

[Note]

www.whxb.pku.edu.cn

## DNA 小沟结合二脒: 水分子的识别作用

马国正\* 求亚芳 南俊民 肖信

(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 DB921-DNA 复合物, 通过 7 ns 的模拟研究表明: DB921 一端的氨基氮原子与一个水分子形成氢键, 同时, 水分子又与 DNA 的 5 位 A 碱基的氮原子形成一个氢键. 水分子在 DB921 与 DNA 小沟结合中起了桥连的作用, 使得直线型的芳香二脒化合物 DB921 通过水桥与 DNA 小沟结合, 水分子诱导 DB921 分子与 DNA 的小沟域构型相适应, 与 DNA 小沟域的 AATTC 碱基有较强的结合作用. 在分子水平上提供了 DB921 与双螺旋 DNA 相互作用的结构及复合物的动态变化情况, 指出水分子在 DNA 小沟结合二脒化合物中的识别作用, 为设计出更高生物活性的 DNA 小沟结合剂提供一定的理论依据.

**关键词:** 小沟结合; 二脒; 水分子; 分子识别

**中图分类号:** O641

## DNA Minor Groove Binding by Diamidine: Water Molecule in Ligand Recognition

MA Guo-Zheng\* QIU Ya-Fang NAN Jun-Min XIAO Xin

(School of Chemistry &amp; Environment, South China Normal University, Guangzhou 510006, P. R. China)

**Abstract:** Molecular dynamics simulations were used to investigate the interaction of DB921 with the DNA oligonucleotide d[CGCGAATTCGCG]<sub>2</sub>. A 7 ns MD calculation was performed to study the DB921-DNA complex and the results indicated that DB921 was inserted in the minor groove of DNA, binding to the region of duplex AATTC bases. A water molecule forms bifurcated pair of H-bonds between the N atom of benzimidazole ring and N3 atom of the adenine 5 in the DB921-DNA complex. This water molecule performs a key bridging role which induces a more favorable curvature configuration and matches well the DNA minor groove topology. Molecular dynamics studies complemented the structural analysis and offered a clear picture of the water-bridge, providing the theoretical guidance for the design of biologically active minor groove agents.

**Key Words:** Minor grove binding; Diamidine; Water molecule; Molecular recognition

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 序列选择识别的重要靶标<sup>[1]</sup>. 许多 DNA 小沟结合剂, 诸如贝尼尔(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活性<sup>[2-4]</sup>. 其中, 戊双脒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)中得到了重要的应用<sup>[5]</sup>. Pafuramidine 作为呋喃二脒的口服前药, 已经在抗疟疾病的应用中进入临床二期实验, 在抗 HAT 和 PCP 疾病的应用中已经进入临床三期实验<sup>[6-8]</sup>. 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<sup>[9,10]</sup>. 近年来, 对

Received: June 9, 2008; Revised: July 10, 2008; Published on Web: August 25, 2008.

\*Corresponding author. Email: gzma@scnu.edu.cn; Tel: +8620-39310255.

广东省自然科学基金(07300160)资助项目

于新型二脒化合物的设计、抗菌作用机理的研究以及发现新的活性物质和新的抗菌疗效,是国外的研究热点,而国内有关这方面的研究报道还很少<sup>[11-15]</sup>. 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<sup>[16-18]</sup>,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 的复合物晶体结构,如咪喃二脒和 CGP 40125A 等. 现已证明<sup>[19]</sup>,芳香二脒类化合物大都结合在富 AT 碱基 DNA 的小沟区域,通过氢键、范德华力和疏水作用等结合,大多与 DNA 小沟有较强结合的二脒化合物,其构型都与 DNA 小沟的构型相符,也就是具有月牙形构型. 也有一些例外的情况, Miao 等<sup>[20]</sup>研究了两个同分异构体苯并咪唑-二苯基二脒化合物 DB911 和 DB921 与富 AT 碱基 DNA 的小沟结合情况,间位二苯基的 DB911 具有月牙构型,而对位二苯基的 DB921 则为直线型分子,通过量热、光谱和 X-射线晶体结晶研究表明,直线型的 DB921 分子比月牙型的 DB911 分子有着更强的结合力, DB921 通过与水分子的相互作用诱导自适应 DNA 的小沟构型,从而对 DNA 的小沟碱基有较强结合作用.

为了更好地理解这种诱导自适应构型的转变,从分子水平探讨此种相互作用的本质,我们对 DB921-DNA 复合物进行了分子动力学模拟的研究,以期能阐明此种作用力产生的微观机理,并对设计具有更高结合力、高效杀菌的芳香二脒化合物提供一定的理论依据.

## 1 模型和计算

### 1.1 模型及力场参数

芳香二脒化合物 DB75 是一种人工合成的杀虫剂,与 AT 碱基 DNA 小沟有良好的结合作用,具有典型的月牙构型, DB921 是一种直线型的芳香二脒化合物,结构如图 1 所示. DB921-DNA 复合物的初始构型取自蛋白质晶体数据库(protein data bank),编号 2BOK,在初始构型中,我们保留 DB921 和 DNA 的相对位置,删除多余的离子和水分子,然后采用 AMBER7 程序<sup>[21]</sup>进行动力学模拟. 复合物初始构型由程序 DS Modeling1.1(Accelrys, San Diego, CA, USA)构建, DNA 螺旋采用 CURVES 程序<sup>[22]</sup>进行结构分析,所有计算都是在 PC-CLUSTER 上完成的.

小分子力场采用 HF/6-31G\* 方法计算静电势,用 AMBER7 自带的 restrained electrostatic potential

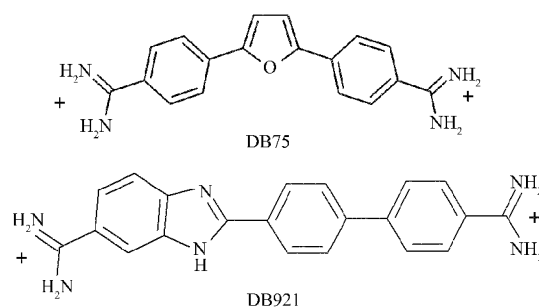


图 1 芳香二脒化合物 DB75 和 DB921 的结构示意图  
Fig.1 Structures of DB75 and DB921

(RESP)电荷拟合程序计算 DB921 部分电荷,不存在的范德华非键参数用 antechamber 程序产生.

### 1.2 分子动力学

所有的分子动力学模拟都采用 AMBER7 程序包中的 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 300 K,复合物体系用 Na<sup>+</sup>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<sup>[23]</sup>用来限制所有含氢键的伸缩,模拟步长为 2 fs,非键对每 10 步更新一次,非键相互作用截距为 0.9 nm. 分子动力学模拟分为三步: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  $1.7 \times 10^{21} \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$  的谐振力来限制 DNA 和小分子,进行 20 ps 的限制性 patical mesh ewald(PME)动力学模拟,最后进行 7 ns 的非限制性动力学模拟进行数据收集,每隔 500 步记录一次轨迹文件.

## 2 结果和讨论

### 2.1 复合物结构分析

复合物分子动力学模拟(MD)的均方根偏差(RMSD)值是衡量体系是否稳定的重要依据,图 2 为 DB921-DNA 复合物的 RMSD 随时间变化图. 由图所示,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 之后,体系势能也趋向最小值而达到稳定,从而为 DB921-DNA 复合物能够稳定存在提供了有力的证据.

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<sup>[24,25]</sup>. 本文采用 CURVES 程序考察了 DB921 小分子在 DNA 小沟域结合位点附近的小沟宽度变化,如图 3 所示.

DNA 在没有形成复合物之前,小沟宽度是 0.57

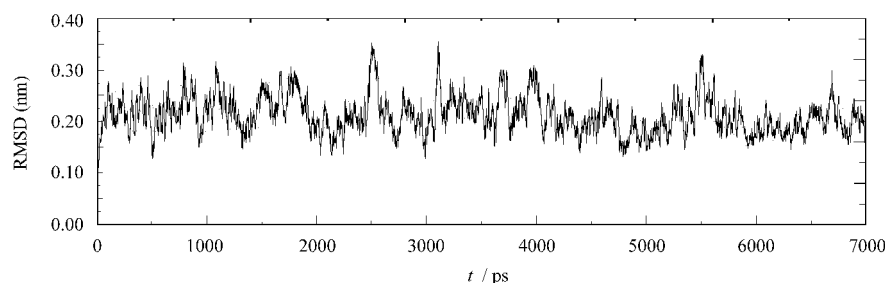


图2 DB921-DNA 复合物的 RMSD 随时间变化图

Fig.2 Root-mean-square deviation of DB921-DNA complex from the initial structure as a function of time

nm. 而如图 3 所示, DNA 的 AATTC 碱基的小沟宽度都有不同程度的变窄, 说明 DB921 紧密结合在 DNA 小沟的 AATTC 碱基处, 与 DNA 有较强的结合作用. 经典的芳香二脒化合物 DB75 与 DNA 小沟结合, 使 DNA 的 AATT 碱基小沟宽度变窄, 而直线型的 DB921 分子, 虽然其分子构型并不能与 DNA 的小沟构型相吻合, 但从 DNA 的小沟宽度变化来看, DB921 分子与 DNA 小沟域的 AATTC 碱基相互作用, 使其宽度变窄, 这就说明有其它分子诱导 DB921, 使其与 DNA 小沟紧密结合. 我们发现, 在 DB921-DNA 复合物中, 有一个水分子起着桥连 DB921 与 DNA 的 A 碱基的作用, DB921 通过水分子的桥连诱导, 与 DNA 的小沟构型相适应, 从而与 DNA 小沟的 AATTC 碱基有较强的结合作用.

由于复合物体系 MD 在 200 ps 就达到稳定, 从而采用 1.0–7.0 ns 间包含 6000 个构象的轨迹文件来提取平均结构, 图 4(a)为 1.0–7.0 ns 的 MD 模拟后 DB921-DNA 复合物体系的平均结构示意图. 如图所示, DB921 分子结合在双螺旋 d[CGCGAATTCGCG]<sub>2</sub> 的小沟区域. 与典型的芳香二脒化合物如 DB75 等与 DNA 小沟结合的构型相比, 由于 DB921 是直线型分子构型, 不能和 DNA 小沟域的构型相吻合, DB921 分子中苯并咪唑的一端仍然结合在 DNA 小沟域, 苯并咪唑的 N2 原子同时与 DNA 的 7 位和 19 位 T 碱基的 O2 原子形成两个稳定的氢键(见图

4(b)); 而 DB921 分子中二苯基的一端从 DNA 的小沟直线伸出, 与 DNA 小沟域的碱基不能直接作用. 因此, 仅仅从复合物的平均结构我们可以得出 DB921 与 DNA 小沟的结合不强, 不能作为良好的 DNA 小沟结合剂. 根据 MD 模拟的平均结构, 我们又分析了 DB921 的结合位点以及复合物中 DNA 的结构变化, 得到了一些有意义的结果, 从分子水平上阐明了水分子在 DB921 与 DNA 小沟结合中的重要作用.

## 2.2 DB921 结合位点分析

通过对 DB921-DNA 复合物 7 ns 的 MD 模拟, 从复合物的平均结构可以看出, DB921 分子紧密结合在 DNA 小沟区域. DB921 通过水分子以氢键的形式进行桥连诱导, 与 DNA 小沟域的 AATTC 碱基相互作用, 如图 4(b)所示.

同许多经典的芳香二脒化合物类似, DB921 苯并咪唑的 N2 原子同时和 DNA 的 7 位以及 19 位 T 碱基的 O2 原子形成两个氢键, 复合物中氢键的平均距离为 0.275 和 0.306 nm. DB921 苯环上的一个 C 原子和 DNA 的 20 位 T 碱基的 O2 原子以及 6 位 A 碱基的 N3 原子同时形成两个较弱氢键, 复合物中氢键的平均距离为 0.285 和 0.318 nm. 同时, DB921 两端氨基的氮原子, 其一端与 DNA 的 8 位 T 碱基的 O2 原子形成氢键, 复合物中氢键的平均距离为 0.283 nm, 其另一端通过水分子与 DNA 的 5

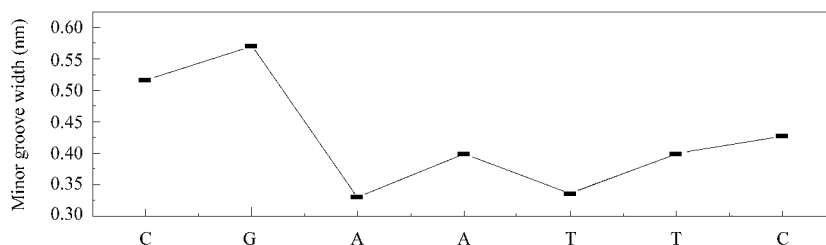


图3 DB921-DNA 复合物随时间变化的平均结构的双螺旋小沟宽度示意图

Fig.3 Minor groove width for the time-averaged structures of the DB921-DNA complex

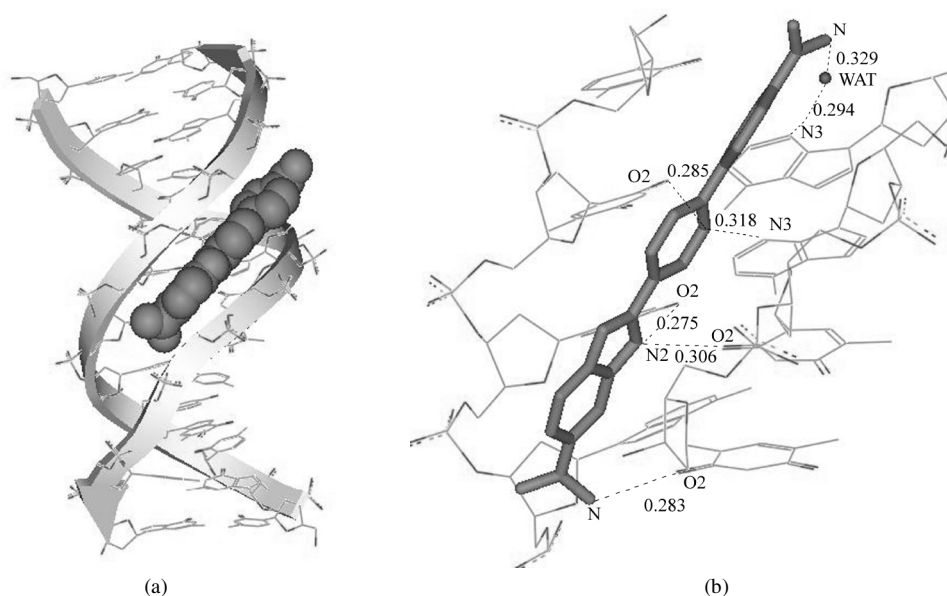


图 4 (a)DB921-DNA 复合物的平均结构和(b)DB921 的结合位点示意图

Fig.4 (a) The 1.0–7.0 ns time-averaged structure of DB921-DNA complex and (b) DB921 binding to the AATTC region of d[CGCGAATTCGCG]<sub>2</sub>

The H-bond is shown by dotted line.

位 A 碱基的 N3 原子形成氢键, 复合物中氢键的平均距离为 0.329 和 0.294 nm.

动态检测水分子与 DB921 一端氨基氮原子以及水分子与 DNA 的 5 位 A 碱基 N3 原子间的距离, 发现水分子的氢键桥连作用能够非常稳定地存在, 如图 5 所示.

由图 5 可以看出, DNA 的 5 位 A 碱基 N3 原子和水分子中氧原子的距离大多在 0.293–0.474 nm 之间, 平均距离 0.294 nm, 而 DB921 的氮原子和水分子中氧原子之间的距离大多在 0.255–0.384 nm 之间, 平均距离 0.329 nm. 从而水分子在 DB921 与 DNA 小沟结合时通过两个稳定的氢键起了桥连的作用, 正是这种水桥的存在, 使得 DB921 分子通过水分子的桥连而与 DNA 的小沟域构型相适应, 以此来增加与 DNA 小沟的结合力.

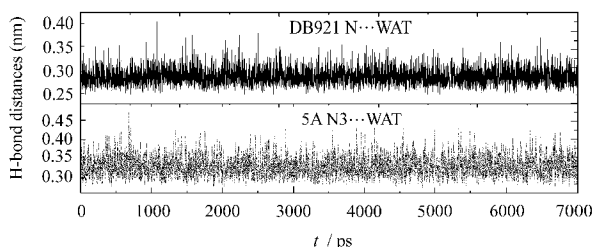


图 5 水桥形成氢键的距离随时间变化图

Fig.5 H-bond distances of the water bridge as a function of time

### 3 结论

与典型的月牙构型 DNA 小沟结合剂 DB75 相比, 直线型芳香二脒化合物 DB921 分子构型并不能与 DNA 的小沟构型相吻合, 也预示着与 DNA 小沟的结合力要小. 本文通过 7 ns 的分子动力学模拟 DB921-DNA 复合物研究表明, DB921 分子通过水桥与 DNA 小沟的 5A 碱基结合, 水分子诱导 DB921 分子与 DNA 的小沟域构型相适应, 与 DNA 小沟域的 AATTC 碱基有较强的结合作用. 由此可以认为, 设计更高结合力、更高活性的二脒类 DNA 小沟结合剂, 在一些非月牙构型的与 DNA 小沟域构型不符的二脒化合物中, 水分子有可能起着至关重要的识别作用.

### References

- 1 Dervan, P. B.; Edelson, B. S. *Curr. Opin. Struct. Bio.*, **2003**, *13*: 284
- 2 Cory, M.; Tidwell, R. R.; Fairley, T. A. *J. Med. Chem.*, **1992**, *35*: 431
- 3 Fairley, T. A.; Tidwell, R. R.; Donkor, I.; Naiman, N. A.; Ohemeng, K. A.; Lembardy, R. J.; Bentley, J. A.; Cory, M. *J. Med. Chem.*, **1993**, *36*: 1746
- 4 Wilson, W. D. *Science*, **2002**, *295*: 2103
- 5 Das, B. P.; Boykin, D. W. *J. Med. Chem.*, **1977**, *20*: 531
- 6 Bouteille, B.; Oukem, O.; Bisser, S.; Dumas, M. *Fund. Clin. Pharmacol.*, **2003**, *17*: 171

- 7 Fairlamb, A. H. *Trends Parasitol.*, **2003**, **19**: 488
- 8 Ismail, M. A.; Brun, R.; Easterbrook, J. D.; Taniou, F. A.; Wilson, W. D.; Boykin, D. W. *J. Med. Chem.*, **2003**, **46**: 4761
- 9 Stanley, W. C. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, **2003**, **17**: 133
- 10 Vartivarian, S.; Anaissie, E.; Bodey, G.; Sprigg, H.; Rolston, K. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1994**, **38**: 624
- 11 Hu, L.; Arafa, R. K.; Ismail, M. A.; Wenzler, T.; Brun, R.; Munde, M.; Wilson, W. D.; Nzimiro, S.; Samyehudhas, S.; Werbovetz, K. A.; Boykin, D. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, **18**: 247
- 12 Mathis, A. M.; Bridges, A. S.; Ismail, M. A.; Kumar, A.; Francesconi, I.; Anbazhagan, M.; Hu, Q. Y.; Taniou, F. A.; Wenzler, T.; Saulter, J.; Wilson, W. D.; Brun, R.; Boykin, D. W.; Tidwell, R. R.; Hall, J. E. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2007**, **51**: 2801
- 13 Munde, M.; Ismail, M. A.; Arafa, R.; Peixoto, P.; Collar, C. J.; Liu, Y.; Hu, L. X.; David-Cordonnier, M. H.; Lansiaux, A.; Bailly, C.; Boykin, D. W.; Wilson, W. D. *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, **129**: 13732
- 14 Huang, T. L.; Bacchi, C. J.; Kode, N. R.; Zhang, Q.; Wang, G. D.; Yartlet, N.; Rattendi, D.; Londono, I.; Mazumder, L.; Eynde, J. J. V.; Mayence, A.; Donkor, I. O. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **2007**, **30**: 555
- 15 Liu, Y.; Kumar, A.; Boykin, D. W.; Wilson, W. D. *Biophys. Chem.*, **2007**, **131**: 1
- 16 Laughton, C. A.; Taniou, F.; Nunn, C. M.; Boykin, D. W.; Wilson, W. D.; Neidle, S. *Biochemistry*, **1996**, **35**: 5655
- 17 Nguyen, B.; Lee, M. P.; Hamelberg, D.; Joubert, A.; Bailly, C.; Brun, R.; Neidle, S.; Wilson, W. D. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, **124**: 13680
- 18 Nguyen, B.; Hamelberg, D.; Bailly, C.; Colson, P.; Stanek, J.; Brun, R.; Neidle, S.; Wilson, W. D. *Biophys. J.*, **2004**, **86**: 1208
- 19 Wilson, W. D.; Nguyen, B.; Taniou, F. A.; Mathis, A.; Hall, J. E.; Stephens, C.; Boykin, D. W. *Curr. Med. Chem.-Anti-Cancer Agents*, **2005**, **5**: 389
- 20 Miao, Y.; Lee, M. P. H.; Parkinson, G. N.; Batista-Parra, A.; Ismail, M. A.; Neidle, S.; Boykin, D. W.; Wilson, W. D. *Biochemistry*, **2005**, **44**: 14701
- 21 Case, D. A.; Pearlman, D. A.; Caldwell, J. W.; Cheatham III, T. E.; Wang, J.; Ross, W. S.; Simmerling, C. L.; Darden, T. A.; Merz, K. M.; Stanton, R. V.; Cheng, A. L.; Vincent, J. J.; Crowley, M.; Tsui, V.; Gohlke, H.; Radmer, R. J.; Duan, Y.; Pitera, J.; Massova, I.; Seibel, G. L.; Singh, U. C.; Weiner, P. K.; Kollman, P. A. AMBER 7, University of California, San Francisco, 2002
- 22 Lavery, R.; Sklenar, H. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, **1989**, **6**: 63
- 23 Ryckaert, J. P.; Ciccotti, G.; Berendsen, H. J. J. *Comput. Phys.*, **1977**, **23**: 327
- 24 Boutonnet, N.; Hui, X.; Zakrzewska, K. *Biopolymers*, **1993**, **33**: 479
- 25 Stofer, E.; Lavery, R. *Biopolymers*, **1993**, **34**: 337