

СТРУКТУРНЫЙ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ ПЛАТИНОСОДЕРЖАЩИХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЖИДКОЙ ФАЗЕ

Костюкова Л.О.

Черноморское высшее военно-морское училище им. П.С. Нахимова
ул. Дыбенко, 1а, г. Севастополь, 299028; e-mail: lyudmilakostyukova@mail.ru
Поступила в редакцию: 30.08.2018.

Аннотация. Методами молекулярного моделирования проведен теоретический анализ комплексообразования антиопухолевого препарата цисплатина с биологически активным соединением фуллереном C_{60} . В работе выполнены молекулярномеханические и квантовомеханические расчеты исследуемых соединений в свободном состоянии и в составе комплекса. Выяснена роль водного окружения в стабилизации данного комплекса. Вычислены вклады различных физических факторов в полную энергию связывания цисплатина с фуллереном C_{60} . Установлено, что за стабилизацию комплекса ответственны главным образом взаимодействия.
Ключевые слова: фуллерен C_{60} , цисплатин, комплексообразование, энергетический анализ, водный раствор.

ВВЕДЕНИЕ

Цисплатин (CP) в настоящее время является одним из наиболее эффективных и часто используемых противоопухолевых препаратов [1-3]. Основной проблемой, возникающей при его применении, является побочное токсическое действие. Поэтому представляется целесообразным осуществлять регулирование биологической активности CP. Одним из наиболее эффективных методов такого регулирования является связывание CP с биологически активными соединениями (БАС). Комплексообразование молекул CP и БАС также может повысить эффективность адресной доставки препарата внутрь злокачественных клеток (транспортная функция) и защитить его от метаболического разрушения внутри человеческого организма (протекторная функция) [4].

Фуллерен C_{60} представляет собой одно из таких перспективных БАС, используемых в комбинации с другими антиопухолевыми препаратами [5]. Сам C_{60} также проявляет антиопухолевую активность, не имея при этом выраженного токсического действия. Преимуществами C_{60} в сравнении с другими БАС является механическая прочность, относительно простой синтез, возможность химической модификации и высокая окислительно-восстановительная способность [6, 7].

Таким образом, изучение комплексообразования CP и C_{60} представляет значительный научный интерес с точки зрения комбинированной химиотерапии раковых заболеваний. Ранее другими авторами были выполнены экспериментальные исследования связывания CP с C_{60} , получена величина энтальпии ΔH комплексообразования и рассчитана пространственная структура комплекса [8, 9]. Однако вопрос о роли различных физических факторов, ответственных за стабилизацию комплекса, в том числе, водного окружения, остается невыясненным.

МЕТОДЫ

В работе использовались следующие методы молекулярного моделирования: статистическая термодинамика – для вычисления энтропийных составляющих полной энергии; нелинейное уравнение Пуассона-Больцмана (НУПБ) – для расчета электростатических энергий; молекулярная динамика (МД) – для вычисления гидратации и энергии ван-дер-ваальсовских (ВДВ) взаимодействий; квантовохимические (КХ) методы – для вычисления атомных зарядов, частот колебаний и оценки вероятности переноса заряда. Реализация этих методов выполнялась в пакетах программ молекулярного моделирования Gaussian09W, DelPhi4.0, XPLO3.1 и Getarea1.0. Параметры молекулярной механики соответствовали силовому полю AMBER [10]. Явное задание водного окружения реализовывалось при помощи модели воды TIP3P [11]. Заряды атомов CP и C_{60} вычислялись методом Мерца-Коллмана на уровне теории B3LYP/6-31G** [12]. Также использовались вспомогательные программы: XPLO2D, HyperChem8.0, VMD, ChemCraft для параметризации атом-атомных взаимодействий, построения пространственных структур молекулярных комплексов в водном растворе и их визуализации.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из структурного анализа методом молекулярной механики выяснено, что максимальное количество молекул CP, одновременно связывающихся с C_{60} , равно 15. Соответствующая расчетная пространственная структура показана на рисунке 1. Плоскости крестообразных молекул CP располагаются параллельно плоскостям, касательным к поверхности фуллеренового сфероида на расстоянии $\approx 3,4$ Å от нее. Согласно анализу траектории МД, молекулы CP не проявляют преимущественного расположения над 5- либо 6-членным кольцами фуллерена. По всей видимости, это обусловлено отсутствием у CP ароматического кольца и, как следствие,

Таблица 1. Расчетные энергии ван-дер-ваальсовских взаимодействий (ккал/моль)

n	$G_{\text{solv}}^{\text{CP}}$	G_{solv}^{n-1}	G_{solv}^n	$\Delta G_{\text{vdw}}^{\text{solv}}$	$\Delta G_{\text{vdw}}^{\text{im}}$	ΔG_{vdw}
1	-3,7	-76,2	-61,5	18,4	-7,2	11,2
2		-61,5	-69,5	-4,3	-4,5	-8,8
3		-69,5	-62,3	10,9	-6,9	4
4		-62,3	-58,6	7,4	-6,8	0,6
5		-58,6	-49,0	13,3	-5,2	8,1
6		-49,0	-50,8	1,9	-8,2	-6,3
7		-50,8	-50,0	4,5	-7,2	-2,7
8		-50,0	-40,4	13,3	-5,8	7,5
9		-40,4	-38,4	5,7	-4,4	1,3
10		-38,4	-35,0	7,1	-6,7	0,4
11		-35,0	-32,5	6,2	-6,5	-0,3
12		-32,5	-21,5	14,7	-7,2	7,5
13		-21,5	-19,2	6,0	-6,0	0
14		-19,2	-11,7	11,2	-5,4	5,8
15		-11,7	-14,8	0,6	-6,1	-5,5

Согласно данным таблицы 1, ВДВ взаимодействия свободных молекул CP и C₆₀ ($G_{\text{solv}}^{\text{CP}} = -3,7$ ккал/моль и $G_{\text{solv}}^0 = -76,2$ ккал/моль соответственно) отрицательны, т.е. энергетически выгодны. Однако последовательное связывание новых молекул CP с C₆₀ может сопровождаться образованием новых выгодных ВДВ контактов с водой или нарушением прежних. Поэтому в итоге энергия ВДВ взаимодействий при посадке новых молекул C₆₀ на комплекс, вычисляемая как

$$\Delta G_{\text{vdw}}^{\text{solv}} = G_{\text{solv}}^n - G_{\text{solv}}^{n-1} - G_{\text{solv}}^{\text{CP}}, \quad (2)$$

может быть как положительной (энергетическая невыгодность), так и отрицательной (энергетическая выгодность).

Энергия межмолекулярных ВДВ контактов $\Delta G_{\text{vdw}}^{\text{im}}$ отрицательна при любых n . Это свидетельствует о том, что они стабилизируют комплекс. Суммарная энергия ВДВ взаимодействий ΔG_{vdw} – малая величина, являющаяся результатом взаимной компенсации $\Delta G_{\text{vdw}}^{\text{solv}}$ и $\Delta G_{\text{vdw}}^{\text{im}}$ – принимает различные знаки при разных значениях n (табл. 1).

Результаты вычислений электростатических энергий при комплексообразовании CP с C₆₀ представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, основной вклад в электростатическую энергию комплексообразования вносит высокополярная (из-за наличия атомов N и Cl) молекула CP. Фуллерен C₆₀, наоборот, является практически неполярным, поэтому его энергия электростатических взаимодействий с растворителем $G_{\text{solv}}^0 = -1,5$ ккал/моль на

Таблица 2. Расчетные энергии электростатических взаимодействий (ккал/моль)

n	$G_{\text{solv}}^{\text{CP}}$	G_{solv}^{n-1}	G_{solv}^n	$\Delta G_{\text{el}}^{\text{solv}}$	$\Delta G_{\text{el}}^{\text{im}}$	ΔG_{el}
1	-122.1	-1.5	-122.7	0.9	0.0	0.9
2		-122.7	-241.3	3.5	-4.1	-0.6
3		-241.3	-358.0	5.4	-6.9	-1.5
4		-358.0	-474.6	5.5	-6.0	-0.5
5		-474.6	-592.0	4.7	-7.1	-2.4
6		-592.0	-709.5	4.6	-5.2	-0.6
7		-709.5	-822.2	9.4	-10.9	-1.5
8		-822.2	-939.0	5.3	-6.6	-1.3
9		-939.0	-1054.0	7.1	-10.1	-3
10		-1054.0	-1173.5	2.6	-1.2	1.4
11		-1173.5	-1291.6	4.0	-5.0	-1
12		-1291.6	-1412.6	1.1	1.1	2.2
13		-1412.6	-1532.3	2.4	2.1	4.5
14		-1532.3	-1654.1	0.3	0.8	1.1
15		-1654.1	-1773.1	3.1	1.7	4.8

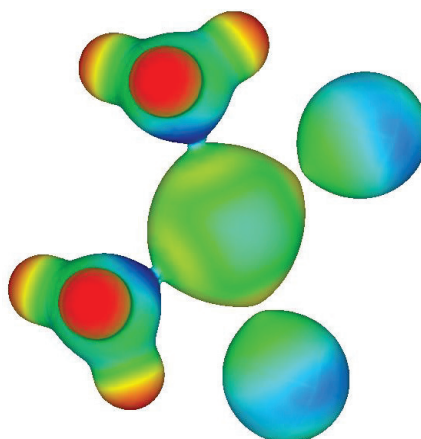


Рисунок 4. Визуализация распределения электростатического потенциала в молекуле цисплатина при помощи пакета GaussView

два порядка меньше, чем для СР (-122,1 ккал/моль). При посадке новых молекул СР на фуллерен величины ΔG_{el}^{solv} и ΔG_{el}^{im} обусловлены в основном взаимодействиями между молекулами СР и могут иметь различные знаки в зависимости от их взаимной ориентации и расположения полярных атомов хлора и аминогрупп (рис. 4).

В целом, сольватационная и кулоновская энергии реакции комплексообразования оказываются небольшими или противоположными по знаку величинами, дающими в сумме малое значение ΔG_{el} (табл. 2).

Расчетные величины SASA A и энергии гидрофобных взаимодействий при связывании СР с C_{60} представлены в таблице 3.

Вычисления показывают, что уменьшение SASA ΔA при образовании комплекса весьма существенно и дает значительный гидрофобный вклад, стабилизирующий исследуемые комплексы. Большой разброс величин ΔG_{hyd} обусловлен упомянутой выше неравномерностью распределения молекул СР по поверхности C_{60} .

Так как молекула C_{60} не имеет донорных и акцепторных групп Н-связей, она не образует ни межмолекулярных Н-связей в комплексе с СР, ни Н-связей с водой. Напротив, молекула СР имеет в своем составе такие группы – NH_3 и Cl (см. рисунок 1). Поэтому вклад водородных связей в связывание СР с C_{60} сводится к частичной дегидратации молекулы СР молекулой C_{60} , а также межмолекулярными Н-связями между молекулами СР.

Расчеты показывают, что молекула СР в свободном состоянии в водном растворе образует 6 Н-связей с молекулами воды. При ее связывании с комплексом « $C_{60}+СР$ » образуются в среднем 4 межмолекулярные Н-связи с уже находящимися в составе комплекса другими молекулами СР, и сохраняются 2 Н-связи с водой. Таким образом, энергетический вклад Н-связей сводится к замене четырех Н-связей СР с водой на 4 межмолекулярные Н-связи между молекулами СР в составе комплекса с C_{60} . При этом данный энергетический эффект учитывается в гидрофобном вкладе. Поэтому в явном виде энергии Н-связей в настоящей работе не представлены.

Расчетные вклады изменения числа степеней свободы в энергию связывания СР с C_{60} представлены в таблицах 4-7.

Таблица 3. Расчетные значения площадей поверхностей, доступных для растворителя (\AA^2) и гидрофобных энергий (ккал/моль)

n	A_{CP}	A_{n-1}	A_n	ΔA	ΔG_{hyd}
1	285	540	657	-168	-8,4
2		657	787	-155	-7,8
3		787	833	-239	-12,0
4		833	889	-229	-11,5
5		889	975	-199	-10,0
6		975	1038	-222	-11,1
7		1038	1072	-251	-12,6
8		1072	1128	-229	-11,5
9		1128	1181	-232	-11,6
10		1181	1218	-248	-12,4
11		1218	1243	-260	-13,0
12		1243	1294	-234	-11,7
13		1294	1294	-285	-14,3
14		1294	1331	-248	-12,4
15		1331	1304	-312	-15,6

Таблица 4. Расчетные величины поступательных вкладов связывания цисплатина с фуллереном C₆₀ (ккал/моль)

n	$-T\Delta S_{CP}$	$-T\Delta S^{n-1}$	$-T\Delta S^n$	$-T\Delta S$	ΔH_{tr}	ΔG_{tr}
1	-12,0	-13,6	-13,7	11,8	-0,9	10,9
2		-13,7	-13,8	11,9		11,0
3		-13,8	-13,9			
4		-13,9	-13,9			
5		-13,9	-14,0			
6		-14,0	-14,1			
7		-14,1	-14,1			
8		-14,1	-14,2			
9		-14,2	-14,3			
10		-14,3	-14,3			
11		-14,3	-14,4			
12		-14,4	-14,4			
13		-14,4	-14,4			
14		-14,4	-14,5			
15		-14,5	-14,5			

Таблица 5. Расчетные величины вращательных вкладов связывания цисплатина с фуллереном C₆₀ (ккал/моль)

n	$-T\Delta S_{CP}$	$-T\Delta S^{n-1}$	$-T\Delta S^n$	$-T\Delta S$	ΔH_{rot}	ΔG_{rot}
1	-8,6	-11,2	-11,6	8,2	-0,9	7,3
2		-11,6	-11,7	8,5		7,6
3		-11,7	-11,8			
4		-11,8	-12,0			
5		-12,0	-12,2	8,4		7,5
6		-12,2	-12,3	8,5		7,6
7		-12,3	-12,4			
8		-12,4	-12,5			
9		-12,5	-12,6			
10		-12,6	-12,6			
11		-12,6	-12,7			
12		-12,7	-12,8			
13		-12,8	-12,9			
14		-12,9	-12,9			
15		-12,9	-13,0			

Таблица 6. Расчетные величины колебательных и общего энтропийного вкладов связывания цисплатина с фуллереном C₆₀ (ккал/моль)

n	ΔG_{tr}	ΔG_{rot}	ΔG_{vib1}	ΔG_{vib2}	ΔG_{entr}
1	11,0	7,3	-1,8	-9,2	7,3
2		7,6			7,6
3					
4					
5					
6		7,6			
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					

Таблица 7. Составляющие полной энергии связывания цисплатина с фуллереном C₆₀ (ккал/моль)

<i>n</i>	ΔG_{vdw}	ΔG_{el}	ΔG_{hyd}	ΔG_{entr}	ΔG_{total}
1	11,2	0,9	-8,4	7,3	11
2	-8,8	-0,6	-7,8	7,6	-9,6
3	4	-1,5	-12,0		-1,9
4	0,6	-0,5	-11,5		-3,8
5	8,1	-2,4	-10,0		3,3
6	-6,3	-0,6	-11,1		-10,4
7	-2,7	-1,5	-12,6		-9,2
8	7,5	-1,3	-11,5		2,3
9	1,3	-3	-11,6		-5,7
10	0,4	1,4	-12,4		-3
11	-0,3	-1	-13,0		7,7
12	7,5	2,2	-11,7	5,7	
13	0	4,5	-14,3	-2,1	
14	5,8	1,1	-12,4	2,2	
15	-5,5	4,8	-15,6	-8,6	

При комплексообразовании молекул происходит потеря трех поступательных и трех вращательных степеней свободы, что сопровождается уменьшением энтропии системы $\Delta S < 0$. Поэтому соответствующие вклады $-T\Delta S$ оказываются положительными, т.е. энергетически невыгодными. При этом энергия потерянных поступательных и вращательных движений выделяется в раствор, чему соответствуют отрицательные (экзотермические) энтальпии $\Delta H < 0$ (табл. 4 и 5).

Однако энтропийный вклад преобладает над энтальпийным $|T\Delta S| > |\Delta H|$, так что в целом потеря поступательных и вращательных степеней свободы дестабилизирует комплекс $\Delta G > 0$. Связывание молекул в растворе сопровождается как появлением новых мод колебаний их химических связей (колебания 1 рода), так и остаточными относительными колебаниями молекул в комплексе (колебания 2 рода). Оба этих процесса, напротив, являются энтропийно выгодными $-T\Delta S < 0$, но невыгодными энтальпийно (эндотермическими $\Delta H > 0$), т.к. энергия возникающих колебаний берется из раствора. Однако и в данном случае энтропийный вклад доминирует над энтальпийным $|T\Delta S| > |\Delta H|$, поэтому возникновение колебаний как 1, так и 2 рода в целом оказываются энергетически выгодными, стабилизирующими комплекс $\Delta G < 0$. Таким образом, имеет место компенсация вкладов возникновения колебаний 1 и 2 рода потерей поступательных и вращательных степеней свободы. Общий энергетический вклад энтропийных составляющих оказывается дестабилизирующим комплекс (табл. 6).

Расчетные величины энергетических вкладов в полную энергию комплексообразования цисплатина с фуллереном C₆₀ представлены в таблице 7.

Как видно из таблицы 7, основной вклад в стабилизацию комплекса вносят гидрофобные взаимодействия, которые являются доминирующим физическим фактором в энергетике комплексообразования. Незначительная роль других вкладов объясняется структурой взаимодействующих молекул. Как упоминалось выше, фуллерен C₆₀ не имеет в своем составе донорных и акцепторных групп Н-связей, а также является незаряженной неполярной молекулой. Это сводит у минимуму электростатические и ВДВ взаимодействия. Молекула СР значительно меньше, чем C₆₀, поэтому ее влияние на колебания химических связей C₆₀ оказывается минимальным. Таким образом, вклад колебаний 1 рода в полную энергию связывания оказывается скомпенсированным потерей поступательных и вращательных степеней свободы, так что энтропийный вклад в целом получается очень малым. Отметим, что незначительность энтальпийных вкладов (ВДВ, электростатических и Н-связей) хорошо согласуется с малой величиной экспериментальной энтальпии реакции комплексообразования СР с C₆₀ [8, 9]. Из таблицы 7 видно, что для $n = 5, 8, 12$ и 14 энергия Гиббса оказывается положительной, т.е. присоединение данных молекул к комплексу получается, согласно расчетам, энергетически невыгодным. Такие результаты вычислений противоречат физическому смыслу комплексообразования и является ошибочными вследствие погрешностей вычисления энергетических вкладов, каждая из которых составляет несколько ккал/моль [14, 15].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные результаты работы могут быть сформулированы следующим образом:

1. Максимальное число молекул СР, связывающихся с молекулой фуллерена, равно 15;
2. Электростатические взаимодействия (как между молекулами в комплексе, так и с водным окружением) весьма слабы в силу электронейтральности обеих молекул и неполярности C₆₀.
3. Межмолекулярные ван-дер-ваальсовские контакты слабо стабилизируют комплекс, а потеря таковых с водой – слабо дестабилизирует. В целом, ВДВ взаимодействия при связывании также незначительны по абсолютной величине в силу малости молекулы СР и отсутствия в ее составе ароматических колец.

4. Частичное разрушение Н-связей СР с водным окружением при связывании с C_{60} компенсируется образованием межмолекулярных водородных связей в комплексе между молекулами СР. Н-связи между СР и фуллереном в комплексе не образуются ввиду отсутствия у C_{60} донорных и акцепторных групп.

5. Гидрофобные взаимодействия вносят самый существенный вклад в стабилизацию комплекса и являются наиболее значимыми.

6. Энтропийные составляющие в силу их взаимной компенсации в целом дают незначительный вклад в полную энергию связывания.

Список литературы / References:

1. Dasari S. [et al.] Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur. J. Pharmacol.*, 2014, vol. 5, pp. 364-378.
2. Rosenberg B. Fundamental studies with cisplatin. *Cancer*, 1985, vol. 55, pp. 2303-2316.
3. Kelland L.R. Preclinical Perspectives on Platinum Resistance. *Drugs*, 2000, vol. 59, suppl. 4, pp. 1-8.
4. El-Khateeb M. [et al.] Reactions of cisplatin hydrolytes with methionine, cysteine, and plasma ultrafiltrate studied by a combination of HPLC and NMR techniques. *J. Inorg. Biochem.*, 1999, vol. 77, pp. 13-21.
5. Anilkumar P. [et al.] Fullerenes for Applications in Biology and Medicine. *Curr. Med. Chem.*, 2011, vol. 18, pp. 2045-2059.
6. Bakry R. [et al.] Medicinal applications of fullerenes. *Int. J. Nanomedicine*, 2007, vol. 2, pp. 639-649.
7. Kroto H.W. [et al.] C_{60} : Buckminsterfullerene. *Nature*, 1985, vol. 318, pp. 162-163.
8. Prylutsky Yu.I. [et al.] Structural self-organization of C_{60} and cisplatin in physiological solution. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2015, vol. 17, pp. 26084-26092.
9. Prylutska S. [et al.] A nanocomplex of C_{60} fullerene with cisplatin: Design, characterization and toxicity. *Beilstein J. Nanotechnol.*, 2017, vol. 8, pp. 1494-1501.
10. Cornell W.D. [et al.] A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic molecules. *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, vol. 117, pp. 5179-5197.
11. Jorgensen W. [et al.] Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J. Chem. Phys.*, 1983, vol. 79, pp. 926-935.
12. Wang J. [et al.] How well does a restrained electrostatic potential (RESP) model perform in calculating conformational energies of organic and biological molecules? *J. Comput. Chem.*, 2000, vol. 21, pp. 1049-1074.
13. Riley K.E. [et al.] On the Importance and Origin of Aromatic Interactions in Chemistry and Biodisciplines. *Accounts of Chemical Research*, 2013, vol. 46, pp. 927-936.
14. Leach A.R. *Molecular Modelling. Principles and Applications*. Harlow, England: Prentice-Hall, 2001.
15. van Gunsteren W.F. [et al.] *Computer Simulations of Biomolecular Systems*. Leiden: ESCOM Science Publishers, 1997.

STRUCTURAL AND ENERGETIC ANALYSIS OF THE COMPLEXATION OF PLATINUM-CONTAINING BIOLOGICAL ACTIVE COMPOUNDS IN THE LIQUID PHASE

Kostyukova L.O.

Nakhimov Black Sea Highest Naval School

Dibenko St., 1a, Sevastopol, 299028; e-mail: lyudmilakostyukova@mail.ru

Abstract. A theoretical analysis of the complexation of anti-tumor drug cisplatin with a biologically active compound fullerene C_{60} was performed by molecular modeling methods. In present work a molecular mechanics and quantum-mechanical calculations of studying compounds in a free state and in the complex were made. The role of the water environment in the stabilization of complex was established. The contributions of various physical factors on the total energy of binding of cisplatin with fullerene C_{60} were calculated. It was found that the mainly hydrophobic interactions were responsible for the stabilization of the complex.

Key words: fullerene C_{60} , cisplatin, complexation, energetic analysis, aqueous solution.