and thymine 19, and another H-bond was formed between nitrogen atom of the amidinium group and oxygen atoms of thymine 20. MD studies complement the structural analysis and provide a clear picture of the complex, providing the theoretical guidance for the design of biologically active minor groove agents.

Keywords DNA, DB293, Molecular dynamics

DNA 小沟是酶和蛋白质转录控制的主要靶标, 同时也是药物设计以及 DNA 序列选择识别的一个重要靶标^[1]。许多 DNA 的小沟结合剂, 诸如 berenil、戊双脒 (pentamidine)、呋喃二脒 (furamidine) 及其类似化合物都有明显的抗原生动物活性。其中, Pentamidine 已经在人类早期非洲锥虫病 (Human African Trypanosomiasis, HAT)、利什曼病以及和艾滋病相关的卡氏肺囊虫肺炎 (Pneumocystis carinii pneumonia, PCP) 的治疗中得到了重要的应用; Pafuramidine 作为 furamidine 的口服前药, 已经在抗疟疾病的治疗中进入临床二期实验, 在抗 HAT 和 PCP 疾病的治疗中进入临床三期实验。进一步研究发现, 许多芳香二脒化合物不仅具有抗原虫活性, 而且表现出杀虫及抗细菌、真菌、病毒和肿瘤的活性^[2-5]。Wilson 小组和 Boykin 小组一直致力于此类化合物的合成、作用机理和生物活性等方面的研究, 已经有许多较高活性的化合物被合成并测试, 还得到了一些芳香二脒化合物与 DNA 的复合物的晶体结构, 如 Furamidine 和 CGP 40125A 等, 但由于各种实验原因, 还有很多药物与 DNA 的晶体结构没有得到。其中, DB293 是一种重

马国正 男, 30 岁, 博士。从事药物分子设计与合成研究。*联系人 E-mail: gzma@scnu.edu.cn

广东省自然科学基金项目 (07300160) 资助

2008-10-17 收稿, 2009-01-08 接受

要的芳香二脒化合物, Tanious 等^[6,7]通过自旋顺磁共振(SPR)技术和 DNase I 足迹法等实验手段研究了 DB293 与几种特定序列 DNA 的 BIAcore (生物分子相互作用系统) 结合。

由于没有药物-DNA 复合物的晶体结构, 从分子水平上对 DB293 直接作用于 DNA 的认识受到了限制。为此, 笔者在前人实验的基础上, 模建了 DB293-DNA 复合物的结构, 并且用分子动力学 (MD) 模拟的方法动态考察了此复合物结构的变化, 对更加充分了解药物 DB293 与 DNA 小沟结合的识别作用以及对设计有更高结合力、高效杀菌的芳香二脒药物提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

DB293-DNA 复合物初始构型通过蛋白质晶体数据库 (Protein Data Bank) 编号为 1VZK 的晶体结构来搭建, 将 1VZK 复合物中 DB818 分子中的硫原子改为氧原子, 删除其它小分子, 得到 DB293-DNA 的初始构型。

1.2 方法

所有的 MD 模拟都采用 Amber 7 程序^[8]包中的 Sander 模块。采用 FF-02 力场来模拟 DNA 复合物和溶剂体系。模拟温度为 300K, 复合物体系用 Na^+ 中和至电中性, 质心周围包 0.8 nm 水分子, 水溶液采用显性 TIP3P 模型。SHAKE 算法用来限制所有含氢键的伸缩, 模拟步长为 2 fs, 非键对每 10 步更新 1 次, 非键相互作用截距为 0.9 nm。MD 模拟分为 3 步: 首先进行 2000 步最陡下降法来消除分子间的高能碰撞, 然后采用 $1.7 \times 10^{21} \text{ kJ}/(\text{mol} \cdot \text{m}^2)$ 的谐振力来限制 DNA 和药物分子, 进行 20 ps 的限制性 PME 动力学模拟, 最后进行 5 ns 的非限制性动力学模拟, 收集数据, 每隔 100 步记录 1 次轨迹文件。

小分子力场采用 HF/6-31G* 方法计算静电势, 用 Amber 自带的 RESP 电荷拟合程序计算 DB293 部分电荷, 不存在的范德华非键参数用 Antechamber 程序产生。对 DNA 螺旋采用 CURVES 程序^[9]进行结构分析。所有计算都是在 PC-CLUSTER 上完成的。

2 结果和讨论

2.1 复合物结构分析

复合物 MD 模拟的均方根偏差 (RMSD) 值是衡量体系是否稳定的重要依据, 图 1 为 DNA-DB293 复合物的 RMSD 随时间变化图。如图所示, 体系经过 200 ps MD 模拟后达到平衡状态, RMSD 值稳定在 0.25 nm 左右。此外, 在 200 ps 的 MD 模拟之后, 体系势能也趋向最小值而达到稳定, 从而为 DNA-DB293 复合物能够稳定存在提供有力证据。

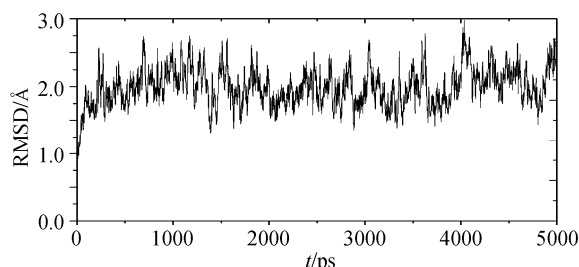


图 1 DNA-DB293 复合物的 RMSD 随时间变化图

Fig.1 Root-mean-square deviation of DNA-DB293 complex from the initial structures as a function of time

DNA 小沟的结构及动力学研究对于 DNA-蛋白以及 DNA-药物分子的识别有非常重要的作用。本文也考察了芳香二脒药物分子在 DNA 小沟域结合位点 AATT 碱基附近的小沟宽度变化^[10], 如图 2 所示。

由图可见, DNA-DB293 复合物的 AATT 碱基小沟宽度都有不同程度的变窄, 说明二胺化合物 B293 可紧密结合在 DNA 的 AATT 碱基小沟处。

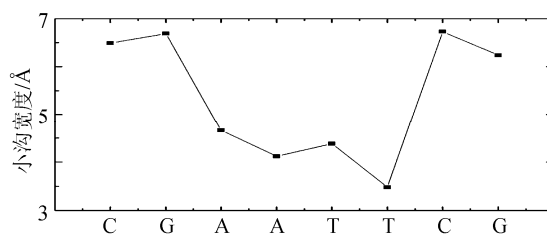


图 2 DNA-DB293 复合物 DNA 双螺旋小沟宽度示意图

Fig. 3 Minor groove width using curves for the time-averaged structures of the DB293-DNA complex

2.2 DB293 结合位点分析

由于复合物体系 MD 模拟在 200 ps 就达到稳定, 从而采用 1.0~5.0 ns 间包含 4000 个构象的轨迹文件来提取平均结构, 图 3(a)为 1.0~5.0 ns 的 MD 模拟后 DNA-DB293 复合物体系的平均结构示意图。如图所示, DNA 的碱基相对初始结构有一定程度的弯曲, DB293 药物分子结合在双螺旋 d[CGCGAATTCGCG]₂ 的小沟区域, 两者都有一定程度的扭曲和翻转, 使药物分子构型和 DNA 小沟域的形状相吻合, 呈月牙构型。

由图 3a 可以看出, 药物分子结合的主要部位位于 DNA 小沟区域的 AATT 碱基处, 除了分子之间的范德华作用力之外, 还有较强的氢键作用(图 3b), DB293 的苯并咪唑环的氮原子 N2 能够与 DNA 胸腺嘧啶碱基 T7 的 O2 原子和 T19 的 O2 原子形成两个较强的氢键, 同时, 其末端氨基的 N3 原子和 T20 的 O2 原子形成一个较弱的氢键。同时, 我们也动态地监测了其氢键距离的变化, 如图 4 所示。由图 4 可以看出, DNA 的 19 位胸腺嘧啶的氧原子 O2 和 DB293 的氮原子 N2 之间的距离在 0.26~0.30 nm 之间, 平均距离 0.283 nm, DNA 7 位胸腺嘧啶的氧原子 O2 和 DB293 的氮原子 N2 之间的距离在 0.27~0.31 nm 之间, 平均距离 0.287 nm, 而 20 位胸腺嘧啶的氧原子 O2 和 DB293 的 N3 原子之间的距离在 0.28~0.32 nm 之间, 平均距离为 0.296 nm。从而 DB293 的苯并咪唑环的一个氮原子和 7 位以及 19 位 T 碱基的 2 个氧原子同时形成了 2 个稳定的氢键, DB293 末端氨基的氮原子和 DNA 的 20 位 T 碱基的氧原子也形成 1 个稳定的氢键。

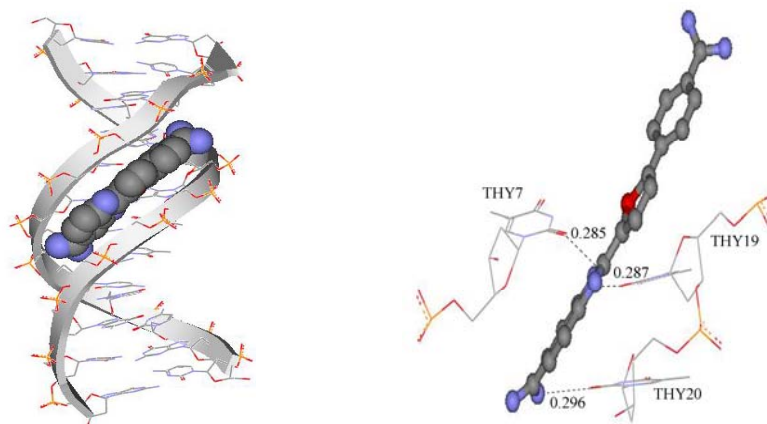


图 3 (a) DNA-DB293 复合物的平均结构和(b)DB293 的结合位点示意图

Fig. 3 (a) The 1.0-5.0 ns time-averaged structure of DNA-DB293 complex and (b) drug binding to the AATT region of d[CGCGAATTCGCG]₂

氢键用点线示出

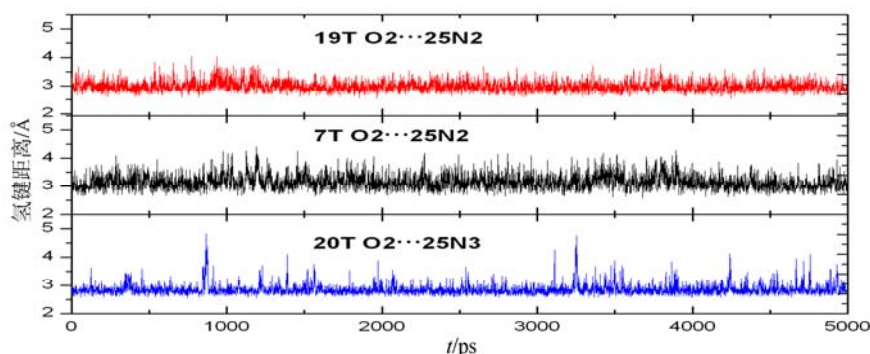


图 4 DB293 和 DNA 碱基形成氢键的距离随时间变化图

Fig. 4 H-bond distances between DB293 and DNA bases as a function of time

2.3 DB293-DNA 复合物与其它二脒-DNA 复合物的结构对比及活性分析

国外一些研究小组合成了许多较高活性的二脒化合物，还得到了一些化合物与 DNA 的复合物，如呋喃二脒、CGP 40125A、DB818 等，的晶体结构。现已证明，典型的芳香二脒类化合物大都结合在富 AT 碱基 DNA 的小沟区域，小分子与 DNA 的小沟域构象相吻合，呈月牙构型，通过氢键、范德华力和疏水作用等结合^[11]。与这些有晶体结构的化合物相比，DB293 与 DNA 的结合有 3 个稳定的氢键，DNA 的 AATT 碱基小沟宽度变窄，DB293 与 DNA 的 AATT 碱基有较强的作用力，DB293 分子呈月牙构型与 DNA 小沟结合。

二脒化合物与其靶标 DNA 的结合能大小可以衡量其活性的高低。笔者采用 MD 模拟与结合自由能计算的方法估算了 4 种芳香二脒分子与 DNA 相互作用的结合自由能，结果表明 DB293 与典型二脒化合物 DB75、DB351 与 DNA 的结合能大小相当，而特异性的 DB818 分子与 DNA 的结合能较大。这说明 DB293 是一种典型的芳香二脒化合物，由于没有晶体结构，采用 MD 模拟的方法在分子水平上提供 DB293-DNA 复合物的结构特征及动态变化，对研究有较高生物活性的非特异性芳香二脒分子有积极意义。

3 结论

通过对 DB293 与 DNA 复合物的 MD 模拟研究表明，DB293 紧密结合在 DNA 的 AATT 碱基处，呈月牙构型与 DNA 小沟相结合。DB293 分子中苯并咪唑环的氮原子 N2 和 DNA 胸腺嘧啶（7 位，19 位）的氧原子 O2 形成了 2 个较强的氢键，同时，其末端氨基的 N3 原子和 T20 的 O2 原子形成 1 个较弱的氢键。氢键作用的存在，对复合物的稳定起了至关重要的作用。

参考文献

- [1] P B Dervan, B S Edelson. *Curr. Opin. Struct. Bio.*, 2003, 13: 284~299.
- [2] W D Wilson. *Science*, 2002, 295: 2103~2105.
- [3] A H Fairlamb. *Trends Parasitol.*, 2003, 19: 488~494.
- [4] W C Stanley. *Fundam Clin Pharmacol.*, 2003, 17(2): 133~145.
- [5] S Vartivarian, E Anaissie, G Bodey et al. *Antimicrob Agents Chemother*, 1994, 38(3): 624~627.
- [6] F Taniou, W D Wilson, L Wang et al. *Biochemistry*, 2003, 42: 13576~13586.
- [7] F Taniou, D Hamelberg, C Bailly et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2004: 126, 143~153.
- [8] D A Case, D A Pearlman, J W Caldwell et al. *AMBER 7*, 2002, University of California, San Francisco.
- [9] R Lavery, H Sklenar. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 1989, 6(4): 669~699.
- [10] S A Harris, E Gavathiotis, M S Searle et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, 123: 12658~12663.
- [11] W D Wilson, B Nguyen, F A Taniou et al. *Curr. Med. Chem.: Anti-Cancer Agents*, 2005, 5: 389~408.