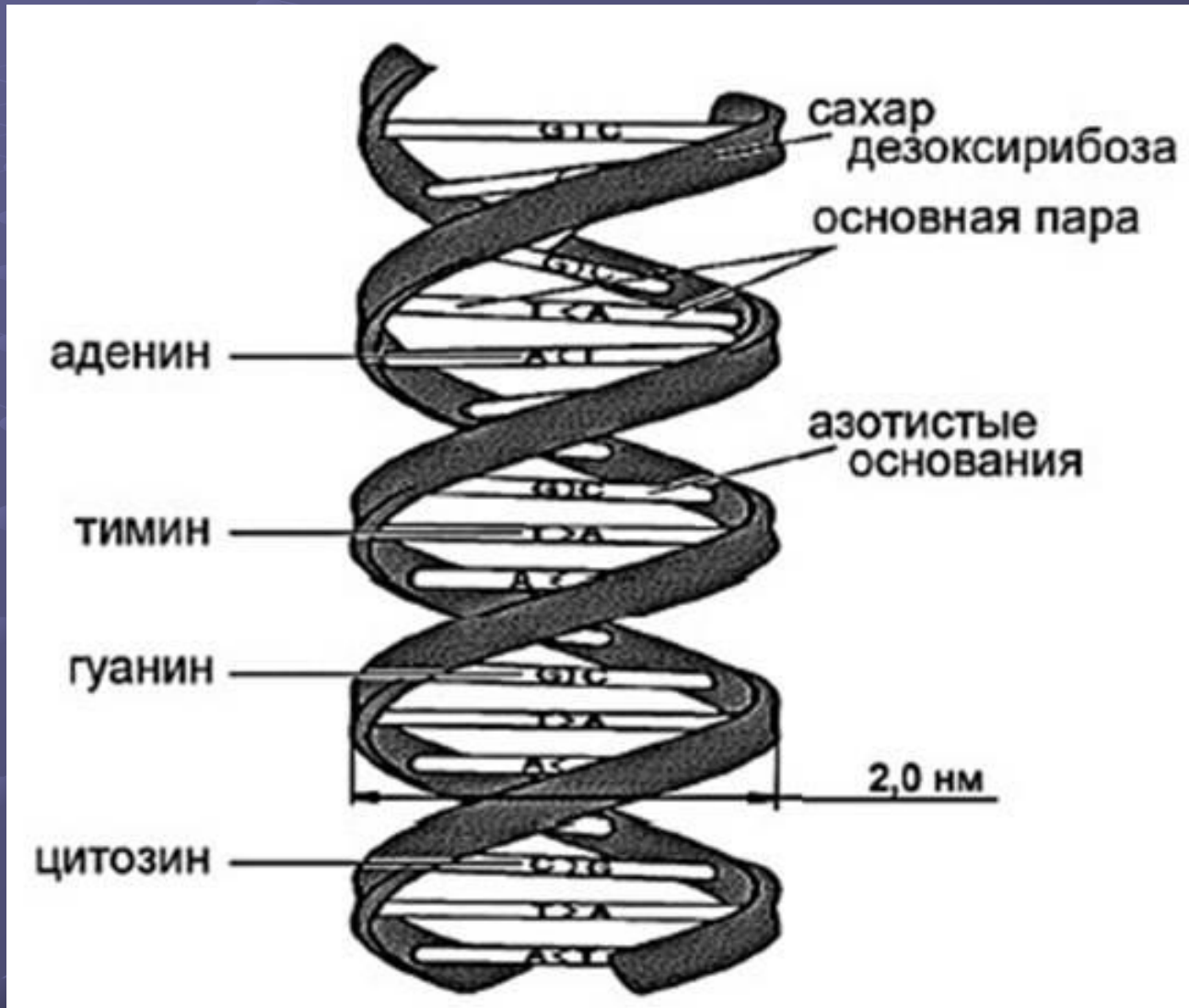


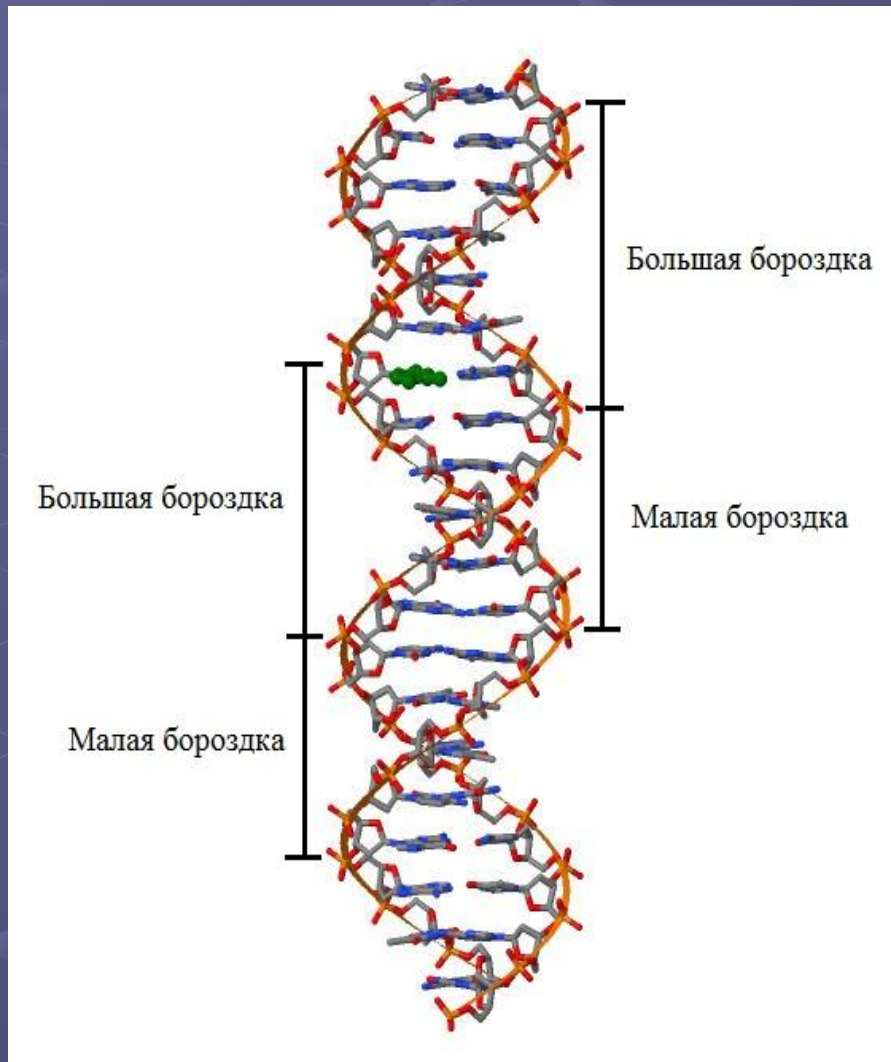
Связывание лекарственных средств с нуклеиновыми кислотами: внешнее связывание с фосфатными группами ДНК, связывание в большой и малой бороздках, интеркаляция. Роль электростатических и дисперсионных взаимодействий.

Авторы работы: Мамонова Ю.А.
Шардуба Д.В.
203 группа
Руководитель: Лысенко Ю.А.

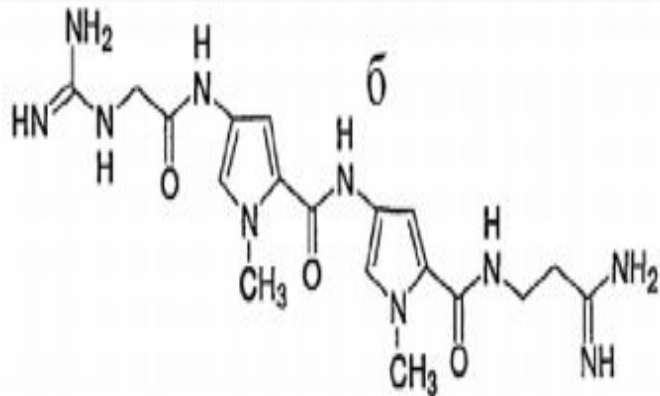
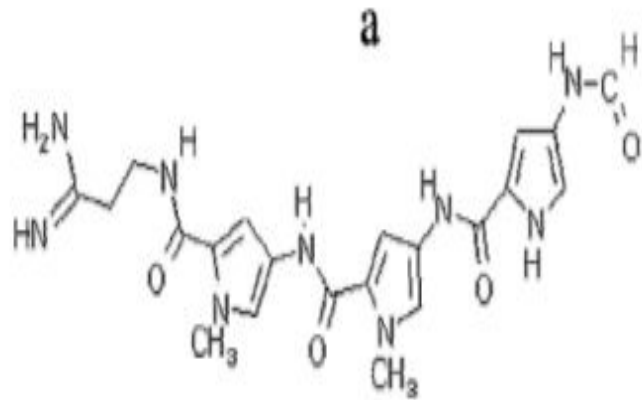
Фрагмент молекулы ДНК



Бороздки ДНК



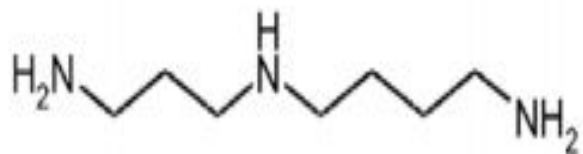
- Большая и малая бороздки двойной спирали образуют места связывания для многих соединений, которые не являются интеркаляторами. Несмотря на то, что большая бороздка содержит больше возможностей для таких взаимодействий, почти все низкомолекулярные соединения, образующие с ДНК комплексы неинтеркаляционного типа, локализуются в малой бороздке.



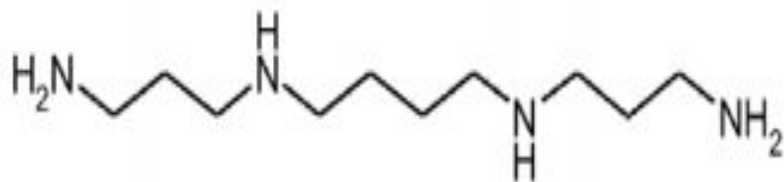
- Структура дистамицина А (а) и нетропсина (б). Эти два антибиотика являются природными олигопептидами и связываются в малой бороздке с участками, богатыми АТ парами оснований.

Внешнее связывание

- В отличие от интеркаляционного и бороздочного связывания, внешнее связывание носит преимущественно энтропийный характер. Это объясняется тем, что при образовании комплекса с положительно заряженным лигандом, происходит высвобождение с поверхности ДНК ранее связанных с ней молекул противоионов.

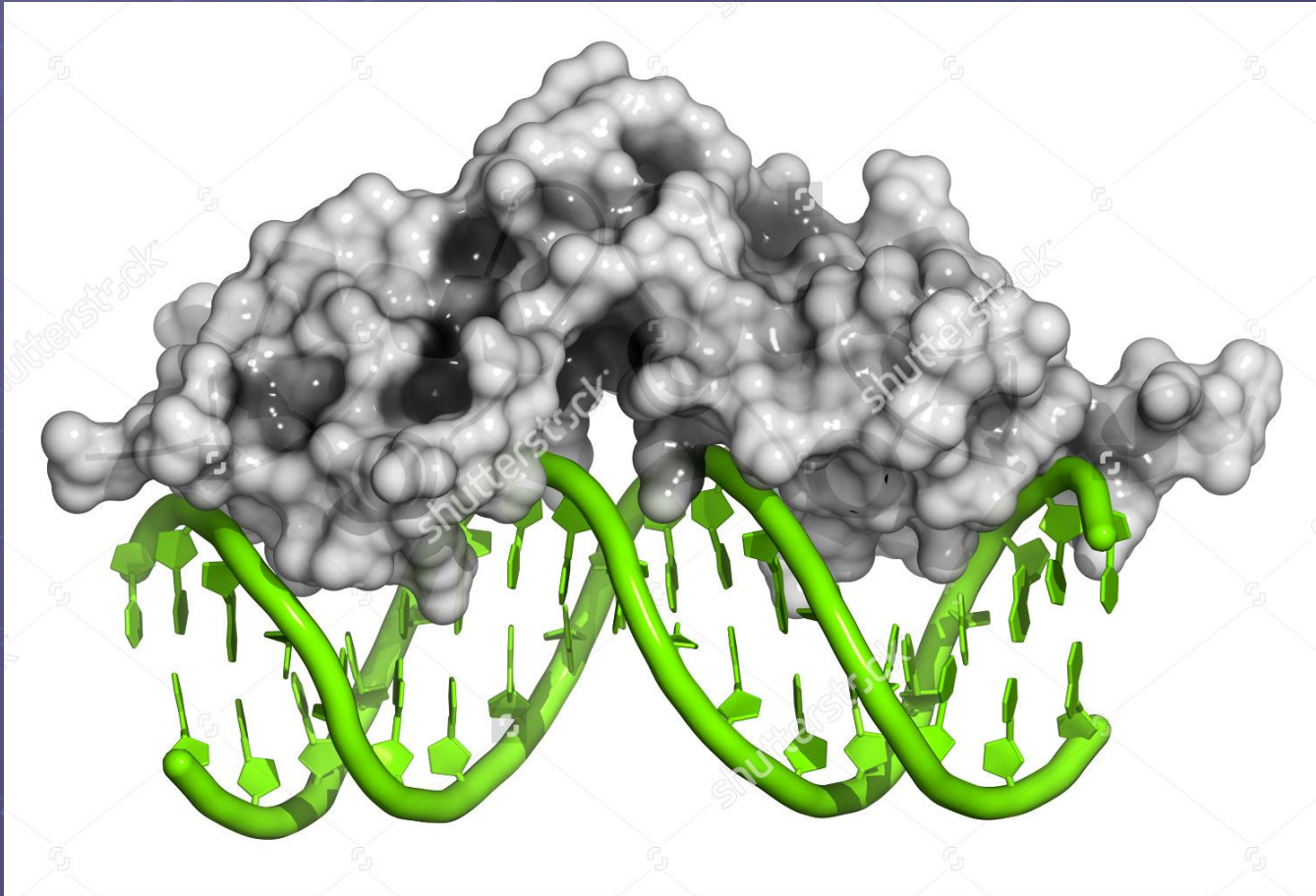


б



Структура спермидина (а), спермина (б).

Агрегат на поврхности ДНК



shutterstock

IMAGE ID: 254632420
www.shutterstock.com

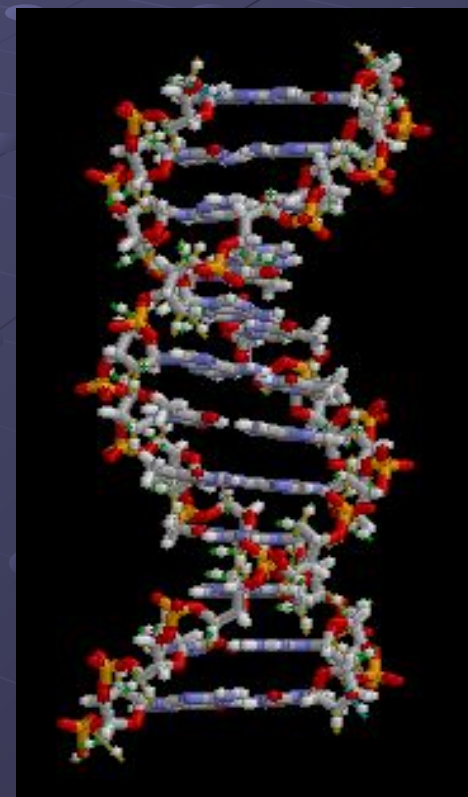
Представление ДНК

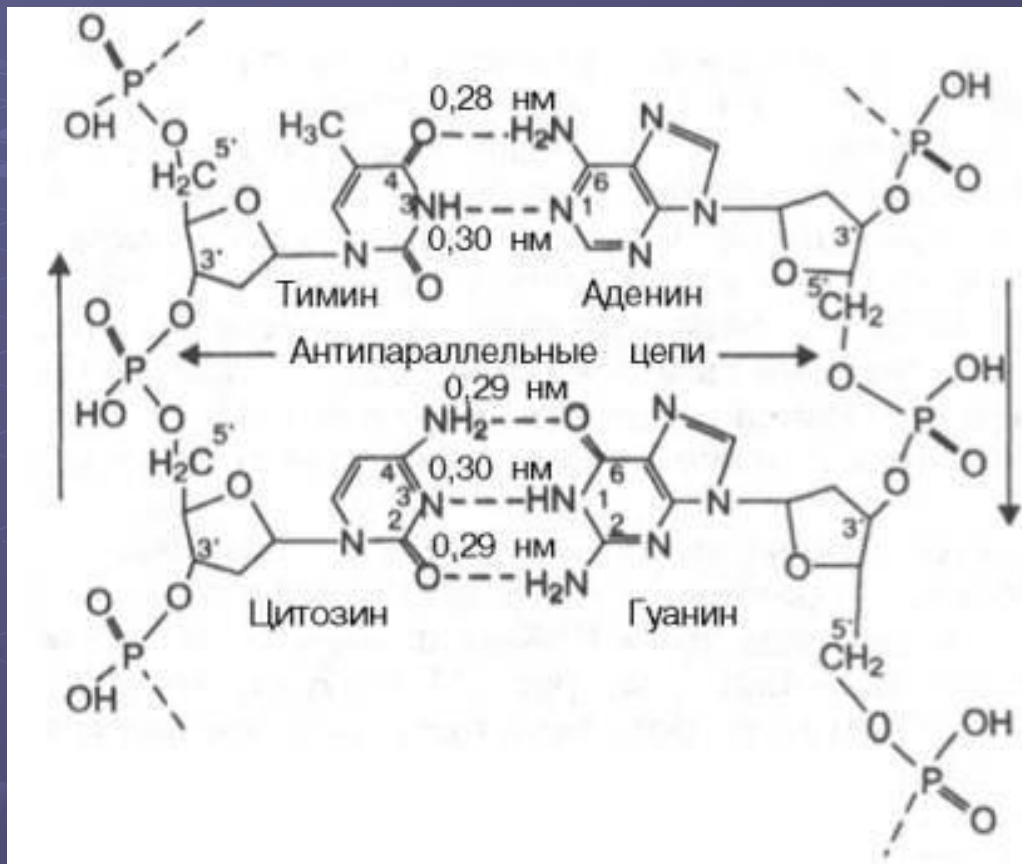
- *Дезоксирибонуклеи́новая кислота́ (ДНК)* — макромолекула, обеспечивающая хранение, передачу из поколения в поколение и реализацию генетической программы развития и функционирования живых организмов.

ДНК может изменяться при варьировании различных факторов:

- повышении температуры,
- изменении состава растворителя,
- ионных условий,
- кислотности,
- при введении какой-либо молекулы.

В образовании биологически активной структуры нуклеиновых кислот принимают участия БАВ (биологически активные вещества). Некоторые обладают мутагенным, канцерогенным действием.





Представление двуспиральной молекулы ДНК

БАВ

```
graph TD; A(БАВ) --> B(природные); A --> C(синтетические);
```

природные

(ферменты, гормоны)

синтетические

(антибиотики, витамины)

Способы связывания БАВ с ДНК:

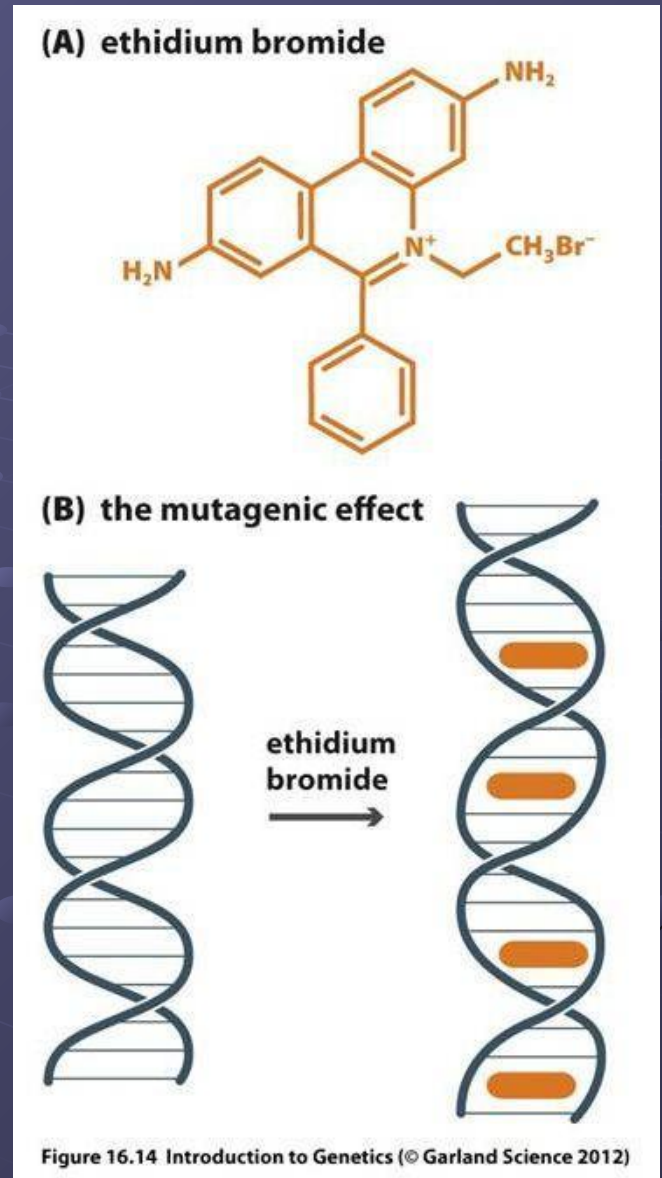
- интеркаляция,
- бороздочное связывание,
- электростатические взаимодействия с фосфатными группами на поверхности двойной спирали.

Интеркаляция

Интеркаляция - встраивание мономеров красителя между парами азотистых основания ДНК.

Интеркалирующие агенты, интеркаляты— молекулы, способные встраиваться (интеркалировать) между двумя комплементарными парами оснований в двуспиральной ДНК или РНК.

В молекулярной биологии интеркалирующие агенты, бромистый этидий, используются для флуоресцентной маркировки ДНК.



Молекула бромистого этидия интеркалирует между адениновыми основаниями ДНК дуплекса

По типу связывания органических молекул (красителей, антибиотиков, противоопухолевых лекарств) с ДНК выделяют 2 класса:

1. вещества с цепной структурой молекул, которые при связывании с ДНК укладываются в бороздки на ее поверхности, взаимодействуя с фосфатными группами и атомами оснований, находящимися в бороздках (декаметоксин и этоний, противовирусные и противораковые средства - дистамицин, нетропсин).

Механизм действия этих веществ: обусловлен укреплением структуры ДНК при связывании и ингибированием деятельности ферментов, обеспечивающих функционирование генетического аппарата микробных или раковых клеток.

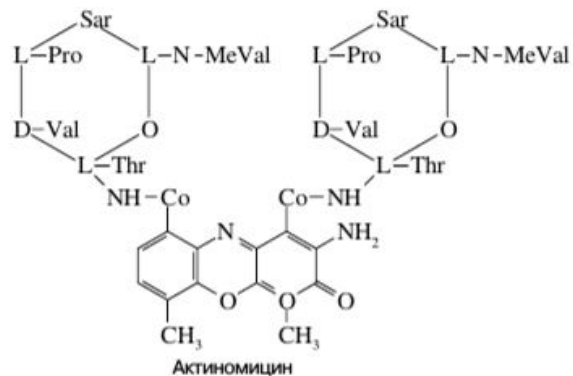
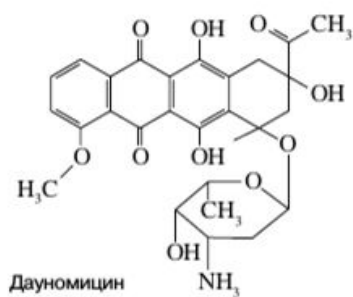
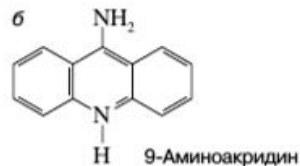
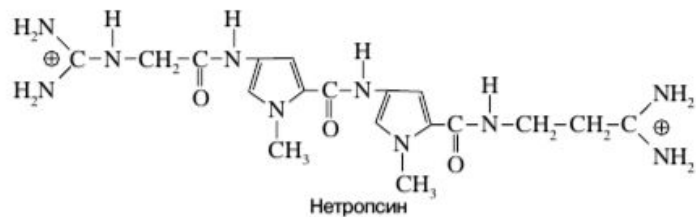
2.

вещества, имеющие плоскую гетероциклическую структуру молекул, благодаря которым они могут встраиваться между плоскостями оснований ДНК (интеркалировать), раздвигая их и изменяя локальную структуру ДНК (бромистый этидий, акридиновые красители, используемые в онкологии антрациклиновые антибиотики (дауномицин, адриамицин, карминомицин).

Механизм действия этих веществ: интеркалируют (внедряются, встраиваются) между основаниями ДНК, в результате препятствуют связыванию РНК-полимеразы с ДНК, что приводит к подавлению синтеза РНК.

Дауномицин, обладая противоопухолевым действием, используется в химиотерапии рака.





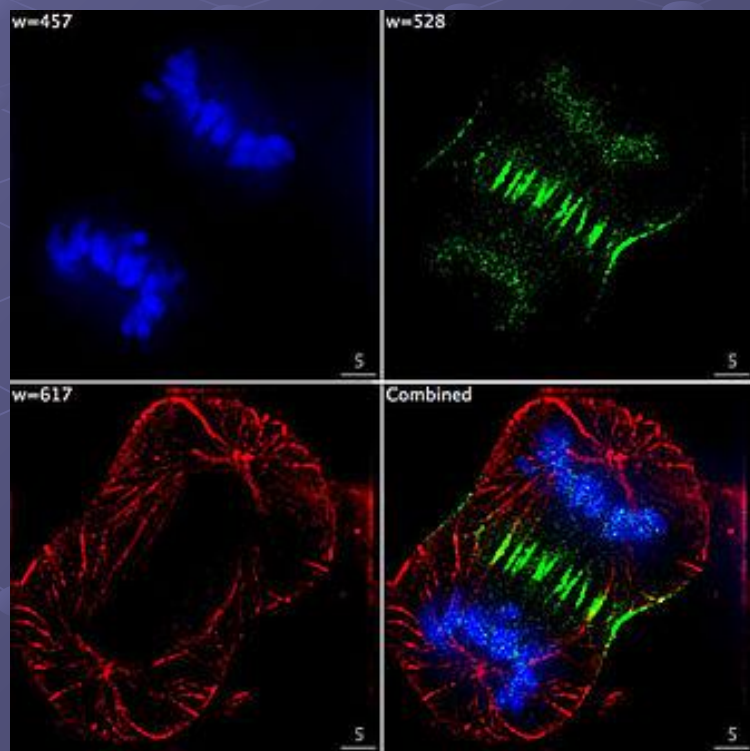
Химическая структура молекул, взаимодействующих с ДНК с помощью внешнего присоединения (а) и молекул-интеркалятов (красителей, антибиотиков) (б)

Оптические свойства интеркалятов

Интеркаляты являются хорошими люминофорами
(преобразовывают энергию в световое излучение).

Интенсивность свечения может возрасти или убывать в
зависимости от состава ДНК и структуры комплекса.

Поэтому эти соединения можно использовать для флуоресцентного
окрашивания препаратов ДНК и изучения ДНК *in vivo*.



Деление раковой клетки. Изображение
получено с
использованием сканирующего
флуоресцентного микроскопа.

Биологическая и терапевтическая активность этих веществ определяется изменениями в структуре ДНК, происходящими при связывании.

Токсические побочные действия от активных веществ, встраиваемых в ДНК (тошнота, облысение, анемия, инфекции, нарушение свертываемости крови, нарушение функций нервной и мышечной систем и т.д.). Для снижения токсичности противоопухолевых средств используется их модификация, направленная на создание избирательности связывания этих веществ с участками чужеродных ДНК (или РНК). К таким препаратам относят мексидол.



Олигонуклеотиды (короткие фрагменты ДНК или РНК, получаемые либо путём химического синтеза, либо расщеплением более длинных полинуклеотидов), представляющие собой одноцепочечные фрагменты ДНК (или РНК) с последовательностью, комплементарной участкам узнавания ДНК. Комплементарный данному участку олигонуклеотид с интеркалятором будет избирательно связываться с ДНК. При этом присоединенная молекула лекарственного вещества будет взаимодействовать именно с необходимым участком молекулы.

Наблюдается высокая избирательность связывания этих веществ с нарушением структуры ДНК патогенных клеток и прекращением их размножения. Это помогает уменьшить дозы используемых лекарств и их токсичность.

Электростатические взаимодействия

- Электростатические взаимодействия - это взаимодействия между неподвижными точечными электрическими зарядами; относятся к межмолекулярным взаимодействиям.

БАВ находятся при н.у. в водном растворе в катионной форме, а молекулы ДНК и других НК с отрицательными зарядами. Это обуславливает сильное электростатическое (кулоновское) взаимодействие между ними.

Энергия взаимодействия описывается уравнением:

$$U(r) = \frac{q_1 q_2}{4\pi \epsilon r}, \text{ где}$$

ϵ – диэлектрическая проницаемость среды, q_1 и q_2 – заряды, r – расстояние, π – число Пи(3,14)

- Короткодействующие силы Ван-дер-Ваальса

Они возникают на близком расстоянии между двумя атомами, входящих в лекарственные вещества. Относятся к межмолекулярным.

Являются стабилизаторами ионной связи, делая ее прочной.

Основой первичного взаимодействия между лекарственным веществом и нуклеиновыми кислотами является процесс, сопровождающийся образованием данных сил. Лекарственное вещество притягивается рецептором, затем происходит ориентация его молекулы и фиксация на рецепторном поле.

Описываются уравнением: $U(r) = -cr^{-6} + dr^{-12}$,

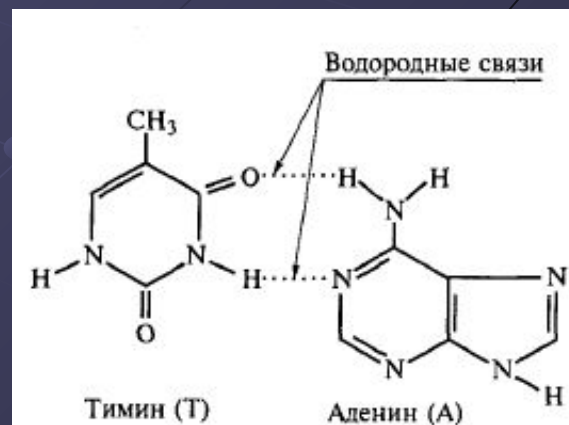
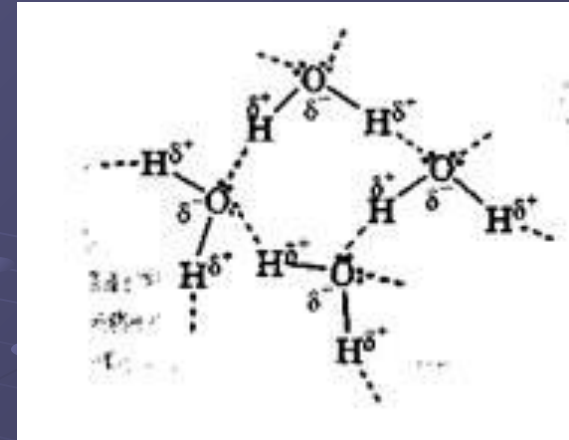
где c и d - константы, определяемые на основании опытных данных, r - расстояние между частицами, U - энергия.

- Водородные связи

Общий вид: $R_1 \sim A-H \dots B \sim R_2$, где где А и В обозначают атомы доноров и акцепторов водородной связи, H-водород.

Играют важную роль во взаимодействии с рецепторами; слабые связи.

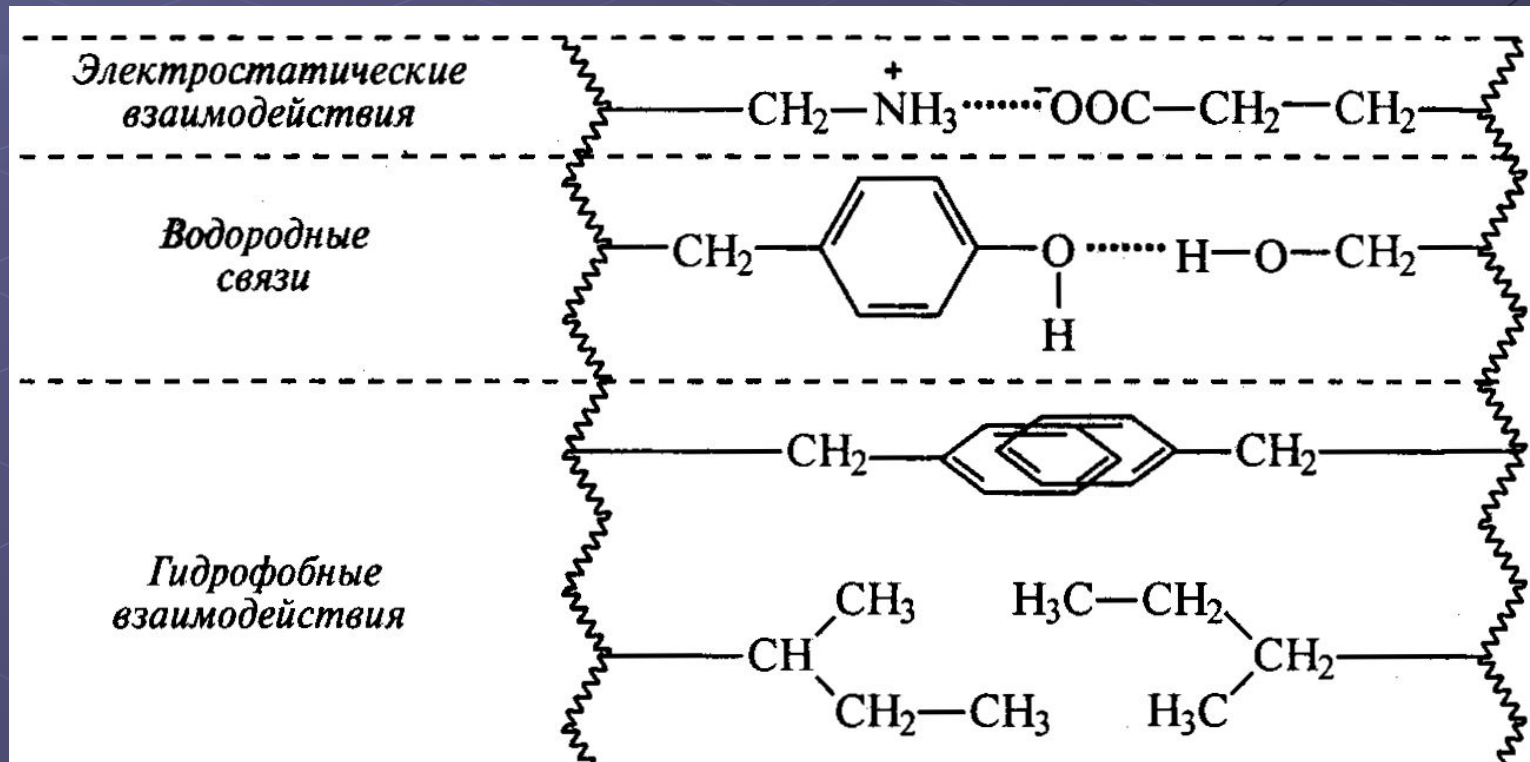
Особенностью водородной связи является ее направленность. Минимум ее потенциала находится при расположении атомов А, Н и В на одной прямой, что обеспечивает возможность создания сильно упорядоченных биологических структур, таких, как двойная спираль ДНК, α -спираль и β -структуры в белках, упорядоченные третичные структуры НК и белков.



- Гидрофобное взаимодействие

Гидрофобное взаимодействие проявляется: при образовании стопочных структур оснований НК, формировании глобулярного строения белков, при образовании надмолекулярных структур (например, хроматина) и комплексов биомолекул с БАВ.

Гидрофобное взаимодействие ослабевает или разрывается в присутствии различных органических растворителей.



Дисперсионные взаимодействия

- Дисперсионное взаимодействие — это один из типов межмолекулярного взаимодействия между двумя любыми молекулами, независимо от наличия у них собственного дипольного момента. В чистом виде проявляется при взаимодействии неполярных молекул; самая слабая связь.

Эти силы представляют собой один из типов ван-дер-ваальсовых сил.

Энергия такого взаимодействия (энергия Лондона) дается

соотношением: $E_{\text{л}} = -\frac{2}{3} \frac{\mu_{\text{мгн}}^2}{r^6}$, где $\mu_{\text{мгн}}$ - момент мгновенного диполя.

Эти взаимодействия вносят вклад в энергию связи ионов в молекулах и в ионных кристаллах. Дисперсионные взаимодействия обычно тем сильнее, чем больше размеры атомов и молекул. Это способствует появлению более сильных мгновенных диполей.

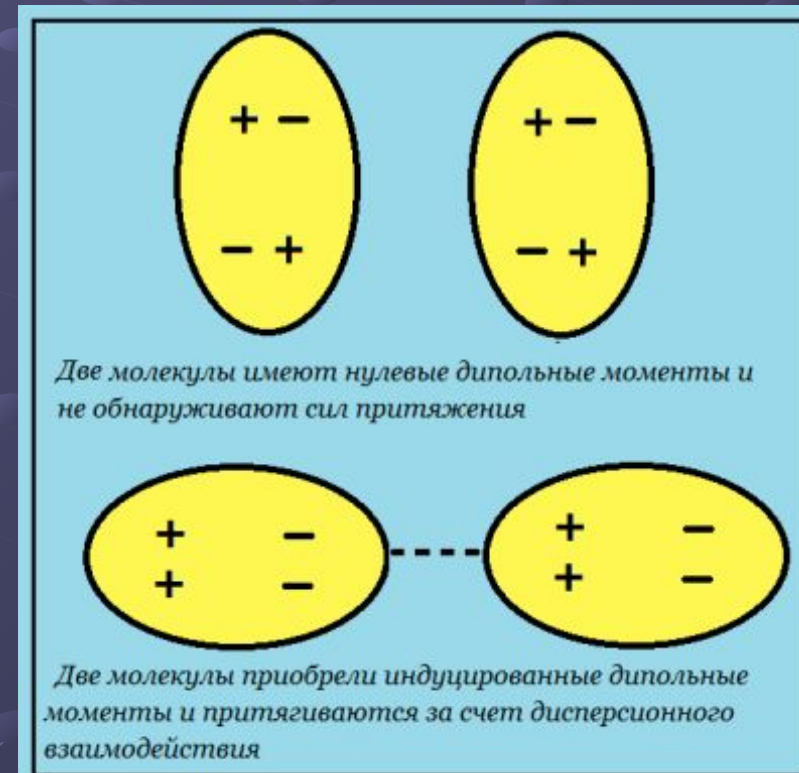
Отличительной чертой этих сил является универсальность.

Роль дисперсионных взаимодействий в связывании лекарственных веществ заключается во взаимодействии

НК с металлами, содержащимися в лекарственном веществе в растворе.

Ионы металлов - активные вещества, влияющие на структуру и функции

нуклеиновых кислот.



Ионы некоторых металлов являются сильными мутагенами и канцерогенами. Образование злокачественных опухолей сопровождается увеличением содержания металлов не только в белках, но и в ДНК раковых клеток.

Таблица 2. Содержание некоторых микроэлементов в препаратах ДНК, выделенных из спонтанных опухолей молочной железы пациентов (в мкг/г)

Элемент	Источник получения ДНК	
	доброкачественные опухоли (фиброаденомы)	злокачественные опухоли
Fe	28 ± 13	72 ± 17
Zn	$0,77 \pm 0,076$	$5,0 \pm 1,5$
Cr	$0,41 \pm 0,08$	$1,5 \pm 0,3$
Sb	$1,7 \pm 0,67$	$2,5 \pm 1,2$
Ag	$0,65 \pm 0,38$	$0,54 \pm 0,09$
Hg	$0,11 \pm 0,025$	$0,28 \pm 0,06$
Co	$0,048 \pm 0,029$	$0,059 \pm 0,014$

Связывание ионов металлов с различными центрами на ДНК

специфично и зависит от природы иона. Ионы щелочных и щелочноземельных металлов взаимодействуют с фосфатными группами ДНК, а ионы переходных металлов активно связываются с основаниями.

Возможно также связывание «через воду».

Взаимодействие ионов металлов с фосфатными группами ДНК обуславливает антикооперативность связывания за счет сильного кулоновского отталкивания связанных ионов и дисперсионных сил.

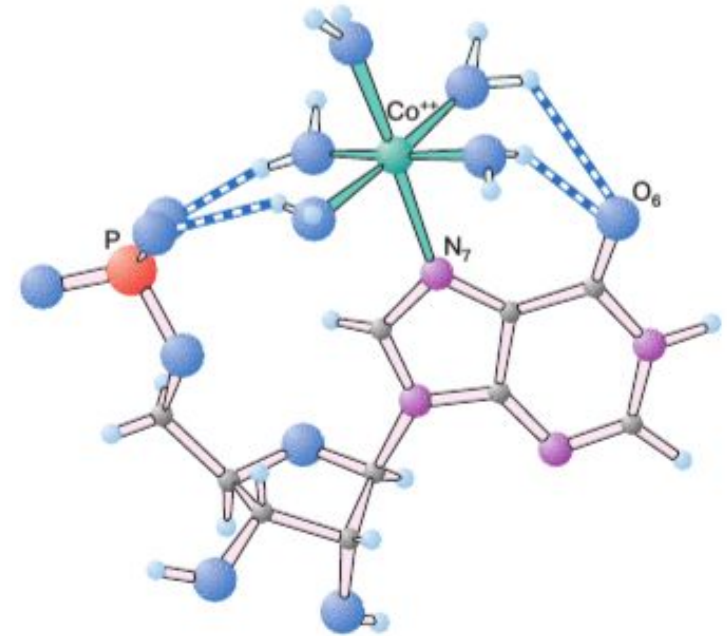


Рис. 2. Связывание Co(II) с инозин-5'-фосфатами и водой. Непосредственное связывание Co(II) с атомом азота N₇ и через молекулы воды с фосфатной группой и атомом O₆

