

Б. И. СУХОРУКОВ, В. И. ПОЛТЕВ, Р. В. ПОЛОЗОВ, И. А. ИЛЫЧЕВА

**О ВОЗМОЖНОМ ПУТИ ПОИСКА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ МУТАГЕНОВ
И ЦИТОСТАТИКОВ, ОСНОВАННОМ НА РАСЧЕТЕ ЭНЕРГИИ
ВНУТРИМОЛЕКУЛЯРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ДНК,
СОДЕРЖАЩЕЙ АНАЛОГИ АЗОТИСТЫХ ОСНОВАНИЙ**

(Представлено академиком Г. М. Франком 13 V 1971)

Современные представления о структуре и механизмах функционирования нуклеиновых кислот позволяют предложить следующий путь подбора мутагенов и цитостатиков. Аналоги канонических азотистых оснований, способные включаться в ДНК вместо обоих пуринов (или пиримидинов) с образованием комплементарных пар с обоими пиримидинами (или с пуринами) с близкой и не слишком малой по сравнению с образованием канонических пар вероятностью, должны быть эффективными мутагенами. При этом аналог может образовывать пары с двумя пиримидинами (или с двумя пуринами), находясь в одной и той же молекулярной структуре (тип 1), и с каждым в разных таутомерных формах или с одним в молекулярной, а с другим в ионизированной форме (тип 2). В этой работе мы будем рассматривать аналоги только первого типа. Аналоги азотистых оснований, которые, включившись в ДНК, затрудняют ее переход в одноцепочечное состояние при репликации или при транскрипции, должны обладать цитостатической активностью. Как известно, алкилирующие соединения, широко применяемые как цитостатические агенты, образуют сшивки между двумя цепями ДНК ⁽¹⁾ или между ДНК и белком и тем самым препятствуют репликации ДНК и размножению клеток. Можно предположить, что аналог азотистого основания, включающийся в ДНК без изменения ее вторичной структуры, окажется в ряде случаев более эффективным цитостатическим агентом, поскольку такое изменение ДНК вряд ли может быть исправлено репарирующими ферментами. Аналоги оснований, затрудняющие конформационный переход ДНК в одноцепочечное состояние, могут оказаться в некоторых случаях также более эффективными, чем антимаболиты, блокирующие один из этапов синтеза предшественников биополимеров и коэнзимов, ввиду наличия запасных путей метаболизма ⁽²⁾.

При поиске цитостатиков мы предполагаем, что затруднить переход ДНК в одноцепочечное состояние можно путем увеличения стабильности спиральной вторичной структуры ДНК. Ранее нами было показано, что основным переменным фактором, определяющим относительную стабильность двойной спирали ДНК-подобных полинуклеотидов, содержащих аналоги азотистых оснований, является энергия взаимодействия между основаниями ⁽³⁾. В соответствии с этим мы будем называть аналоги азотистых оснований, дающие при своем включении в ДНК увеличение энергии взаимодействия оснований, потенциальными цитостатиками.

При поиске мутагенов мы предполагали, что относительная вероятность образования комплементарных пар данным основанием при синтезе ДНК в существенной степени определяется энергией взаимодействия оснований. В соответствии с этим можно считать, что аналоги оснований, дающие близкие значения энергии взаимодействия при их включении вместо обоих пуринов (или обоих пиримидинов), будут потенциальными мутагенами.

Энергия взаимодействия такого аналога с комплементарными ему основаниями должна быть близкой или большей энергии взаимодействия канонических пар азотистых оснований.

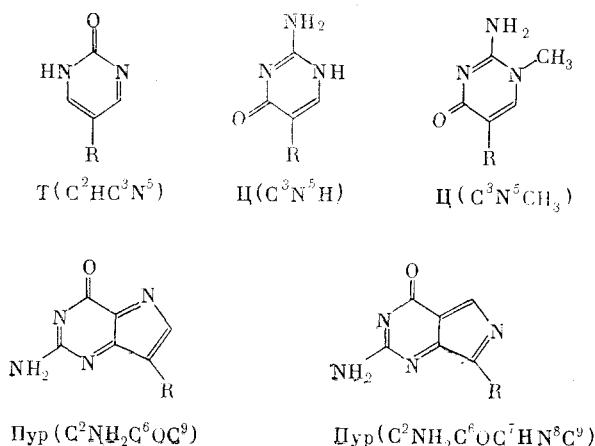
Основываясь на высказанных предположениях, мы применили полуэмпирические расчеты энергии взаимодействия оснований для поиска потенциальных цитостатиков и мутагенов. При этом мы рассматриваем аналоги оснований, включение которых в ДНК возможно без существенного искажения двойной спирали. Расчеты проведены по описанной ранее методике (^{4, 5}). Суммарная энергия взаимодействия оснований T предполагается складывающейся из энергии электростатического E , индукционного H и дисперсионного F взаимодействия и энергии близкойдействующих сил отталкивания V . Каждое слагаемое вычисляется в атом-атомном приближении. Для расчетов использованы те же параметры, что и в наших предыдущих работах (³⁻⁵). Расчеты выполнены на ЦВМ БЭСМ-3М.

В табл. 1 для аналогов оснований, которые по стерическим критериям могут замещать одно из канонических оснований, приведены значения суммарной энергии взаимодействия оснований, приходящиеся на пару оснований и усредненные по всем возможным ближайшим соседям. При этом в качестве соседних пар рассматривались данная модифицированная и другая каноническая пары. В этой таблице для каждого из аналогов оснований приведено предлагаемое нами краткое обозначение. Это обозначение строится следующим образом: вначале первая буква названия канонического основания, аналогом которого данное соединение является (А, Т, Г, Ц), далее в круглых скобках указываются атомы и атомные группировки, которые отличают данный аналог от канонического основания. Положение атома в кольце указывается верхним индексом, несколько атомов записываются вслед за кольцевым, к которому они присоединены, без указания верхнего индекса. Нумерация кольцевых атомов такова, что дезоксирибоза всегда присоединена в третьем положении аналогов пиримидинов и в девятом положении аналогов пуринов. Приведенный способ обозначений позволяет наглядно представить отличие каждого из рассмотренных аналогов от соответствующего канонического основания. Используя такие обозначения, мы стремились избежать применения громоздких, малоизвестных, а иногда и неоднозначных названий, применяемых в литературе.

Как показывают результаты расчетов, при замене одного из канонических азотистых оснований на его аналог в ряде случаев происходит существенное изменение энергии взаимодействия оснований. Это изменение находится в соответствии с экспериментальными результатами для целого ряда соединений, для которых в литературе имеются данные по термодинамике переходов спираль — клубок и комплексообразования типа полимер — полимер и полимер — мономер (³).

Для четырех из рассмотренных здесь аналогов оснований, включение которых в двойную спираль ДНК ведет к увеличению энергии взаимодействия оснований, цитостатическая активность экспериментально установлена. Это следующие соединения: $A(C^2NH_2)$ (⁶), $A(N^7HN^3C^9)$ (⁷), $G(N^8)$ (⁸⁻¹⁰), $A(C^3NH^8)$ (¹¹). Возможно, что эти соединения или, по крайней мере, некоторые из них проявляют свою цитостатическую активность путем увеличения стабильности двойной спирали ДНК. По результатам наших расчетов увеличение энергии взаимодействия между основаниями дают еще следующие аналоги оснований: $C(C^3N^5H)$, $C(C^5CH_3)$, $C(C^3N^3CH_3)$, $G(C^7HN^8CH_2C^9)$, $T(N^5)$, $T(C^4ON^3H)$, $T(C^2HC^3)$, $T(C^2HC^3N^4C^5H)$, $T(C^2HC^3N^5)$, $A(C^2NH_2N^3CH_2C^9)$ и $A(C^2NH_2N^3CH_2C^7HN^8C^9)$. Эти соединения мы рассматриваем как потенциальные цитостатики. Правда, для перечисленных здесь трех аналогов пуринов включение в двойную спираль может быть затруднено из-за стерического отталкивания метильных групп в третьем или восьмом положении от сахарофосфатного остова. Некоторые из перечисленных соединений дают довольно слабое увеличение энергии

взаимодействия оснований. Ниже мы приводим наиболее вероятные, на наш взгляд, потенциальные цитостатики (верхний ряд) и мутагены (нижний ряд).



В табл. 2 мы приводим результаты расчетов энергии взаимодействия оснований в двойной спирали ДНК, содержащей аналоги оснований, способные по стерическим критериям замещать оба пурина.

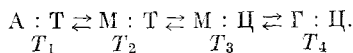
Обозначение соединений в этом случае построено так же, как и для аналогов, способных замещать одно из канонических оснований, указывается только, какие атомные группировки отличают это соединение от пурина. Как показали расчеты, для всех пяти рассмотренных соединений средние значения энергии взаимодействия оснований, приходящиеся на пары Пур:Ц и Пур:Т, сравнительно близки между собой и близки к энер-

Таблица 1

Значения энергии взаимодействия между основаниями, приходящиеся на комплементарную пару (усредненные по всем ближайшим соседям) в ДНК-подобных полинуклеотидах, содержащих соединения, способные по стерическим критериям замещать одно из канонических оснований

Пара оснований	$\bar{T}$, ккал/моль на 1 пару	Пара оснований	$\bar{T}$, ккал/моль на 1 пару
A:T	-21,8	Г:Ц	-38,4
A:T (C ⁵ H)	-20,8	Г:Ц (N ⁴)	-37,5
A:T (N ⁵)	-22,6	Г:Ц (C ⁵ CH ₃)	-40,2
A:T (N ⁴ C ⁵ H)	-21,4	Г:Ц (N ⁵)	-37,6
A:T (C ⁴ ON ⁵ H)	-23,1	Г:Ц (C ⁵ H)	-30,3
A:T (C ³ HC ³)	-24,2	Г:Ц (N ⁵ C ⁵ H)	-29,4
A:T (C ³ HC ³ N ⁴ C ⁵ H)	-24,5	Г:Ц (C ³ N ⁵ H)	-42,9
A:T (C ³ HC ³ N ⁵)	-26,1	Г:Ц (C ³ N ⁵ CH ₃)	-43,2
A (C ² NH ₂):T	-26,6	Г:Ц (C ³ HC ³ N ⁴)	-28,7
A (C ² NH ₂ C ³ H):T	-22,0	Г:Ц (C ³ HC ³)	-29,2
A (C ³ H):T	-21,4	Г:Ц (C ³ HC ³ N ⁵)	-27,5
A (C ³ H):T	-21,0	Г (C ³ H):Ц	-24,9
A (C ² NH ₂ N ³ CH ₂ C ⁹):T	-30,6	Г (C ² ON ³ H):Ц	-22,8
A (C ² NH ₂ N ³ CH ₂ C ⁷ NN ⁸ C ⁹):T	-32,6	Г (C ³ H):Ц	-36,5
A (N ⁷ NN ⁸ C ⁹):T	-24,6	Г (C ³ H):Ц	-35,0
A (C ⁷ NN ⁸):T	-22,6	Г (N ⁸):Ц	-41,3
		Г (N ⁷ CH ₂ C ⁹):Ц	-37,2
		Г (C ⁷ NN ⁸ CH ₂ C ⁹):Ц	-42,1
		Г (N ⁸ CH ₂ C ⁹):Ц	-37,8
		Г (C ² NN ⁷ NN ⁸ C ⁹):Ц	-30,9

гии взаимодействия в ДНК, приходящейся на пару А:Т. В соответствии с этим можно считать рассмотренные аналоги потенциальными мутагенами. Схему транзаций канонических пар оснований под влиянием их аналога, способного замещать оба пурина в одной молекулярной форме, можно представить следующим образом



В этой схеме М — аналог аденина и гуанина, T_1 , T_2 , T_3 и T_4 — энергии взаимодействия оснований в ДНК, приходящиеся на соответствующие пары оснований. Эти энергии, в соответствии с высказанным выше предположением, определяют относительную вероятность

Таблица 2

Значения энергии взаимодействия между основаниями в ДНК-подобных полинуклеотидах, содержащих соединения, способные замещать как аденин, так и гуанин

Аналог пуринов	$\tilde{T}_{\text{Пур:Т}}$, ккал/мол пар	$\tilde{T}_{\text{Пур:Ц}}$, ккал/мол пар
Пур ($C^2NH_2C^3NC^6OC^7HC^9$)	-22,4	-25,3
Пур ($C^2NH_2C^3NC^6OC^9$)	-21,9	-27,7
Пур ($C^2NH_2C^3NC^6OC^7HN^8C^9$)	-22,4	-27,4
Пур ($C^2NH_2C^6OC^9$)	-23,2	-28,4
Пур ($C^2NH_2C^6OC^7HN^8C^9$)	-23,4	-26,5

включения аналогов оснований. Поскольку для всех пяти рассмотренных случаев $T_1 \approx T_2$, включение аналога вместо аденина вполне вероятно, и поскольку $|T_2| < |T_3|$, в следующем поколении вероятно образование пары М:Ц, которая при следующей репликации даст пару Г:Ц. Таким образом, рассмотренные аналоги оснований являются потен-

циальными мутагенами, способными индуцировать транзации пар А:Т → Г:Ц чаще, чем транзации в обратном направлении. При иных соотношениях между T_1 , T_2 , T_3 и T_4 возможны другие случаи. От соотношения между этими энергиями зависит то, вместо какого основания включение данного аналога более вероятно и в каком направлении этот аналог будет вызывать транзации.

Необходимым условием эффективности предлагаемых цитостатиков и мутагенов по рассматриваемому механизму является включение этих соединений в ДНК. Можно предположить, что это условие будет выполняться в том случае, если положение минимума энергии взаимодействия между комплементарными основаниями в паре, содержащей аналог основания, близко к взаимному расположению оснований в двойной спирали ДНК⁽¹²⁾.

Мы предполагаем теоретически изучить выполнение условий включения в ДНК потенциальных цитостатиков и мутагенов, предложенных в этой работе, и других соединений, для которых подобные вычисления нами в настоящее время проводятся.

Институт биологической физики
Академии наук СССР
Пушкино-ла-Оке

Поступило
4 V 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ P. D. Lawley, P. Brookes, Exp. Cell. Res., 9, 512 (1963).
- ² A. W. Murray, D. C. Elliot, M. R. Atkinson, Progr. Nucl. Ac. Res. Mol. Biol., 10, 87 (1970).
- ³ В. И. Полтев, Р. В. Полозов, Б. И. Сухоруков, Молекулярная биология, 5, 453 (1971).
- ⁴ В. И. Полтев, Б. И. Сухоруков, Биофизика, 12, 763 (1967).
- ⁵ В. И. Полтев, Б. И. Сухоруков, Биофизика, 13, 941 (1968).
- ⁶ J. H. Burchenal et al., Cancer, 2, 419 (1949).
- ⁷ W. C. Ward et al., J. Biol. Chem., 244, 3243 (1969).
- ⁸ R. W. Brockman et al., Cancer Res., 19, 856 (1959).
- ⁹ R. E. F. Matthews, Pharmacol. Rev., 10, 359 (1958).
- ¹⁰ H. G. Mandell, Pharmacol. Rev., 11, 743 (1959).
- ¹¹ H. E. Skipper et al., Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 89, 594 (1955).
- ¹² D. F. Bradley, H. A. Nash, In: Molecular Association in Biology, 1968.