

ОЦЕНКА СВОЙСТВ СВЯЗЫВАНИЯ АКТИНОМИЦИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ С МОЛЕКУЛОЙ ДНК МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

© 2015 г. О.И. Волох*, М.Е. Боздаганян* **, К.В. Шайтан*

*Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, 119234, Москва, Ленинские горы, 1/12;

**Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства, 115682, Москва, Ореховый бульвар, 28

E-mail: olesyavolokh@gmail.com

Поступила в редакцию 12.12.14 г.

После доработки 08.09.15 г.

Методом молекулярной динамики произведена оценка влияния актиномицинов (антибиотиков, используемых в химиотерапии определенных онкологических заболеваний) на упругость фрагмента ДНК и оценка эффективности связывания актиномицинов с фрагментом ДНК. Исследовано влияние введения заместителей аминогруппы и гидроксильной группы в феноксазиновую группировку актиномицина на динамическое поведение и стабильность комплексов фрагмент ДНК–антибиотик. Рассчитаны значения модуля Юнга для структур ДНК/ДНК–актиномицин/ДНК–7-гидроксиактиномицин/ДНК–7-аминоактиномицин. Произведен расчет свободной энергии образования комплексов актиномицина и двух его аналогов с фрагментом ДНК. Полученные результаты свидетельствуют о том, что вводимые заместители стабилизируют структуру фрагмента ДНК за счет формирования дополнительных водородных связей.

Ключевые слова: актиномицин, 7-аминоактиномицин, 7-гидроксиактиномицин, молекулярная динамика.

Актиномицин принадлежит к классу антибиотиков стрептомицетного происхождения, продуцируемых представителями *Streptomyces antibioticus* [1]. Актиномицины способны интеркалировать между парами оснований участков расплетенной ДНК, раздвигая нуклеотиды и деформируя двойную спираль при высоких концентрациях [2–5]. Способность образовывать комплекс данной структуры объясняется строением молекулы актиномицина, состоящей из феноксазиновой хромофорной группировки (называемой актиноцином) и двух замкнутых боковых пентапептидных цепей. Деформация двойной спирали, производимая встроившимся актиномицином, приводит к изменениям механических характеристик комплекса. По механизму биологического действия актиномицины относят к группе избирательно подавляющих синтез нуклеиновых кислот (подавляет синтез РНК), в результате образования комплекса с ДНК-матрицей через дезоксигуаниновые остатки ([1], рис. 1). Актиномицин препятствует перемещению вдоль цепи ДНК матрицы фермента РНК-полимеразы, таким образом останавливая рост цепи РНК. При этом антибиотик стерически ингибирует данную реакцию, не вступая

в непосредственное взаимодействие с ферментом. Актиномицины блокируют функции РНК-полимеразы, конкурентно связываясь с ДНК-матрицей, что свидетельствует о гораздо большем их сродстве к ДНК, чем самого фермента. Синтез рибосомальной РНК более чувствителен к присутствию актиномицина, что определяет его фармакологическую активность. При более высоких концентрациях он ингибирует ДНК-полимеразу, а также может способствовать образованию односторонних разрывов ДНК.

В работах [6–19] проводилось изучение взаимодействия актиномицина Д и 7-аминоактиномицина Д методами экспериментальной и теоретической биофизики, в частности изучались интеркаляция актиномицинов в одноцепочечные и двухцепочечные ДНК, плавление ДНК-актиномициновых кластеров, кинетика встраивания в ДНК, спектроскопия ДНК-актиномициновых комплексов, фотохимическая активность. В работах [7,8] показано, что введение заместителей в положение 7 хромофорной группировки приводит к изменению физико-химических и биологических свойств комплексов. Кинетика встраивания актиномицина Д в рас-

плетенную ДНК имеет две фазы: быструю (секунды) и медленную (минуты). Быстрая фаза соответствует легкому закреплению актиномицина Д внутри расплетений, петель и шпильно-подобных участков, а медленная – проникновению антибиотика в двойную спираль [9]. Методами рентгеноструктурного анализа было показано, что метильные группы феноксазинового цикла входят в большую бороздку ДНК и «заякоривают» таким образом антибиотик, при этом аминогруппа феноксазинового цикла образует пару водородных связей с сахаро-фосфатным остовом ДНК [10,11]. Методами кругового дихроизма и комбинационного рассеяния было показано, что встраивание актиномицинов приводит к значительным изменениям структуры ДНК, в том числе и вне места встраивания по сравнению с другими интеркалирующими гетероциклами [12–15]. Молекулярно-динамические (МД) расчеты со структурами актиномицина и 7-аминоактиномицина с фрагментами ДНК показали стабильность исследуемых структур на траекториях 1 нс. Структура ДНК в приведенных расчетах сохраняет форму В-ДНК, формируется небольшой изгиб в области встраивания антибиотиков, отклонение нуклеотидов от параллельного положения происходит в области интрекаляции феноксазиновой группы [17]. Методами дифференциальной УФ-спектрофотометрии и дифференциальной сканирующей микрокалориметрии были показаны стабилизация ДНК в местах встраивания и повышение ее точки плавления, а также преимущественное встраивание актиномицина во фракцию сателлитной ДНК даже при очень низких концентрациях [5]. В работе [6] методами спектроскопии было показано существование собственной фотохимической активности у актиномицина Д и 7-аминоактиномицина, заметно способствующей фотодеструкции клеток *HeLa* после проникновения перечисленных антибиотиков в клетку. Методом спектроскопии в работе [18] была оценена минимальная энергия взаимодействия актиномицина Д с фрагментом ДНК, составившая порядка 3,7 ккал/моль. Недавние молекулярно-динамические работы [19], посвященные исследованию связывания фрагментов ДНК с лигандами методами термодинамического интегрирования, показывают сходный порядок величин для свободной энергии взаимодействия, с полученными в данной работе ($\Delta G \sim 200\text{--}500$ кДж/моль).

Как и многие другие антибиотики, используемые в химиотерапии, актиномицин не обладает избирательностью действия и характеризуется наличием побочных эффектов, вследствие чего целесообразным является повышение



Рис. 1. Комплекс актиномицина и двухцепочечной ДНК. Феноксазиновая группа вклинивается между парами гуанин–цитозин, пептидные кольца располагаются в малом желобе ДНК, стабилизируя структуру.

средства антибиотика к ДНК с целью снижения дозы и частоты приема. В нашем исследовании рассматривались два аналога актиномицина Д: 7-аминоактиномицин и 7-гидроксиактиномицин, так как данные вводимые заместители способны формировать дополнительные водородные связи, тем самым снижая свободную энергию, не приводя к существенным структурным изменениям комплексов [1].

В данной работе при помощи метода молекулярной динамики производится расчет деформационной свободной энергии связывания актиномицина и двух его аналогов – 7-аминоактиномицина и 7-гидроксиактиномицина (рис. 2) – с фрагментами ДНК для оценки влияния введения заместителей в феноксазиновую группировку на эффективность связывания исходного антибиотика и его аналогов. Изучено влияние формирования комплекса актиномицин–фрагмент ДНК на жесткость фрагмента ДНК, которое оценивалось путем расчета модуля Юнга для комплексов ДНК–актиномицина и его аналогов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Во всех численных экспериментах использовалось силовое поле AMBER [20], модель воды – классическая трехцентровая SPС-Е [21]. Расчет траекторий проводился в NPT-ансамбле при температуре 300 К (термостат Парринелло–Рамана) и с баростатом Нозе–Гувера (изо-

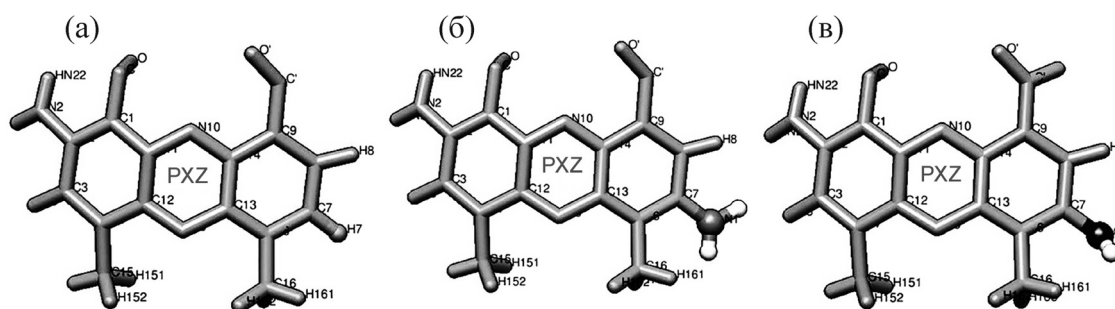


Рис. 2. Структура актиномицина Д и его аналогов. (а) – Исходная структура модифицируемого фрагмента актиномицина. Заместитель вводится в положение 7 феноксазиновой хромофорной группировки. (б) – Модифицированная структура феноксазинового кольца: в 7-е положение введен заместитель – аминогруппа. (в) – Модифицированная структура феноксазинового кольца: в 7-е положение введен заместитель – гидроксильная группа.

тропное давление – все компоненты давления 1 бар). Программный пакет для метода молекулярной динамики – Gromacs 4.0.3 [22]. Для потенциалов Леннарда–Джонса радиус обрезания составлял 1,8 нм [23], для расчета электростатических взаимодействий использовался метод PME (particle mesh Ewald) [24] с радиусом обрезания 1,8 нм [23]. Шаг интегрирования – 1 фс, длина траекторий – не менее 1 нс. Расчет зарядов производили в программном пакете GAMESS в базе 6-31GF с оптимизацией геометрии молекулы. Длина траекторий составляла 2,5 нс для расчета модуля Юнга, 50 нс – для расчета свободной энергии.

В табл. 1 и 2 приведены данные о расчетных системах для каждой задачи.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние актиномицинов на жесткость фрагмента ДНК. Оценка влияния актиномицинов на жесткость фрагмента ДНК производится путем вычисления модуля растяжения соответствующего фрагмента нуклеиновой кислоты (сравниваются значения для фрагмента свободной ДНК и соответствующих комплексов ДНК–антибиотик). Расчеты модуля растяжения фрагмента ДНК/ДНК-лиганд (нуклеосома) описан в работе [25].

Изучаемая структура ДНК–актиномицин с номером 1MNV [26] содержит следующую последовательность нуклеотидов: (5'-ATG|CTGCAT-3'), где | – актиномицин. Струк-

Таблица 1. Данные для расчетной системы в задаче по оценке влияния актиномицинов на жесткость фрагмента ДНК

Система	Размер расчетной ячейки, нм	Количество атомов	Количество противоионов	Длина траектории, нс
ДНК	5,7×8,7×5,7	6939	16	2,5
ДНК+актиномицин	5,7×8,7×5,7	7115	16	2,5
ДНК+7-гидроксиактиномицин	5,7×8,7×5,7	7116	16	2,5
ДНК+7-аминоактиномицин	5,7×8,7×5,7	7118	15	2,5

Таблица 2. Данные для расчетной системы в задаче по оценке эффективности связывания актиномицинов с ДНК

Система	Размер расчетной ячейки, нм	Количество атомов	Количество противоионов	Длина траектории, нс
Актиномицин	4×6×4	3128	0	50
ДНК+актиномицин	4×6×4	3698	16	50
7-аминоактиномицин	4×6×4	3131	0	50
ДНК+7-аминоактиномицин	4×6×4	3701	15	50
7-гидроксиактиномицин	4×6×4	3129	0	50
ДНК+7-гидроксиактиномицин	4×6×4	3699	16	50

туры комплексов ДНК с аналогами актиномицина были получены путем модификации исходной молекулы актиномицина в структуре 1MNV [26] с использованием программы Chimera [27]. Кристаллическая структура с данной последовательностью ДНК была выбрана для дальнейших исследований и модификации, так как наименьшей константой диссоциации обладает комплекс актиномицина с TGC-последовательностью нуклеотидов [28,29]. Для полученных структур ДНК–антибиотик была проведена равновесная молекулярная динамика при 300 К в течение 500 пс для оптимизации структуры молекулы ДНК после введения в актиномицин заместителей в виде амино- и гидроксо-групп, которые изменяют геометрию структуры.

Для измерения модуля упругости методом неравновесной (управляемой) молекулярной динамики фиксировалась верхняя пара азотистых оснований DA5 и DT3; фиксация осуществляется по трем координатам. Противоположному концу фрагмента нуклеиновой кислоты сообщалось ускорение. Ускорения прикладывались к атомам фосфора цепи P8 и P11 (предпоследняя пара оснований, так как на конце DA5 нет фосфата). Величина ускорений равнялась 6, 8 и 10 нм/пс² по координате y соответственно для обеих систем, а соответствующие силы – 9, 12 и 15 ккал/(моль·Å).

Модуль Юнга рассчитывался по формуле: $E = FL_0/(A_0\Delta L)$, где F – сила, приложенная к концу цепи (в Ньютонах), A_0 – поверхность приложения силы (Å²), L_0 – начальное расстояние между центрами масс концевых пар атомов фосфора (нм), ΔL – относительное удлинение соответствующего расстояния (нм).

Параллельно производились расчеты комплексов ДНК–антибиотик и той же структуры ДНК без антибиотика для оценки влияния его на эластичность цепи. Рассчитаны значения модуля Юнга фрагментов ДНК для структур: ДНК, ДНК–актиномицин, ДНК–гидроксиактиномицин, ДНК–аминоактиномицин.

Полученные графики зависимости расстояния между центрами масс концевых пар атомов фосфора в расчетах актиномицин–ДНК/7-гидроксиактиномицин–ДНК/7-аминоактиномицин–ДНК/ДНК приведены на рис. 3.

Результаты определения модуля Юнга для комплексов актиномицин–ДНК/7-гидроксиактиномицин–ДНК/7-аминоактиномицин–ДНК/ДНК приведены в табл. 3.

Как видно из полученных графиков (рис. 3), антибиотики актиномицинового ряда влияют на жесткость фрагмента нуклеиновой кислоты на временах порядка 1 нс (нуклеиновая кислота

с антибиотиком растягивается медленнее на соответствующих временах). О большей жесткости комплекса ДНК–актиномицин говорит также большее значение модуля Юнга по сравнению с ДНК без антибиотика. Однако после 1,5 нс различия в поведении структур практически исчезают. Вероятно, это связано с уменьшением стэкинг-взаимодействий с увеличением расстояния между теми парами нуклеотидов, где есть вставка антибиотика (третья и четвертая пары).

На основании полученных данных можно сделать следующий вывод: актиномицин, 7-гидроксиактиномицин и 7-аминоактиномицин делают соответствующую структуру фрагмента нуклеиновой кислоты более жесткой, что обусловлено, вероятно, стэкинг-взаимодействиями феноксазиновой группировки с парами параллельных азотистых оснований в цепи ДНК. Результат подтверждается большим значением модуля Юнга для более жесткой структуры – комплекса нуклеиновой кислоты и антибиотика 7-аминоактиномицина. Также, при сравнении групп графиков, полученных для различных антибиотиков, видно, что 7-аминоактиномицин стабилизирует ДНК сильнее, чем его аналоги актиномицин и 7-гидроксиактиномицин. В ряду повышения модуля Юнга фрагмента ДНК промежуточное значение занимает комплекс ДНК–7-гидроксиактиномицин, располагаясь между комплексами ДНК–актиномицин и ДНК–7-аминоактиномицин. Об этой тенденции поведения актиномициновых комплексов также говорится в литературе (см. [2]).

Совпадение по порядку величин расчетных данных с экспериментальными [30–32], а также корреляция результатов расчетов с литературными данными [2] позволяют говорить об адекватности молекулярно-динамических моделей комплексов ДНК–антибиотик и использовать полученные структуры для дальнейших исследований.

Изучение эффективности связывания актиномицинов с ДНК. В задаче по расчету свободной энергии Гиббса использовались те же входные структуры, что и для расчета модуля растяжения.

Расчет деформационной свободной энергии производился методом «термодинамического интегрирования»: $G^B(p,T) - G^A(p,T) = \int \langle \partial H / \partial \lambda \rangle_{NPT} d\lambda$. Метод «термодинамического интегрирования» является одним из основных и повсеместно применяемых приемов оценки свободной энергии методом молекулярной динамики [24,33–35].

Параметр λ , влияющий на форму потенциала в гамильтониане, дискретно изменялся от 0

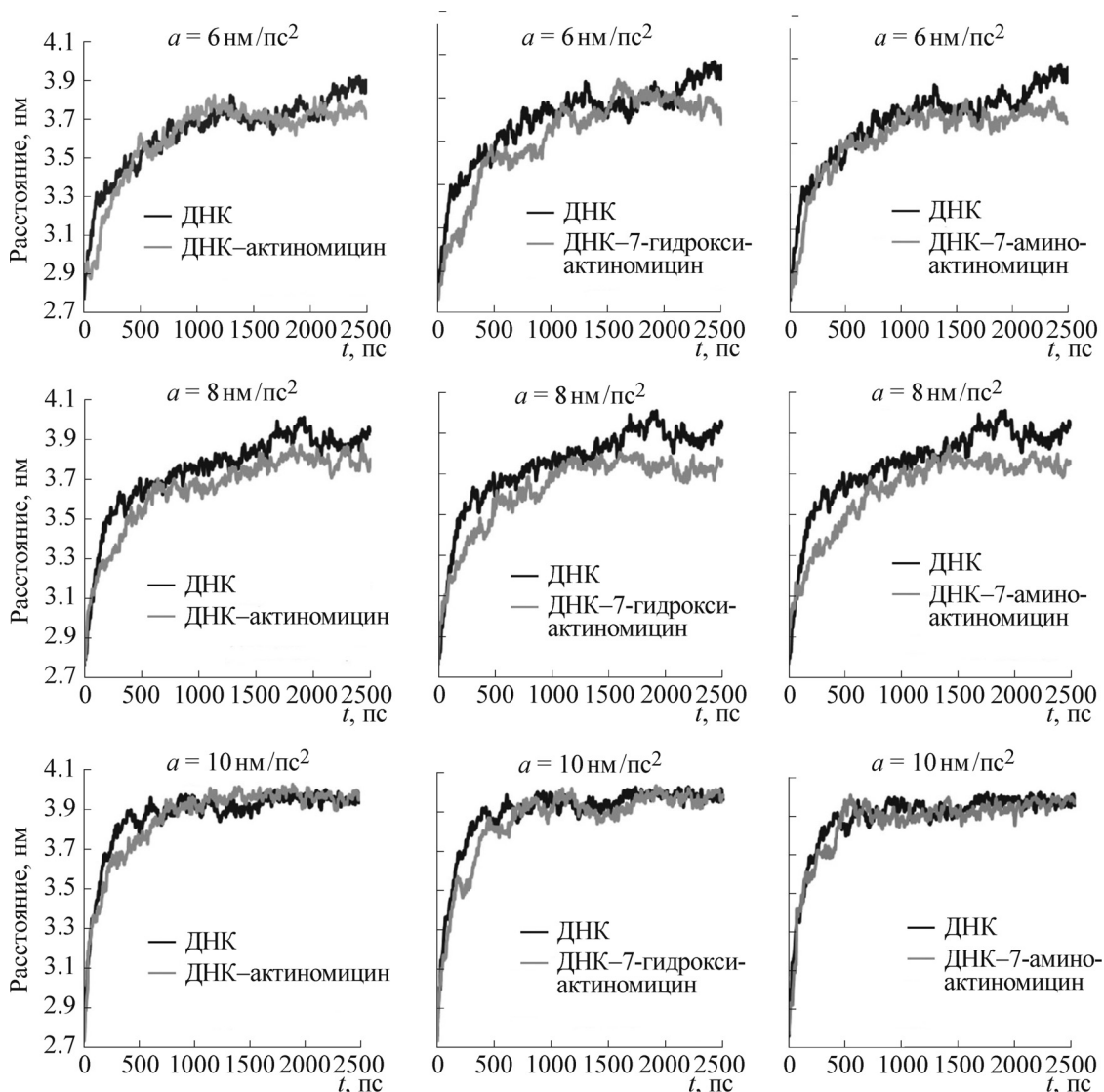


Рис. 3. Графики зависимости расстояния между центрами масс концевых пар атомов фосфора при соответствующих ускорениях для ДНК и комплексов ДНК–актиномицин, ДНК–7-гидроксиактиномицин, ДНК–7-аминоактиномицин.

до 1 (рассматривалось 14 точек: $\lambda = 0, 0,1, 0,15, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 0,95, 0,975, 1,0$). Для каждого значения параметра была проведена динамика комплексов в воде при 300 К в течение 2,5 нс. В ходе динамики на каждом шаге траектории рассчитывали значение энергии, далее эти значения усреднялись по времени. В соответствии с методикой тер-

модинамического интегрирования [22] рассчитывали два термодинамических цикла: антибиотик–вода (ΔG_1) и антибиотик–ДНК–вода (ΔG_2). Значение свободной энергии взаимодействия антибиотик–ДНК вычисляли по формуле: $\Delta G_{\text{int}} = \Delta G_2 - \Delta G_1$.

Рассчитываемая при помощи данной методики энергия не является эквивалентной изме-

Таблица 3. Значения модуля Юнга для ДНК и комплексов ДНК–актиномицин, ДНК–7-гидроксиактиномицин, ДНК–7-аминоактиномицин

Модуль Юнга E , Па			
ДНК $1,0 \times 10^9$	ДНК–актиномицин $1,9 \times 10^9$	ДНК–7-гидроксиактиномицин $2,4 \times 10^9$	ДНК–7-аминоактиномицин $2,6 \times 10^9$

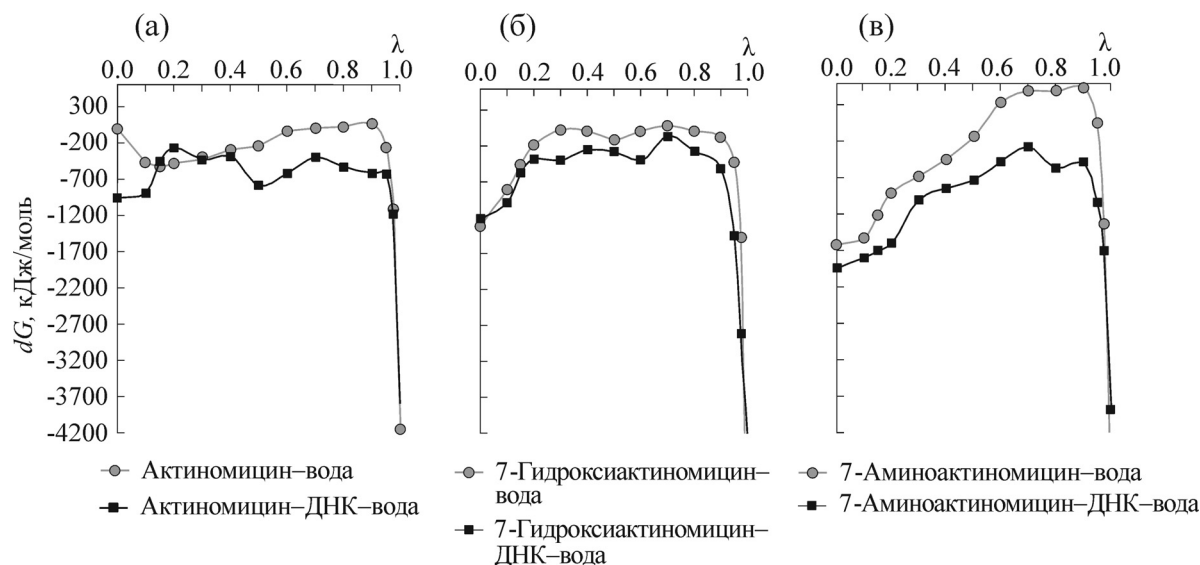


Рис. 4. Результаты расчета деформационной свободной энергии комплекса ДНК-антибиотик. Зависимость $dG/d\lambda$ от λ для систем различных систем: (а) – актиномицин–вода и актиномицин–ДНК–вода, (б) – 7-гидроксиактиномицин–вода и 7-гидроксиактиномицин–ДНК–вода, (в) – 7-аминоактиномицин–вода и 7-аминоактиномицин–ДНК–вода.

ряемой экспериментально величине свободной энергии. Методика позволяет рассчитать энергию «взаимодействия» двух компонентов системы. Вычисляемые величины при сравнении друг с другом дают качественно верную картину.

Полученные из молекулярно-динамических расчетов зависимости « $dH/d\lambda$ » (эквивалентная зависимости « $dG/d\lambda$ ») от λ для каждого из антибиотиков приведены на рис. 4.

В результате расчетов были получены следующие значения для деформационной свободной энергии комплексов антибиотик–ДНК (табл. 4), составляющие порядка 500 кДж/моль, что говорит о практически необратимом связывании актиномицина и его производных с рассматриваемым участком ДНК.

Наибольшее значение деформационной свободной энергии было получено для немодифицированной формы антибиотика $\Delta G_{\text{актиномицин-ДНК}} = -468 \pm 0,2$ кДж/моль. Следующим по величине было значение свободной энергии для гидроксизамещенной формы актиномицина: $\Delta G_{7\text{-гидроксиактиномицин-ДНК}} = -496 \pm 0,2$ кДж/моль.

Наименьшим среди сравниваемых энергий было значение, полученное для аминозамещенной формы актиномицина: $\Delta G_{7\text{-аминоактиномицин-ДНК}} = -619 \pm 0,2$ кДж/моль. Указанные погрешности учитывают математическую ошибку величин.

Основываясь на полученных данных, можно рассчитать вклад заместителей в положении 7 феноксазиновой группировки по сравнению с водородом в данном положении (табл. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В исследованных случаях растяжения молекулы ДНК наличие актиномицина, встроенного в структуру фрагмента ДНК, приводит к увеличению жесткости фрагмента цепи. Согласно поставленным вычислительным экспериментам, фрагмент молекулы ДНК без антибиотика растягивался быстрее, чем та же структура с молекулой актиномицина и его аналога соответственно. Рассчитанные значения модуля Юнга для ДНК по порядку величины хорошо согласуются с экспериментальными данными (порядка 10^9 Па) [30–32]. Увеличение жесткости ДНК

Таблица 4. Рассчитанные деформационные свободные энергии связывания антибиотик–ДНК

Название антибиотика	$\Delta G(\text{антибиотик-H}_2\text{O})$, кДж/моль	$\Delta G(\text{антибиотик-ДНК-H}_2\text{O})$, кДж/моль	$\Delta G(\text{антибиотик-ДНК})$, кДж/моль
Актиномицин	$-304 \pm 0,1$	$-772 \pm 0,1$	$-468 \pm 0,2$
7-гидроксиактиномицин	$-841 \pm 0,1$	$-345 \pm 0,1$	$-496 \pm 0,2$
7-аминоактиномицин	$-347 \pm 0,1$	$-966 \pm 0,1$	$-619 \pm 0,2$

Таблица 5. Энергетические вклады заместителей актиномицина в положении 7

Вклад NH ₂ -группы	-151 ± 0,4 кДж/моль
Вклад OH-группы	-28 ± 0,4 кДж/моль

при связывании ее с антибиотиками подтверждает предположение о возможной стабилизации структуры за счет формирования дополнительных связей. Большая стабилизация наблюдается для аминозамещенного антибиотика, что можно объяснить способностью NH₂-группировки образовывать дополнительную водородную связь.

Из полученных в вычислительном эксперименте данных видно, что деформационная свободная энергия связывания 7-аминоактиномицина с ДНК существенно ниже, чем у гидроксизамещенного аналога и немодифицированной молекулы актиномицина. Вероятно, больший вклад аминогруппы по сравнению с гидроксилом обусловлен, скорее всего, количеством образуемых дополнительных водородных связей. Полученные результаты качественно коррелируют с экспериментальными (сообщается, что наилучшие результаты по связыванию антибиотик-ДНК достигались также в опытах с 7-аминоактиномицином [17]).

Базируясь на результатах, можно предполагать, что для достижения того же эффекта можно взять меньшее количество 7-аминоактиномицина, чем его гидроксизамещенного аналога или немодифицированного антибиотика, что может позволить снизить токсичность препарата и ослабить его побочные эффекты. Используемая методика позволяет получить качественную картину по оценке деформационной свободной энергии взаимодействия, так как он не позволяет рассчитать энергию водородных связей и диполь-дипольных взаимодействий. Однако использование метода термодинамического интегрирования позволяет уменьшить время симуляции, получив качественно верную картину.

Вычислительные работы производились на суперкомпьютерном комплексе «Ломоносов» МГУ им. М.В. Ломоносова.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 14-14-00234.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Н. С. Егоров, *Основы учения об антибиотиках*, 6-е изд. (Изд-во МГУ, М., 2004).
2. Н. Sobell, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82**, 5328 (1985).
3. N. Vekshin and A. Kovalev, *J. Biochem.* **140**, 185 (2006).
4. J. Gill, M. Jotz, S. Young, et al., *J. Histochem. Cytochem.* **23** (11), 793 (1975).
5. N. Vekshin, *J. Biochem.* **149** (5), 601 (2011).
6. Н. Л. Векшин, *Биомед. химия* **59** (3), 349 (2013).
7. Н. С. Егоров, А. Б. Силаев и Г. С. Катруха, *Антибиотики-полипептиды* (Изд-во МГУ, М., 1987).
8. Н. Л. Векшин, *Флуоресцентная спектроскопия биополимеров* (Фотон-век, Пушкино, 2008).
9. N. L. Vekshin and A. E. Kovalev, *J. Biochem.* **140**, 185 (2006).
10. J. Meienhofer and E. Atherton, *Structure-activity relationship among the semisynthetic antibiotics*, Ed. by D. Perlman (Academic Press Inc., N.-Y., 1977), pp. 427–529.
11. E. F. Gale, E. Cunliffe, P. E. Reynolds, et al., *The Molecular Basis of Antibiotic Action* (John Wiley and Sons, London, 1981).
12. L. Chinsky and P. Y. Turpin, *Nucl. Acids Res.* **5** (8), 2969 (1978).
13. M. Hou, H. Robinson, Y. G. Gao, and A. H. Wang *Nucl. Acids Res.* **30** (22), 4910 (2002).
14. C. A. Frederick, G. J. Quigley, M. K. Teng, et al., *Eur. J. Biochem.* **181** (2), 295 (1989).
15. G. J. Quigley, A. H.-J. Wang, G. Ughetto, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **77**, 7204 (1980).
16. Н. Л. Векшин, *Биофизика ДНК-актиномициновых нанокмлексов* (Фотон-век, Пушкино, 2009).
17. S. K. Sengupta, J. E. Anderson, and C. Kelley, *J. Med. Chem.* **25**, 1214 (1982).
18. М. М. Хайретдинова и Н. Л. Векшин, *Биоорган. химия* **40** (1), 64 (2014).
19. E. Marco, A. Negri, F. Gago, et al., *Nucl. Acids Res.* **33** (19), 6214 (2005).
20. *Amber Tools Users Manual*, <http://ambermd.org/>.
21. H. J. C. Berendsen, J. R. Grigera, and T. P. Straatsma, *J. Phys. Chem.* **91** (24), 6269 (1987).
22. Gromacs manual 4.0.3.
23. M. Levitt, M. Hirshberg, R. Sharon, and V. Daggett, *Comput. Phys. Comm.* **91** (1–3), 215 (1995).
24. T. A. Darden and L. G. Pedersen, *Environ. Health Perspect.* **101**, 410 (1993).
25. A. Garai, S. Saurabh, Y. Lansac, and P. K. Maiti, *J. Phys. Chem. B*, **119** (34), 11146 (2015).
26. RCSB Protein Data Bank, www.rcsb.org.
27. UCSF Chimera molecular visualization application, www.cgl.ucsf.edu/chimera.
28. H. M. Sobeli and S. C. Jain, *J. Mol. Biol.* **68**, 21 (1972).
29. J. Goodisman, R. Rehfuss, B. Wang, and J. C. Dabrowiak, *Biochemistry* **31**, 1046 (1992).
30. S. Cocco, J. Marco, and R. Monasson, *C. R. Physique* **3**, 569 (2002).
31. J. Marco and S. Cocco, *Physics world*, № 3, 37 (2003).
32. K. Bloom, *Chromosoma*, **117** (2), 103 (2008).
33. S. R. Varanasi, O. A. Guskova, A. John, and J.-U. Sommer, *J. Chem. Phys.* **142** (22), 224308 (2015).

34. N. Bieler and P. Hunenberger, *J. Comp. Chem.* 36 (22), 1686 (2015).
35. A. Y. Mehandzhiyski, E. Riccardi, T. S. van Erp, et al., *J. Phys. Chem. B*, **119**, 10710 (2015).

Assessment of Binding Properties of Actinomycin and Its Derivatives with DNA Molecule Using Molecular Dynamics Simulation Method

O.I. Volokh*, **M.E. Bozdaganyan* ****, and **K.V. Shaitan***

**Department of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/12, Moscow, 119234 Russia*

***Federal Research Clinical Center of the Specialized Types of Health Care and Medical Technologies, Federal Medical Biological Agency of Russia, Orekhovyi bulvar 28, Moscow, 115682 Russia*

Molecular dynamics simulation method was used to assess an influence of actinomycins (antibiotics used in chemotherapy for treatment of some oncology diseases) on DNA fragment elasticity. Also the efficiency of binding of actinomycin to DNA fragment was estimated. Energetic contributions of different substitutions of hydroxyl and amino-group to the phenoxazine ring of actinomycin were studied to analyze dynamic behavior and stability of antibiotic–DNA fragment complexes. Young modulus values were calculated for structures: DNA/DNA–actinomycin/DNA–7-hydroxyactinomycin/DNA–7-aminoactinomycin. Free energy calculations were performed for the formation of actinomycin– and two actinomycin analogues–DNA fragment complexes. Our results suggest that the inserted substitutions stabilize the structure of a DNA fragment via the formation of additional hydrogen bonds.

Key words: actinomycin, 7-aminoactinomycin, 7-hydroxyactinomycin, molecular dynamics