

[Article]

www.whxb.pku.edu.cn

## 人体端粒中(3+1)混合结构 G-四链体稳定性的分子动力学模拟

沈新媛 吕 洋 李慎敏\*

(大连大学, 辽宁省生物有机化学重点实验室, 辽宁 大连 116622)

**摘要:** 利用分子动力学模拟方法, 考察了人体端粒中(3+1)混合结构 G-四链体的结构及稳定性问题. 讨论了配位  $K^+$  离子、药物分子(端粒抑素)和溶剂水分子对 G-四链体的 Hoogsteen 氢键结构、 $\pi-\pi$  堆积作用的影响. 研究表明,  $K^+$  离子与鸟嘌呤碱基上  $O_6$  原子的配位作用减弱了对角鸟嘌呤间  $O_6-O_6$  的静电排斥作用, 使得相邻的四个鸟嘌呤能够以 Hoogsteen 氢键结合的方式形成具有近平面结构的稳定 G-四平面. 另一方面, G-四平面间、G-四平面与药物分子间的  $\pi-\pi$  堆积作用降低了 G-四链体复合物的总能量, 有利于其稳定存在. 此外, 溶剂水分子主要分布在 G-四链体的 TTA 环、骨架和糖环的周围, 使其位移涨落增大; 然而, 在 3 ns 动力学模拟中, 由于水分子没有进入到 G-四链体的空腔中, 溶剂水对 G-四平面的结构影响不明显.

**关键词:** G-四链体; G-四平面; Hoogsteen 氢键;  $\pi-\pi$  堆积作用; 分子动力学模拟; 端粒抑素  
**中图分类号:** O641

## Molecular Dynamics Simulations on the Stability of (3+1) Mixed-Type Hybrid G-quadruplex in Human Telomere

SHEN Xin-Yuan LÜ Yang LI Shen-Min\*

(Liaoning Key Laboratory of Bioorganic Chemistry, Dalian University, Dalian 116622, Liaoning Province, P. R. China)

**Abstract:** We used molecular dynamics simulations to investigate the structure and stability of a mixed-type hybrid guanine-quadruplex complex in human telomere. The effects of coordinated  $K^+$  ions, drug ligands (TMS) and solvent molecules on stability are discussed. Our results show that coordination between  $K^+$  ions and  $O_6$  in guanine bases decreases the electrostatic repulsion of the diagonal  $O_6-O_6$ . As a result, planar G-tetrads are stabilized by Hoogsteen hydrogen bonds that are formed by four neighboring guanine bases. On the other hand, stacking interactions between G-tetrads as well as the G-tetrad and the drug ligand lower the total energy of the G-quadruplex complex and thus stabilize it. In addition, water molecules are mainly located around TTA loops, the backbone and sugar rings which result in larger root mean square deviations (RMSDs) compared with other G-quadruplex fragments. However, since water does not enter the G-quadruplex complex cages during the 3 ns simulation, the influence of solvent on the stability of the G-tetrads is insignificant.

**Key Words:** G-quadruplex; G-tetrad; Hoogsteen hydrogen bond;  $\pi-\pi$  stacking interaction; Molecular dynamics simulation; Telomestatin

端粒是真核细胞线性染色体末端的一段特殊结构, 由富含鸟嘌呤的 DNA 和相关结合蛋白组成<sup>[1-4]</sup>. 人和脊椎动物的端粒 DNA 是由 5'd(TTAGGG)<sub>n</sub>3' 碱基序列简单重复组成, 长度约为 5–15 kb<sup>[5-7]</sup>. 端粒

DNA 在正常细胞分裂中, 每次约有 50–200 个碱基丢失, 经过多次分裂, 当其长度逐渐缩短至临界长度时, 细胞开始凋亡<sup>[8]</sup>. 然而, 在大多数(80%–90%)恶性肿瘤细胞中, 存在一种反转录酶——端粒酶,

Received: November 4, 2008; Revised: December 11, 2008; Published on Web: January 13, 2009.

\*Corresponding author. Email: shenmin@dl.cn; Tel: +86411-87402384.

国家自然科学基金(20573012, 20633050), 辽宁省教育厅基金(05L027)和辽宁省优秀人才培养计划(2007R02)资助项目

© Editorial office of Acta Physico-Chimica Sinica

它能够依赖端粒末端线性单链 DNA 为引物延长端粒长度, 补偿端粒序列的缩短或丢失, 从而导致端粒不能达到临界凋亡长度, 成为一种“永生”细胞<sup>[10-12]</sup>.

另一方面, 体外实验发现<sup>[13,14]</sup>: 端粒末端线性 DNA 单链上的鸟嘌呤碱基, 在单价碱金属离子  $K^+$ 、 $Na^+$  等存在下, 与自身链或其它链上的鸟嘌呤通过 Hoogsteen 氢键结合方式形成具有近平面结构的 G-四平面(G-tetrad, 如图 1 所示). 多个这样的平面又可以通过  $\pi-\pi$  堆积作用形成具有层状结构的 G-四链体(G-quadruplex). 值得关注的是, 稳定的 G-四链体不能作为端粒酶的引物, 从而抑制了端粒酶的活性, 成为抗肿瘤药物的靶点<sup>[15-21]</sup>. 近年来, 寻找能够识别 G-四链体微观结构、诱导 G-四链体形成并使其稳定化的药物小分子, 已成为人们探索和发展肿瘤治疗的新途径.

随着计算机技术的飞速发展, 以分子力学、分子动力学为理论基础的计算机辅助药物设计在生物制药领域发挥了越来越突出的重要作用. 分子动力学模拟常被用来研究和揭示药物分子与受体分子相互作用的微观机制<sup>[22-29]</sup>. 作为较早发现的端粒酶抑制剂, 端粒抑素(TMS)与 G-四链体的结合方式及稳定化作用已引起了科学家的普遍关注<sup>[30-32]</sup>.

目前, 体外实验发现的与人体端粒相关的 G-四链体结构有三种: 1) 存在于  $Na^+$  离子溶液中的反平行结构<sup>[33]</sup>; 2) 存在于  $K^+$  离子晶体中的平行结构<sup>[15]</sup>和 3) 新近发现的存在于  $K^+$  离子溶液中的(3+1)混合结构<sup>[34]</sup>. 它们均是由一条单链 DNA 经过折叠而形成的三个平行 G-四平面的堆积结构, 其差异主要表现在 G-四平面中核苷的顺反构象以及 G-四平面间 TTA 环连接方式的不同. 由于细胞中  $K^+$  离子远比  $Na^+$  离子丰富<sup>[34]</sup>, 因此, 研究  $K^+$  离子溶液中 G-四链体的微观结构及其稳定性问题对于发展以 G-四链体为靶点的新一代抗癌药物尤为重要<sup>[34,35]</sup>. 然而, 相比于较早发现的有关两种 G-四链体结构的较多报道<sup>[12,32,36-43]</sup>, 关于(3+1)混合结构 G-四链体, 特别是其与药物小分子作用的结构与稳定性研究却鲜于报道.

本文以(3+1)混合结构 G-四链体为研究对象, 利用分子动力学模拟方法探讨 G-四链体独特的微观结构与稳定性的关系, 考察配位  $K^+$  离子、药物分子、溶剂水分子等因素对 G-四链体中 Hoogsteen 氢键结构和  $\pi-\pi$  堆积作用的影响.

## 1 模拟细节

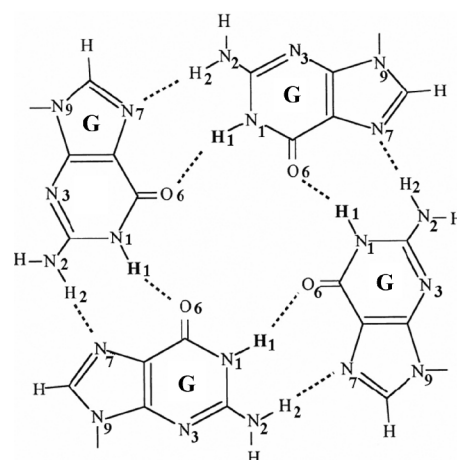


图 1 G-四平面结构和 Hoogsteen 氢键  
Fig.1 Structure of G-tetrad and Hoogsteen hydrogen bonds

### 1.1 分子对接

为考察药物分子(TMS)对(3+1)混合结构 G-四链体稳定性的影响, 首先进行了 TMS 分子与 G-四链体的对接. 初始的(3+1)混合结构 G-四链体结构参数取自于蛋白质数据库(ID: 2GKU)<sup>[34]</sup>, 其拓扑结构示意图见图 2(a). 端粒抑素 TMS 分子的结构参数(图 2(b))是利用 Gaussian 03 程序<sup>[44]</sup>在 HF/6-31G\* 水平上优化获得的, 其部分电荷是利用 RESP<sup>[45,46]</sup>方法对从头算 Milliken 电荷拟合得到的. 考虑到药物分子的平面结构, 分别选取 G-四链体的上下两个 G-四平面(Tet1 和 Tet3)与临近的 TTA 环所围成的两个区域为对接活性空间. 需要说明的是我们也尝试了 TMS 在两个 G-四平面间的对接, 然而, 较高的对接能量表明 G-四平面间区域并不是 TMS 分子的理想对接位置. 对接中, 为获得较好的对接结构, 先后采用了刚性对接和柔性对接两种对接技术. 其中, 刚性对接由 AUTODOCK 3.0 软件包<sup>[47]</sup>实现, 柔性对接是在 AMBER 力场<sup>[48,49]</sup>下利用分子动力学模拟实现的.

在刚性对接中, 利用 Lamarckian 遗传算法<sup>[47]</sup>对 G-四链体-TMS 复合物构象进行搜索, 根据对接作用能大小和几何匹配情况, 对 100 个对接参考结构进行筛选, 选择五个最佳的对接结构. 然后, 将选好的对接结构分别进行动力学模拟, 并通过 VMD 软件<sup>[50]</sup>对模拟过程进行实时监测, 寻找 G-四链体-TMS 复合物的较好的结合模式, 即两个 TMS 分子分别位于两个 TTA 环内并与 G-四平面处于近似平行的构象, 实现柔性对接. 以此构象作为分子动力学模拟的初始构象, 分子动力学模拟的细节见下节.

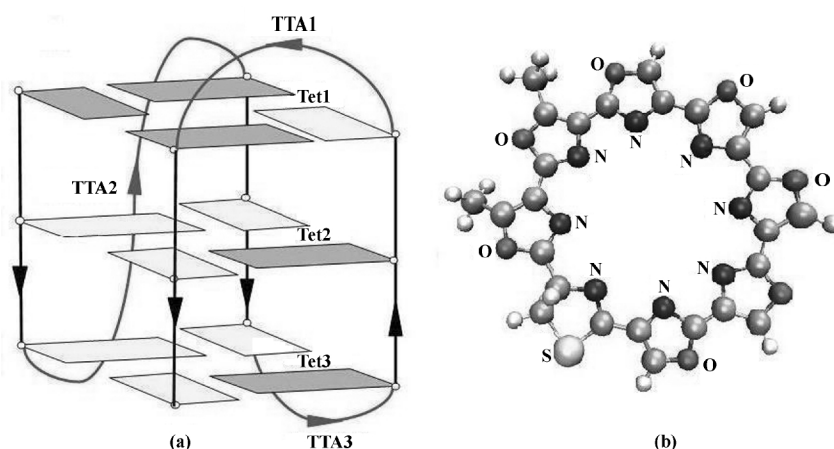


图 2 (3+1)混合结构 G-四链体与药物分子(TMS)结构示意图

Fig.2 Structures of (3+1) mixed hybrid G-quadruplex and drug molecular telomestatin (TMS)

(a) G-quadruplex, (b) telomestatin (TMS); Those big and small atoms unlabeled in (b) are carbon and hydrogen atoms, respectively.

TMS 与 G-四链体对接结构侧视图以及 TMS 与 G-四平面对接结构俯视图如图 3 所示。

## 1.2 分子动力学模拟

所有的分子动力学模拟均是通过 AMBER 7.0<sup>[51]</sup> 软件包实现的. AMBER 力场是目前公认的可以较好地描述核酸体系氢键作用、 $\pi-\pi$  堆积作用的力场之一<sup>[29]</sup>. 模拟中, 除药物分子(TMS)使用 AMBER GAFF 力场参数<sup>[52]</sup>外, 其它文中所涉及的研究对象均采用 AMBER 99 力场参数<sup>[48]</sup>. 下面以水溶液中 G-四链体-TMS 复合物体系(I)为例说明动力学模拟的执行过程以及相关参数的选取. 首先, 以分子对接后的 G-四链体-TMS 复合物为初始构象, 利用 AMBER 中 xleap 程序在三个 G-四平面和两个 TMS 分子所围成的四个空腔的中心区域分别加入 4 个配位  $K^+$  离子. 为使体系达到电中性, 再利用 xleap 程序向

体系中均匀加入 19 个  $K^+$  离子. 然后, 将上述复合物浸润到具有正立方体周期性边界条件<sup>[53]</sup>的 TIP3P 刚性水<sup>[54]</sup>盒子中. 这里, 水分子总数为 3594 个, 以保证水盒子的边缘与 G-四链体距离不少于 0.80 nm. 接下来, 为使动力学模拟顺利进行, 5000 步的 Newton-Raphson 优化法被执行以消除溶剂化过程中可能引入的较大力. 最后, 在 NPT(a fixed number of particles  $N$ , constant pressure  $P$  and temperature  $T$ ) 系综下执行动力学模拟. 其中, 模拟温度为 300 K, 压力为 0.101 MPa, 模拟时间步长为 2.0 fs; 此外, 采用 PME 方法<sup>[55]</sup>处理长程静电相互作用, SHAKE 算法<sup>[56]</sup>限制所有含氢原子键的快速伸缩; 预热模拟时间为 1 ns 以保证体系达到动力学平衡; 数据采集时间为 3 ns, 其中, 每 10 ps 采样一次轨迹数据. 数据处理是由 AMBER 7.0 程序包提供的 anal、

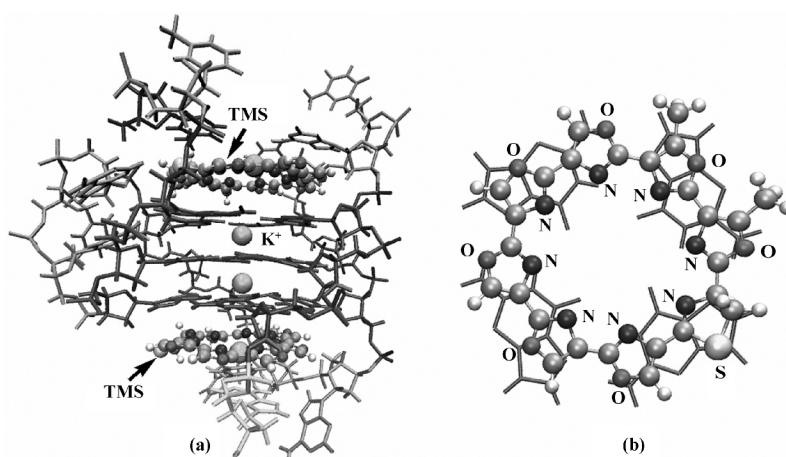


图 3 药物分子(TMS)与 G-四链体的对接结构示意图

Fig.3 Docking structures of drug ligand (TMS) with G-quadruplex

(a) TMSs and G-quadruplex, (b) TMS and G-tetrad; Those big and small atoms unlabeled in (b) are carbon and hydrogen atoms, respectively.

ptraj 等程序和自编的一些程序完成的。

除上述的  $K^+$  离子配位 G-四链体-TMS 复合物体系(I)外, 为考察配位  $K^+$  离子、药物分子、溶剂水分子等因素对 G-四链体 Hoogsteen 氢键和  $\pi-\pi$  堆积作用的影响, 我们还对以下三个模拟体系进行了平行的动力学模拟: 不含配位  $K^+$  离子和 TMS 分子的 G-四链体水溶液体系(II); 含有配位  $K^+$  离子, 但不含药物分子的 G-四链体水溶液体系(III)以及含有  $K^+$  离子配位, 无水的 G-四链体-TMS 复合物体系(IV)。需要说明的是, 无水 G-四链体复合物体系(IV)的模拟是在非周期性边界条件下进行的, 其它模拟过程和参数使用与体系(I)相同。

## 2 结果与讨论

### 2.1 Hoogsteen 氢键结构

G-四链体作为一种特别的 DNA 二级结构, 它的基本元素 G-四平面是由四个鸟嘌呤经 Hoogsteen 氢键环形连接组成的近平面结构。鉴于 Hoogsteen 氢键结构对于 G-四链体稳定性的重要作用<sup>[14,19]</sup>, 利用分子动力学模拟方法, 分别考察了四种体系中 Hoogsteen 氢键结构随时间变化情况。

表 1 给出了三层 G-四平面中 Hoogsteen 氢键  $O_6\cdots H_1$ 、 $N_7\cdots H_2$  键长、 $N_1-H_1\cdots O_6$ 、 $N_2-H_2\cdots N_7$  键角以及对角鸟嘌呤碱基对中  $O_6-O_6$  距离在 3 ns 模

拟的平均值。可以看出, 包含配位  $K^+$  离子的三个体系中,  $O_6\cdots H_1$ 、 $N_7\cdots H_2$  距离均在 0.20 nm 左右, 键角大于  $140^\circ$ , 形成较稳定氢键。而不含配位  $K^+$  离子的体系(II)中,  $N_7\cdots H_2$  距离较大(大于 0.25 nm),  $N_2-H_2\cdots N_7$  键角小于  $130^\circ$ , 表明  $H_2\cdots N_7$  氢键稳定性下降, Hoogsteen 氢键结构遭到部分破坏。另一方面,  $K^+-O_6$  配位抵消了部分的  $O_6-O_6$  静电排斥力, 拉近了鸟嘌呤之间的距离。特别地, Tet2 中的四个  $O_6$  原子受到上下两个  $K^+$  离子的配位作用,  $O_6-O_6$  距离明显小于其它两层(见表 1)。而不含配位  $K^+$  离子的体系(II)中  $O_6-O_6$  排斥作用较大, 导致鸟嘌呤一定程度的平移和翻转, 这是部分 Hoogsteen 氢键结构遭到破坏的主要原因。此外, 对比表 1 中体系(I)、(III)、(IV)的氢键参数及对角  $O_6-O_6$  间距也可以看出, 药物分子和溶剂水对 Hoogsteen 氢键结构影响不大。这一点将在后面的相关量均方根偏差的讨论中进一步验证。

### 2.2 $\pi-\pi$ 堆积作用

G-四链体复合物是由 G-四平面平行堆积形成的, 其稳定性与 G-四平面的近似平面程度以及  $\pi-\pi$  堆积作用能密切相关。通过考察 G-四平面中两对对角位置的鸟嘌呤碱基平面所构成的两个二面角大小, 我们首先检验了三层 G-四平面的平面程度。表 2 给出了含配位  $K^+$  离子的三个体系在模拟

表 1 平均 Hoogsteen 氢键参数以及对角  $O_6-O_6$  距离

Table 1 Average of Hoogsteen hydrogen bond parameters and distances of diagonal  $O_6-O_6$

System	G-tetrads	$L(O_6\cdots H_1)$	$L(N_7\cdots H_2)$	$A(N_1-H_1\cdots O_6)$	$A(N_2-H_2\cdots N_7)$	$L(O_6-O_6)$
(I)	Tet1	0.199(0.008)	0.200(0.005)	159.48(4.77)	162.16(4.55)	0.469(0.020)
	Tet2	0.225(0.014)	0.201(0.006)	146.12(4.84)	163.55(4.77)	0.427(0.023)
	Tet3	0.201(0.009)	0.202(0.006)	159.51(4.92)	160.65(4.72)	0.472(0.020)
(II)	Tet1	0.204(0.011)	0.268(0.015)	147.48(4.66)	126.65(4.26)	0.590(0.035)
	Tet2	0.204(0.021)	0.284(0.017)	143.28(4.84)	122.60(4.08)	0.608(0.037)
	Tet3	0.215(0.014)	0.202(0.006)	140.08(5.61)	116.63(5.06)	0.606(0.037)
(III)	Tet1	0.195(0.007)	0.211(0.007)	160.47(4.76)	154.20(5.68)	0.484(0.018)
	Tet2	0.232(0.021)	0.206(0.013)	143.92(5.78)	159.12(6.26)	0.426(0.027)
	Tet3	0.206(0.012)	0.202(0.006)	156.84(6.06)	159.08(5.29)	0.465(0.026)
(IV)	Tet1	0.221(0.009)	0.213(0.007)	155.08(4.73)	161.04(4.72)	0.468(0.019)
	Tet2	0.222(0.014)	0.212(0.011)	148.33(4.55)	162.25(4.43)	0.446(0.019)
	Tet3	0.228(0.011)	0.209(0.006)	146.67(4.59)	159.44(4.84)	0.456(0.017)

The data in the parentheses are the standard deviations; bond length in nm, bond angle in degree

表 2 对角鸟嘌呤碱基平面的二面角( $^\circ$ )

Table 2 Torsion angles ( $^\circ$ ) of the two diagonal guanine bases

System	Tet1		Tet2		Tet3	
(I)	11.43(5.68)	12.52(5.68)	10.27(5.14)	10.44(5.08)	13.60(6.28)	17.94(6.65)
(III)	8.30(4.26)	19.34(6.44)	10.24(5.50)	26.59(7.77)	30.52(7.87)	27.24(8.61)
(IV)	8.99(4.92)	9.67(5.11)	19.99(5.53)	8.35(4.19)	14.63(4.82)	19.34(6.01)

The data in the parentheses are the standard deviations.

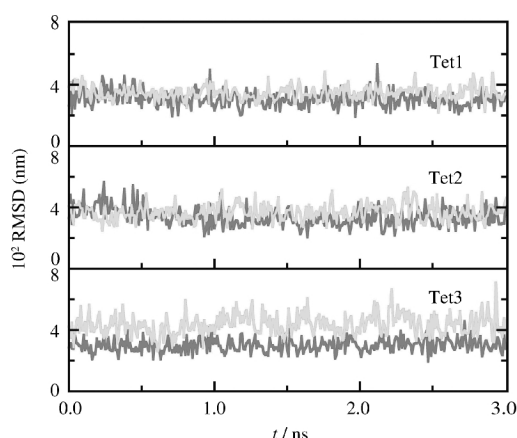


图4 体系(I)和体系(III)中三层 G-四平面位移 RMSD 的比较

Fig.4 Comparison of the RMSDs of three G-tetrads between system (I) and system (III)

the light color line: system I; the dark color line: system III

过程中各层 G-四平面中两个对角二面角的 300 个取样计算平均值. 容易发现: 含 TMS 配位的体系(I)和(IV)中, 三层 G-四平面的碱基二面角均小于  $20^\circ$ , 具有较好的平面性. 相反地, 不含 TMS 配位的体系(III)中, Tet2 的一个二面角以及 Tet3 的两个二面角接近  $30^\circ$ , 平面近似性相对较差, 说明下层 G-四平面与 TTA 环间药物分子的填入对 Tet3 的平面结构影响较大, 这也可以从体系(I)和体系(III)中三层 G-四平面原子位移的 RMSD 随时间变化的对比中清晰地看出(图 4).

接下来, 利用 AMBER 7.0 中 anal 模块, 分别计算了 3 ns 动力学模拟中水溶液体系(I)和无水体系(IV)中 300 个构型的  $\pi-\pi$  堆积作用能,  $\Delta E_{\pi-\pi} = E_{\pi-\pi}(AB) - [E_{\pi-\pi}(A) + E_{\pi-\pi}(B)]$ , 式中 A、B 分别代表 G-四平面和药物分子 TMS, 其中能量  $E_{\pi-\pi}$  可进一步划分为静电作用能  $E_{es}$  和范德华作用能  $E_{vdw}$  贡献. 表 3 列出了两个体系中, TMS 分子与相邻的 G-四平面以及相邻 G-四平面间的平均  $\pi-\pi$  堆积作用能. 表 3 显示, 范德华作用能  $\Delta E_{vdw}$  为贡献较大的

吸引作用, 而静电能  $\Delta E_{es}$  为贡献较小的排斥作用, 导致  $\pi-\pi$  堆积作用能  $\Delta E_{\pi-\pi}$  为吸引作用, 体系趋于稳定. 相比于一般的芳香化合物间的  $\pi-\pi$  堆积作用能 ( $10-50 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ )<sup>[57,58]</sup>, G-四链体的  $\pi-\pi$  堆积作用能较大, 是其维持稳定的重要因素. 对比 G-四平面间的  $\pi-\pi$  堆积作用, 由于药物分子与 G-四平面的静电排斥作用相对较小, 导致  $\pi-\pi$  堆积作用能较大(体系(IV)中 Tet3-TMS 略小于 Tet2-Tet3 除外). 特别地, 在水溶剂体系(I)中, TMS 分子与 G-四平面的  $\pi-\pi$  堆积能比 G-四平面间的大约  $30-40 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ . 此外, 对比(I)与(IV)体系, G-四平面间的  $\pi-\pi$  堆积作用能相差不大. 也就是说溶剂水分子对 G-四平面影响不大, 关于溶剂水的影响我们将在下一节作进一步的讨论.

值得注意的是与示意图 2(a)不同, 3 ns 模拟显示(3+1)混合结构 G-四链体的平均结构是由三层 G-四平面按一定方位角螺旋堆积而成, 这与实验结构<sup>[34]</sup>相一致(见图 5). 为揭示螺旋堆积结构的原因, 利用 anal 程序, 在不同的面间距离、旋转角的条件下, 对两层 G-四平面的  $\pi-\pi$  堆积作用能  $E_{\pi-\pi}$  进行了考察. 为简化计算, G-四平面采用了具有  $C_{4h}$  对称性的从头像优化结构. 考虑到 Tet1-Tet2 与 Tet2-Tet3 螺旋方位的手性差异, 我们分别考察了 Tet1-Tet2、Tet2-Tet3 的  $\pi-\pi$  堆积情况. 计算中以示意图 2(a)中 Tet1-Tet2、Tet2-Tet3 相对位置为参照, 计算分两步完成. 第一, 将层间距设置为  $0.34 \text{ nm}$ , 绕 C4 轴逆时针旋转上层的 G-四平面, 计算势能变化(图 6(a, b)); 第二, 取势能曲线中势阱的角度为定值, 改变层间距, 计算势能随距离变化(图 6(c, d)). 结果显示, 当 Tet1-Tet2 旋转角约为  $15^\circ$ ,  $\pi-\pi$  堆积作用能最低; 而对于 Tet2-Tet3 而言, 该角度为  $45^\circ$ . 需要指出的是虽然  $\pi-\pi$  堆积作用能的主要贡献来自于范德华相互作用, 但静电相互作用才是决定 G-四链体呈螺旋结构的重要原因.

表 3 平均  $\pi-\pi$  堆积作用能  $E_{\pi-\pi}$

Table 3 Average energies of  $\pi-\pi$  stacking

System	Energy	Tet1-TMS	Tet1-Tet2	Tet2-Tet3	Tet3-TMS
(I)	$\Delta E_{vdw}$	-161.19(6.75)	-180.95(4.73)	-180.39(5.44)	-160.42(5.49)
	$\Delta E_{es}$	51.71(9.64)	115.66(10.64)	106.40(12.41)	52.70(9.99)
	$\Delta E_{\pi-\pi}$	-109.48(9.32)	-65.29(11.00)	-73.99(12.65)	-107.72(9.97)
(IV)	$\Delta E_{vdw}$	-153.38(6.38)	-168.04(7.30)	-167.58(6.34)	-151.88(7.35)
	$\Delta E_{es}$	64.64(10.87)	109.62(10.29)	83.96(11.05)	77.41(11.13)
	$\Delta E_{\pi-\pi}$	-88.74(9.74)	-58.42(11.05)	-83.62(11.76)	-74.47(12.09)

energy in  $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ; the data in the parentheses are the standard deviations.

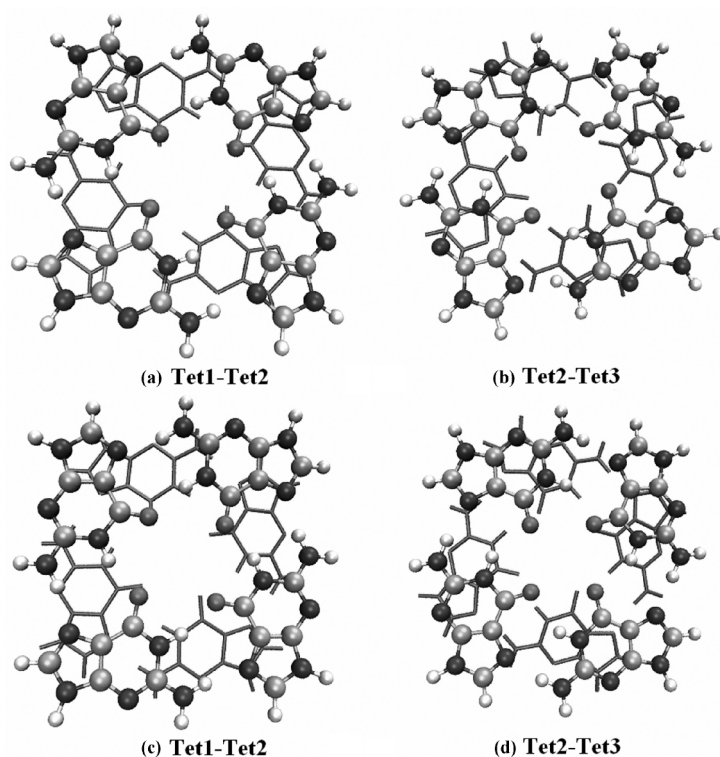


图 5 实验结构<sup>[34]</sup>(a,b)与 3ns 动力学模拟平均结构(c,d)中 G-四平面相对位置的比较

Fig.5 Comparison of the relative position of tetrads between the experimental structures<sup>[34]</sup> (a,b) and the calculated average structures (c,d) in 3 ns MD simulation

另一方面,图 6(c,d)显示,虽然 Tet1-Tet2 与 Tet2-Tet3 的螺旋方位角不同,但最稳定的层间距离均为 0.34 nm,且  $\pi$ - $\pi$  堆积作用能随距离变化的趋势也

一致。需要说明的是,利用这种刚性的简化模型获得的计算结果与动力学模拟的 G-四平面的间距和螺旋方位均较好地符合,且与实验结构<sup>[34]</sup>一致。

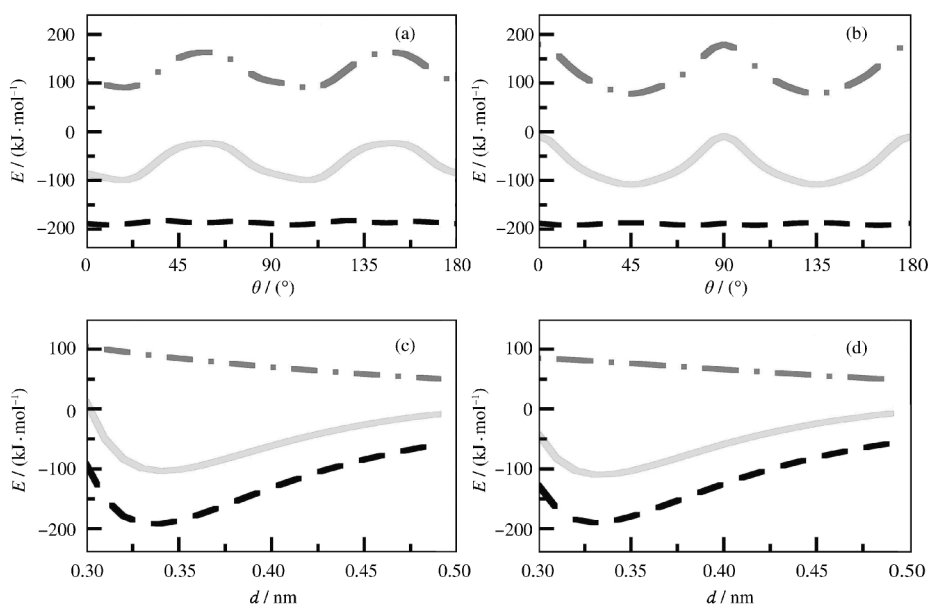


图 6 G-四平面的  $\pi$ - $\pi$  堆积随层间距与螺旋角的变化

Fig.6 The variation of  $\pi$ - $\pi$  stacking energies for two G-tetrads as functions of the distances and rotation angles. Solid lines is for  $E_{\pi-\pi}$ , slash lines is for  $E_{\text{es}}$ , and point slash lines for  $E_{\text{vdw}}$ ; (a) energies vs rotation angle for Tet1-Tet2; (b) energies vs rotation angle for Tet2-Tet3; (c) energies vs distances for Tet1-Tet2; (d) energies vs distances for Tet2-Tet3

表 4 G-四链体中 O、N 原子周围水分子数  
Table 4 Number of water molecules around O, N atoms in G-quadruplex

	O1P <sup>a</sup>	O2P <sup>a</sup>	N <sub>1</sub>	N <sub>3</sub>	N <sub>7</sub>	N <sub>9</sub> <sup>b</sup>
$N_{DG}$	3.75(0.24) <sup>c</sup>	3.55(0.20)	0.04(0.04)	0.97(0.13)	0.17(0.09)	0.05(0.07)
$N_{DA}$	3.74(0.24)	3.37(0.22)	1.41(0.41)	1.32(0.41)	1.47(0.37)	0.25(0.26)
$N_{DT}$	3.74(0.24)	3.37(0.22)	0.11(0.11)	0.86(0.26)		

DG: deoxyguanosine, DA: deoxyadenosine, DT: deoxythymidine; a) the oxygen atoms in the phosphate group; b) beyond the atoms listed in Table 4, the number of water molecules around the other atoms are given, in DG, N<sub>2</sub>: 0.63(0.17); O<sub>6</sub>: 0.04(0.04), in DA, N<sub>6</sub>: 1.94(0.60), in DT, O<sub>2</sub>: 1.67(0.29); O<sub>4</sub>: 2.15(0.30); c) the data in the parentheses are the standard deviations.

### 2.3 溶剂水的影响

为讨论溶剂水对 G-四链体稳定性的影响,利用 ptraj 程序计算了 G-四链体中 O、N 原子周围 0.30 nm 内水分子的个数(见表 4)。容易发现, G-四平面内侧的 O<sub>6</sub>、N<sub>1</sub> 和 N<sub>7</sub> 周围水分子出现的几率较小,也就是说,由 G-四平面间、G-四平面与 TMS 围成的空腔具有较强的疏水性。此外,在三种 DNA 碱基中,与糖环连接的 N 原子附近(腺嘌呤 DT 的 N<sub>1</sub>, 鸟嘌呤 DG 和胸腺嘧啶 DA 的 N<sub>9</sub>)也没有发现水分子。水分子主要发现在骨架磷酸根上的两个氧原子(O1P, O2P)周围、G-四平面的外侧以及 TTA 环的周围,并以氢键形式与 G-四链体相结合。

接下来,进一步比较了 3 ns 分子模拟过程中水溶液体系(I)与无水体系(IV)中 G-四链体分子片段位移的均方根偏差(RMSD)(图 7)。容易发现,水溶液体系中 TTA 环、骨架磷酸根以及糖环的 RMSD 明显大于无水体系,这可能是由于周围水分子扩散运动造成的。另一方面,由于体系(I)中 G-四平面与 TMS 药物分子的疏水性,它们位移的 RMSD 值与无水

体系相比,差异不大。此外,较小的 G-四平面均方根位移表明两个体系中 G-四平面结构均具有较好的稳定性,这对 G-四链体结构的稳定性至关重要。TMS 分子的 RMSD 值略大于鸟嘌呤,有一定的柔性。TTA 环具有最大的 RMSD(>0.25 nm),明显大于糖环和磷酸骨架的 RMSD 值,表明 TTA 环是柔性的。这为药物分子与 G-四平面的对接提供了条件。值得注意的是, Rueda 等人<sup>[27]</sup>通过对几个 G-四链体复合物体系的动力学模拟发现, G-四链体可以在无水环境长时间保持稳定,然而,比较体系(I)与(IV)中 3 ns 的模拟的 RMSD 值,看到水溶剂对 G-四链体 TTA 环的影响是明显的。尽管在 3 ns 的模拟中, TTA 环的柔性对 G-四平面的结构影响较小,但其影响可能需要更长模拟时间去验证。

### 3 结论

(3+1)混合结构 G-四链体作为首次在体外实验发现存在于 K<sup>+</sup>离子溶液环境下的人体端粒末端 DNA 复合物,其微观结构和稳定性的研究无疑对探索肿瘤预防、抗癌新药的研发具有重要的理论意义和实际价值。本文利用分子动力学模拟方法,选择四个模拟体系,分别探讨了配位 K<sup>+</sup>离子、药物分子(端粒抑素)、溶剂水分子对 G-四链体 Hoogsteen 氢键结构、 $\pi-\pi$  堆积作用的影响。

模拟结果表明,在不含配位 K<sup>+</sup>离子的体系(II)中,由于 G-四平面内对角 O<sub>6</sub>-O<sub>6</sub> 的较强的排斥作用, Hoogsteen 氢键遭到破坏, G-四平面的平面性变差,导致  $\pi-\pi$  堆积效应减弱, G-四链体不能稳定存在。相反,在含配位 K<sup>+</sup>离子的体系(I)、(III)、(IV)中,由于配位 K<sup>+</sup>离子的存在,拉近了鸟嘌呤 O<sub>6</sub>-O<sub>6</sub> 的距离,保证了 Hoogsteen 氢键结构的形成,进而 G-四平面得以稳定存在。

稳定的 G-四平面通过  $\pi-\pi$  堆积作用形成较稳定的 G-四链体。同时,具有近似平面构型的大环药物分子端粒抑素也可以在 G-四链体两个 TTA

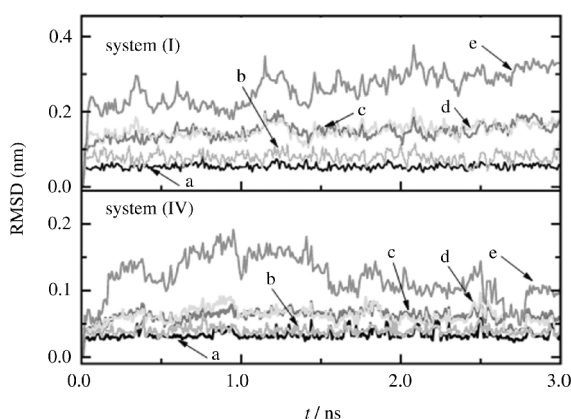


图 7 体系(I)和体系(IV)中一些片段位移的 RMSD 随时间变化

Fig.7 The RMSD of some fragments of G-quadruplex in systems (I) and (IV) from the initial structure as a function of time

The curves correspond to the RMSD for (a) DG; (b) sugar rings; (c) phosphodiester backbone; (d) TTA loops; and (e) drug ligands(TMS).

侧环内与 G-四平面 Tet1、Tet3 通过  $\pi-\pi$  堆积作用进行结合, 增加体系的稳定化能. 对比 G-四平面间的  $\pi-\pi$  堆积作用, 由于药物分子与 G-四平面的静电排斥作用明显较小, 导致  $\pi-\pi$  堆积作用能较大. 另一方面, 对比无药配位情况, 下层 G-四平面 (Tet3) 位移的 RMSD 明显减小, 说明药物分子的配位有利于 G-四链体的稳定.

利用简单模型, 计算了 G-四平面间的稳定距离和螺旋性关系, 与实验结果较好地吻合. 初步解释了稳定距离和螺旋性的原因, 同时也暗示由于具有较大的柔性, TTA 环对 G-四链体的主体结构影响不大.

在 3 ns 的含水溶液体系(I)的动力学模拟中, 水分子没有进入分别由 G-四平面、药物分子组成的四个空腔内, 因此, 与无水体系(IV)相比, G-四平面与药物分子位移的 RMSD 变化不大. 然而, 由于水分子较多地集中在 TTA 环、骨架磷酸根以及糖环的周围, 水溶液体系中这些片段的位移涨落明显大于无水体系. 因此, 利用无水体系预测真实的有水体系需要慎重.

## References

- Blackburn, E. H. *Nature*, **1991**, **350**: 569
- Allsopp, R. C.; Harley, C. B. *Experimental Cell Research*, **1995**, **219**: 130
- Makarov, V. L.; Hirose, Y.; Langmore, J. P. *Cell*, **1997**, **88**: 657
- Chai, W.; Du, Q.; Shay, J. W.; Wright, W. E. *Molecular Cell*, **2006**, **21**: 427
- Moyzis, R. K.; Buckingham, J. M.; Cram, L. S.; Dani, M.; Deaven, L. L.; Jones, M. D.; Meyne, J.; Ratliff, R. L.; Wu, J. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1988**, **85**: 6622
- Morin, G. B. *Cell*, **1989**, **59**: 521
- Wright, W. E.; Tesmer, V. M.; Huffman, K. E.; Levene, S. D.; Shay, J. W. *Genes & Dev.*, **1997**, **11**: 2801
- Harley, C. B.; Futcher, A. B.; Greider, C. W. *Nature*, **1990**, **345**: 458
- Kim, N.; Piatyszek, M.; Prowse, K.; Harley, C.; West, M.; Ho, P.; Coviello, G.; Wright, W.; Weinrich, S.; Shay, J. *Science*, **1994**, **266**: 2011
- White, L. K.; Wright, W. E.; Shay, J. W. *Trends in Biotechnology*, **2001**, **19**: 114
- Incles, C.; Schultes, C. M.; Neidle, S. *Current Opinion in Investigational Drugs*, **2003**, **4**: 675
- Franceschin, M.; Lombardo, C. M.; Pascucci, E.; D'Ambrosio, D.; Micheli, E.; Bianco, A.; Ortaggi, G.; Savino, M. *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, **16**: 2292
- Pinnavaia, T. J.; Marshall, C. L.; Mettler, C. M.; Fisk, C. L.; Miles, H. T.; Becker, E. D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, **100**: 3625
- Baker, E. S.; Bernstein, S. L.; Gabelica, V.; Pauw, E. D.; Bowers, M. T. *International Journal of Mass Spectrometry*, **2006**, **253**: 225
- Neidle, S.; Parkinson, G. *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2002**, **1**: 383
- Yin, F.; Liu, J. H.; Peng, X. J. *Chemistry*, **2004**: 271 [殷菲, 刘建辉, 彭孝军. 化学通报, **2004**: 271]
- Zahler, A. M.; Williamson, J. R.; Cech, T. R.; Prescott, D. M. *Nature*, **1991**, **350**: 718
- Read, M.; Harrison, R. J.; Romagnoli, B.; Tanious, F. A.; Gowan, S. H.; Reszka, A.; Wilson, W. D.; Kelland, L. R.; Neidle, S. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2001**, **98**: 4844
- Haider, S. M.; Parkinson, G. N.; Neidle, S. *J. Mol. Biol.*, **2003**, **326**: 117
- Gavathiotis, E.; Searle, M. S. *Org. Biomol. Chem.*, **2003**, **1**: 1650
- Cian, A. D.; Lacroix, L.; Douarre, C.; Temime-Smaali, N.; Trentesaux, C.; Riou, J. F.; Mergny, J. L. *Biochimie*, **2008**, **90**: 131
- Ma, G. Z.; Jang, Y. J.; Yu, Q. S. *Acta Chim. Sin.*, **2007**, **65**: 284 [马国正, 蒋勇军, 俞庆森. 化学学报, **2007**, **65**: 284]
- Zhang, C.; Wu, W. B.; Lu, Y. J.; Gu, L. Q.; Huang, Z. S. *Acta Chim. Sin.*, **2008**, **66**: 953 [张弛, 吴伟彬, 卢宇靖, 古练权, 黄志纾. 化学学报, **2008**, **66**: 953]
- Špačková, N.; Berger, I.; Šponer, J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, **121**: 5519
- Petraccone, L.; Erra, E.; Esposito, V.; Randazzo, A.; Mayol, L.; Nasti, L.; Barone, G.; Giancola, C. *Biochemistry*, **2004**, **43**: 4877
- Clay, E. H.; Gould, I. R. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, **2005**, **24**: 138
- Rueda, M.; Luque, F. J.; Orozco, M. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, **128**: 3608
- Wang, H.; Laughton, C. A. *Methods*, **2007**, **42**: 196
- Šponer, J.; Špačková, N. *Methods*, **2007**, **43**: 278
- Rosu, F.; Gabelica, V.; Shin-ya, K.; Pauw, E. D. *Chem. Commun.*, **2003**: 2702
- Rezler, E. M.; Seenisamy, J.; Bashyam, S.; Kim, M. Y.; White, E.; Wilson, D.; Hurley, L. H. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, **127**: 9439
- Kim, M. Y.; Vankayatapati, H.; Shin-ya, K.; Wierzbka, K.; Hurkey, L. H. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, **124**: 2098
- Patel, D. J.; Wang, Y. *Structure*, **1993**, **1**: 263
- Luu, K. N.; Phan, A. T.; Kuryavyi, V.; Lacroix, L.; Patel, D. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, **128**: 9963
- Xu, Y.; Noguchi, Y.; Sugiyama, H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, **14**: 5584
- Gavathiotis, E.; Heald, R. A.; Stevens, M. F. G.; Searle, M. S. *J. Mol. Biol.*, **2003**, **334**: 25
- Meng, F.; Xu, W.; Liu, C. *Chem. Phys. Lett.*, **2004**, **389**: 421
- Reed, J. E.; Amal, A. A.; Neidle, S.; Vilar, R. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, **128**: 5992
- Li, W.; Zhang, M.; Zhang, J. L.; Li, H. Q.; Zhang, X. C.; Sun, Q.; Qiu, C. M. *Federation of European Biochemical Societies*, **2006**, **580**: 4905
- Franceschin, M.; Alvino, A.; Casagrande, V.; Mauriello, C.;



- Pascucci, E.; Savino, M.; Ortaggi, G.; Bianco, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, **15**: 1848
- 41 Franceschin, M.; Pascucci, E.; Alvino, A.; D'Ambrosio, D.; Bianco, A.; Ortaggi, G.; Savino, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, **17**: 2515
- 42 Yang, D. Y.; Chang, T. C.; Sheu, S. Y. *J. Phys. Chem. A*, **2007**, **111**: 9224
- 43 Wei, C. Y.; Tang, Q.; Li, C. *Biophysical Chemistry*, **2008**, **132**: 110
- 44 Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; *et al.* Gaussian 03, Revision B.04. Pittsburgh, PA: Gaussian Inc., 2003
- 45 Wang, J.; Cieplak, P.; Kollman, P. A. *J. Comp. Chem.*, **2000**, **21**: 1049
- 46 Bayly, C. I.; Cieplak, P.; Cornell, W. D.; Kollman, P. A. *J. Phys. Chem.*, **1993**, **97**: 10269
- 47 Morris, G. M.; Goodsell, D. S.; Halliday, R. S.; Huey, R.; Hart, W. E.; Belew, R. K.; Olson, A. J. *J. Comp. Chem.*, **1998**, **19**: 1639
- 48 Cornell, W. D.; Cieplak, P.; Bayly, C. I.; Gould, I. R.; Merz, K. M.; Ferguson, D. M.; Spellmeyer, D. C.; Fox, T.; Caldwell, J. W.; Kollman, P. A. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, **117**: 5179
- 49 Weiner, S. J.; Kollman, P. A.; Case, D. A.; Singh, U. C.; Ghio, C.; Alagona, G.; Profeta, S.; Weiner, P. *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, **106**: 765
- 50 Humphrey, W.; Dalke, A.; Schulten, K. *Journal of Molecular Graphics and Modeling*, **1996**, **14**: 33
- 51 Case, D. A.; Pearlman, D. A.; Caldwell, J. W. T. E. C. III; Wang, J.; Ross, W. S.; Simmerling, C.; Darden, T.; Merz, K. M.; Stanton, R. V.; Cheng, A.; Vincent, J. J.; Crowley, M.; Tsui, V.; Gohlke, H.; Radmer, R.; Duan, Y.; Pitera, J.; Massova, I.; Seibel, G. L.; Singh, U. C.; Weiner, P.; Kollman, P. A. *AMBER 7.0 User's Manual*. University of California, 2002
- 52 Wang, J.; Wolf, R. M.; Caklwell, J. W.; Kollman, P. A.; Case, D. A. *J. Comp. Chem.*, **2004**, **25**: 1157
- 53 Cavallari, M.; Calzolari, A.; Garbesi, A.; Felice, R. D. *J. Phys. Chem. B*, **2006**, **110**: 26337
- 54 Jorgensen, W. L.; Chandrasekhar, J.; Madura, J. D.; Impey, R. W.; Klein, M. L. *J. Chem. Phys.*, **1983**, **79**: 926
- 55 Essmann, U.; Perera, L.; Berkowitz, M. L.; Darden, T.; Lee, H.; Pedersen, L. G. *J. Chem. Phys.*, **1995**, **103**: 8577
- 56 Ryckaert, J. P.; Ciccotti, G.; Berendsen, H. J. C. *J. Comput. Phys.*, **1977**, **23**: 237
- 57 Hobza, P.; Šponer, J. *Chem. Rev.*, **1999**, **99**: 3247
- 58 Xu, Z. G.; Gu, G. B.; Liu, H. Y. *Chemistry*, **2007**: 782 [徐志广, 古国榜, 刘海洋. 化学通报, **2007**: 782]