ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆԻ ԳԻՏԱԿԱՆ ՏԵՂԵԿԱԳԻՐ
УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ ЕРЕВАНСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

Բնական գիտություններ 2, 2008 Естественные науки

Կենսաբանություն

УДК 577.3

Շ. Ա. ՍԱՐԳՍՅԱՆ

ԴՆԹ-Ի ՀԵՏ *cis*-ԴԻՔԼՈՐԴԻԱՄԻՆՊԼԱՏԻՆԻ ԵՎ *cis*-ԴԻՔԼՈՐԴԻԱՄԻՆՊԱԼԱԴԻՈՒՄԻ ԿՈՄՊԼԵՔՍՆԵՐԻ ՀԱՄԵՄԱՏԱԿԱՆ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆԸ

Հայտնի է, որ *cis*-դիքլորդիամինպլատին (*cis*-DDPt) միացությունը հանդիսանում է հակաուռուցքային պրեպարատ և հաջողությամբ կիրառվում է ուռուցքների քիմիաթերապիայում [1–3]: Բազմաթիվ փորձարարական տվյալներ ցույց են տվել, որ այդ միացությունը կովալենտ կապեր է առաջացնում գուանինների N(7) ատոմների միջև ԴՆԹ-ում [1,4,5]: Հայտնի է, որ *cis*-DDPt-ի մոլեկուլների 95%-ը կովալենտ կայուն կապեր է առաջացնում ԴՆԹ-ի d(GpG) և d(GpXpG) տիպի հաջորդականությունների գուանինների հետ: Այդ հատվածների հագեցումից հետո *cis*-DDPt-ն կարող է կապվել նաև d(ApG) տիպի հաջորդականությունների հետ: *cis*-DDPt-ի մոտավորապես 1%-ը փոխազդում է ԴՆԹ-ի հետ՝ հակադիր շղթաների գուանինների միջև առաջացնելով կամրջակներ: Ընդհանուր պլատինացման 5%-ը կազմում են մոնոֆունկցիոնալ կոմպլեքսները: Ցույց է տրված նաև, որ ԴՆԹ-ի հետ *cis*- DDPt-ի կոնկրետ տիպի միացումը կախված է պլատինային միացության կոնցենտրացիայից: ԴՆԹ-ի հետ *cis*-DDPt-ի կովալենտ կապման արդյունքում ԴՆԹ-ի կառուցվածքը էականորեն փոփոխվում է, որն էլ, իր հերթին, հանգեցնում է ԴՆԹ-ի հալման բնութագրերի փոփոխությանը [4]:

ԴՆԹ-ի հետ *cis*-DDPt-ի և *cis*-դիքլորդիամինպալադիում (*cis*-DDPd) միացության փոխազդեցության առանձնահատկությունների միջև նմանությունները թույլ են տալիս ենթադրելու, որ *cis*-DDPd-ն նույնպես կարող է իր ֆունկցիոնալ ակտիվությամբ նմանվել *cis*-DDPt-ին [6]:

Աշխատանքի նպատակն է եղել ուսումնասիրել ԴՆԹ-ի հետ *cis*-DDPt-ի և *cis*-DDPd-ի փոխազդեցության առանձնահատկությունները, ինչպես նաև այդ կոմպլեքսների հալման պարամետրերի՝ հալման ջերմաստիճանի (T_m) և հալման միջակայքի (ΔT) փոփոխման առանձնահատկությունների պարզաբանումը:

Նյութեր և մեթոդներ: Աշխատանքում օգտագործվել են հետևյալ նյութերը. հորթի ուրցագեղձի ԴՆԹ (միջին GC-պարունակությունը՝ X_{GC}=42%, ՌՆԹ-ի պարունակությունը <0,1%, սպիտակուցների պարունակությունը <0,2%, մոլեկուլային զանգվածը՝ $3\cdot10^7$ Դալտոն)՝ անջատված Դ.Յու. Լանդոյի կողմից (ԳԱ ԿՕՔԻ, Բելառուս), *cis*-DDPt(II) և *cis*-DDPd(II) (Sigma Chem. Comp., ԱՄՆ):

ԴՆԹ-ի կոնցենտրացիան որոշվել է սպեկտրալուսաչափական եղանակով, 260 *նմ* երկարության ալիքով, ըստ մարման մոլային գործակցի՝ ε_{260}=6600 *լ·մոլ*$^{-1}$*սմ*$^{-1}$: *cis*-DDPt-ի և *cis*-DDPd-ի կոնցենտրացիաները պատրաստվել են կշռման եղանակով և փոփոխվել են $10^{-5}<r_b<3\cdot10^{-1}$ միջակայքում, որտեղ r_b-ն ԴՆԹ-ի հիմքերի զույգերի հետ լիգանդի կապված մոլեկուլների թիվն է՝ $r_b=C_{Me}/C_{ԴՆԹ}$: *cis*-DDPt-ի և *cis*-DDPd-ի աշխատանքային լուծույթները ստացվել են՝ բուֆերով սկզբնական խիտ լուծույթը նոսրացնելով: Հետազոտությունները կատարվել են 10^{-2} *մոլ* $NaClO_4$+10^{-3} *մոլ* NaCl բաղադրությամբ բուֆերում: Իոնական ուժը կազմել է 0,01 *M* Na^+, ԴՆԹ-ի կոնցենտրացիան եղել է 25 *մկգ/մլ*:

Չափումները կատարվել են UNICAM-SP8-100 (Անգլիա) սպեկտրալուսաչափի օգնությամբ: ԴՆԹ-ի և *cis*-DDPt-ի ու *cis*-DDPd-ի հետ նրա կոմպլեքսների հալումը իրականացվել է ՈՒՄ-սպեկտրալուսաչափական եղանակով: Կլանման արժեքները դուրս են բերվել HP 97S I/O միկրոհաշվիչի օգնությամբ: Հալման կորերի ստացման համար ԴՆԹ-ի լուծույթի ջերմաստիճանը փոփոխվել է տաքացման անընդհատ ռեժիմով՝ 0,25 *աստ/րոպ* արագությամբ: Հալումը կատարվել է 1 *սմ* օպտիկական ուղիով, տեֆլոնե հերմետիկ կափարիչներով փակվող կվարցե կյուվետներում, որոնք տեղադրվել են ջերմակայունացվող խցիկներում: Ջերմաստիճանի չափման ճշգրտությունը կազմել է 0,025^0*C*: Սպեկտրալուսաչափի օպտիկական կլանման ճշգրտությունը կազմել է $5\cdot10^{-4}$ օպտիկական միավոր: Չափումները կատարվել են ն 25–95^0*C* ջերմաստիճանային միջակայքում: ԴՆԹ-ի հետ *cis*-DDPt և *cis*-DDPd-ի կոմպլեքսների հալման կորերը և հալման պարամետրերը որոշվել են հայտնի եղանակով [7]:

Ստացված արդյունքները և դրանց քննարկումը: Հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ ԴՆԹ-ի հետ *cis*-DDPt-ի և *cis*-DDPd-ի կոմպլեքսների կապման մեխանիզմները այդ միացությունների կոնցենտրացիայից կախված տարբեր են: Աղյուսակում բերված են ԴՆԹ-ի հետ *cis*-DDPt-ի և *cis*-DDPd-ի կոմպլեքսների հալման պարամետրերի՝ T_m-ի և ΔT-ի արժեքները տարբեր կոնցենտրացիաների դեպքում: Ինչպես երևում է բերված տվյալներից, *cis*-DDPt-ի գերցածր կոնցենտրացիաների դեպքում կոմպլեքսների T_m-ը աճել է, իսկ ավելի բարձր կոնցենտրացիաների դեպքում, ընդհակառակը, նվազել է:

Հայտնի է, որ *cis*-DDPt-ն առաջացնում է 1–2 բիֆունկցիոնալ կապեր գուանինի N(7) ատոմների հետ d(GpG) տիպի հաջորդականություններում: Դրա հետևանքով տեղի է ունենում ԴՆԹ-ի կոնֆորմացիայի փոփոխություն, քանի որ նրա նուկլեոտիդներում շաքարային օղակը կատարում է C_2-էնդո→C_3-էնդո կոնֆորմացիոն անցում, ինչն էլ, ըստ էության, համապատասխանում է B→A կոնֆորմացիոն փոխարկմանը ԴՆԹ-ում [8, 9]: Փաստորեն ԴՆԹ-ի այն տեղամասերում, որտեղ գտնվում են կապման կենտրոնները, հնարավոր են B–A տիպի անցումներ (շրջանային դիքրոիզմի սպեկտրների վրա դրական շերտի աճ է նկատվում), որոնք, կարծես, կարող են հանգեցնել ԴՆԹ-ի ջերմակայունության էական փոփոխության [10, 11]: Սակայն նմանատիպ կենտրոնների փոքր կոնցենտրացիան բացառում է դա: Երկրորդ հավանական պատճառը, որի հետևանքով էապես կարող են փոփոխվել T_m-ի և ΔT-ի արժեքները, ԴՆԹ-ի երրորդային կառուցվածքում տեղի ունեցող հնարավոր փոփոխություններն են կամ պարուրվածության բարձր

աստիճանի դեպքում՝ լիգանդների միջև գործող հեռազդեցության պոտենցիալի փոփոխությունը: Այս գործոնների նույնիսկ շատ թույլ փոփոխության դեպքում նկատվում են մակրոմոլեկուլի պարույր–կծիկ անցման պարամետրերի փոփոխություններ: T_m-ի և ΔT-ի փոփոխությունների պատճառ ԴՆԹ-Me կոմպլեքսառաջացման արդյունքում կարող է լինել նաև ԴՆԹ-ի գումարային լիցքի փոփոխությունը [12–14]: Ցույց է տրված նաև, որ *cis*-DDPt-ն, կապվելով ԴՆԹ-ի հետ, առաջացնում է կրկնակի պարույրի խաթարումներ, ընդ որում, կարող են առաջանալ ինչպես միաշղթա, այնպես էլ երկշղթա խզումներ, երբ $r_b>10^{-3}$ [15]: Ավելի փոքր կոնցենտրացիաների դեպքում ($10^{-5}<r_b<10^{-3}$) խիստ փոխվում է ԴՆԹ-ի երրորդային կառուցվածքը [16, 17], և *cis*-DDPt-ն կարող է իրար կարել ԴՆԹ-ի տարբեր շղթաների գուանինները, որոնք զգալիորեն հեռու են իրարից (մի քանի հարյուր զույգ հիմքերով), առաջացնելով կեղծ օղակաձև կառուցվածքներ: Այս փոփոխությունները էական ազդեցություն են թողնում ԴՆԹ-ի հալման պարամետրերի վրա: Ընդ որում, պետք է նշել, որ *cis*-DDPt-ի հետ փոխազդեցության արդյունքում տեղի ունեցող փոփոխությունները ավելի արտահայտված են pdGpdC հաջորդականություններում: *cis*-DDPt-ի բարձր կոնցենտրացիաների դեպքում տեղի է ունենում ԴՆԹ-ի մոլեկուլի կտրատում, և $r_b\approx10^{-1}$-ից սկսած pdGpdC հաջորդականությունների հալման կորը դառնում է երկաստիճան, որը, հավանաբար, հետևանք է տարբեր ֆրակցիաների (գծային և օղակաձև) հալման:

ԴՆԹ-ի հետ cis-DDPt-ի և cis-DDPd-ի կոմպլեքսների T_m-ի և ΔT-ի արժեքների կախվածությունը r_b-ից

Կոմպլեքսը	r_b	T_m ^0C	ΔT ^0C
ԴՆԹ-*cis*-DDPt	0	68,0±0,15	10,0±0,10
	0,00003	69,1±0,13	10,1±0,11
	0,003	65,1±0,11	10,3±0,11
	0,03	63,7±0,11	12,0±0,10
	0,3	58,6±0,12	12,6±0,10
ԴՆԹ-*cis*-DDPd	0	68,0±0,15	10,0±0,10
	0,00001	70,3±0,12	10,5±0,11
	0,001	63,4±0,10	11,1±0,11
	0,005	58,1±0,11	12,4±0,10
	0,1	54,3±0,15	12,9±0,10

Մեր կողմից ստացված ԴՆԹ–*cis*-DDPd կոմպլեքսների հալման պարամետրերի արժեքներից (տես աղյուսակը) երևում է, որ այս դեպքում ևս գերցածր կոնցենտրացիաների տիրույթում կոմպլեքսների հալման ջերմաստիճանը զգալիորեն աճում է: Այս երևույթը նշված երկու միացությունների դեպքում էլ չի կարող բացատրվել ԴՆԹ–լիգանդ փոխազդեցության հայտնի տեսությունների շրջանակներում: Նշված տիրույթում մի քանի տասնյակ հազար նուկլեոտիդներին բաժին է ընկնում լիգանդի մեկ մոլեկուլ: Ելնելով [17] աշխատանքից, գնահատվել է լիգանդ–նուկլեոտիդ հարաբերական կոնցենտրացիային համապատասխանող մակրոմոլեկուլի T_m-ի փոփոխությունը: Հաշվարկները ցույց են տվել, որ լիգանդի վերը նշված կոնցենտրացիաների

տիրույթում մեկ կապման կենտրոնին բաժին են ընկնում մի քանի տասնյակ հազար նուկլեոտիդներ և այդ պայմաններում անհավանական է T_m-ի զգալի աճը: Հետևաբար, վերը բերված տվյալները թույլ են տալիս եզրակացնելու, որ հալման ջերմաստիճանի և հալման միջակայքի աճը *cis*-DDPd-ի գերցածր կոնցենտրացիոն տիրույթում կարող է պայմանավորված լինել օղակաձև կառուցվածքների առաջացմամբ [18, 19]:

Այսպիսով, հաշվի առնելով ԴՆԹ-ի հետ *cis*-DDPt-ի և *cis*-DDPd-ի կոմպլեքսների համար ստացված տվյալների զգալի համապատասխանությունը, մենք ենթադրում ենք, որ *cis*-DDPd-ի կոնցենտրացիայի աճին զուգընթաց ևս ԴՆԹ-ում հնարավոր է վնասված տեղամասերի առաջացում: Այդ պատճառով հալման ջերմաստիճանը սկսում է նվազել, որն ուղեկցվում է հալման միջակայքի լայնության որոշակի աճով (տես. [20]): Ընդ որում, *cis*-DDPd-ի դեպքում վերը նշված էֆեկտները ի հայտ են գալիս ավելի փոքր կոնցենտրացիաների դեպքում, ինչը կարող է պայմանավորված լինել այդ մետաղների ատոմների կառուցվածքային տարբերություններով:

Կենսաֆիզիկայի ամբիոն *Ստացվել է 20.11.2007*

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. **Ахрем А.А., Арутюнян С.Г., Асланян В.М., Далян Е.Б., Ландо Д.Ю., Шпаковский А.Г.** – Молекулярная биология, 1989, т. 23, № 2, с. 518–525.
2. **Alink M., Nakahara H., Hirano T., Inagaki K., Nakanishi M., Kidani Y., Reedijk J.** – Inorg. Chem., 1991, v. 30, p. 1236–1241.
3. **Белинцев Б.Н., Гагуа А.В.** – Молекулярная биология, 1989, т. 23, с. 52–60.
4. **Reedijk J.** – J. Inorg. Biochem., 1991, v. 43, p. 80.
5. **Рытов С.М.** Случайные процессы. М.: Наука, 1976, 494 с.
6. **Gonzales M.L., Tercero J.M., Matilla A., Niclos-Gutierrez J., Fernandez M.T., Lopez M.C., Alonso C., Gonzales S.** – Inorg. Chem., 1997, v. 36, p. 1806–1812.
7. **Wartell R.M., Benight A.S.** – Physics reports, 1985, v. 126, № 2, p. 67–107.
8. **Coluccia M., Boccarelli A., Cermelli C., Portolani M., Natile G.** – Metal-Based Drugs, 1995, v. 2, № 5, p. 249–256.
9. **Haroutiunian S.G., Bruni B., Monnani R., Orioli P., Mangani S.** – Inorg. Chemica Acta, 1991, v. 184, p. 901.
10. **Sherman S.E., Lippard S.J.** – Chem. Rev., 1987, v. 87, № 5, p. 1153–1181.
11. **Macquet J.P., Butour J.L.** – Biochimie, 1978, v. 60, p. 901–914.
12. **Teo B.K., Eisenberger P., Reed J., Barton I.K., Lippard S.J** – J. Am. Chem. Soc., 1978, v. 100, № 10, p. 3225–3227.
13. **Haroutiunian S.G., Dalyan E.B., Morozov V.F., Mamasachlissov Eu. Sh., Shahinian M.S., Akhrem A.A., Lando D.Y., Messori L., Orioli P.** – Inorg. Chemica Acta, 1998, v. 275–276, p. 510–514.
14. **Horsthemke W., Lefever R.** – Biophys. J., 1981, v. 35, p. 415–420.
15. **Yurgaitis A.P., Lazurkin Yu. S.** – Biopolimers. 1981, v. 20, p. 967.
16. **Rondaschel-Sieber G., Mazzilli L.G., Lippert B., Shinozuka K.** – Inorg. Chem., 1985, v. 24, p. 989–990.
17. **Coste F., Malinge J.-M., Serre L., Shepard W., Roth M., Leng M., Zelwer C.** – Nucleic Acids Research, 1999, v. 27, № 8, p. 1837–1846.
18. **Vrana O., Brabec V., Kleinwacher V., Jobson N.P.** – V International Simposium on Platinum and other metal Coordination in Cancer Chemotherapy. ABANO, Italy, 1987, p. 68.

19. **Miller D.P., Ho K.M., Arony H.Y.** – Biochemistry, 1988, v. 27, p. 8599–8606.
20. **Кантор У., Шиммел П.** – Биофизическая химия. Т. 3. М.: Мир, 1985.

Ш. А. САРКИСЯН

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСОВ *cis*-ДИХЛОРДИАМИНОПЛАТИНЫ И *cis*-ДИХЛОРДИАМИНОПАЛЛАДИЯ С ДНК

Резюме

Проведено сравнительное исследование плавления комплексов *cis*-дихлордиаминоплатины и *cis*-дихлордиаминопалладия с ДНК. Выявлено, что температура плавления T_m комплексов ДНК с обоими соединениями при их низких концентрациях возрастает, в то время как при увеличении концентрации этих соединений, наоборот, T_m уменьшается.

Sh. A. SARGSYAN

COMPARATIVE STUDY OF COMPLEXES *cis*-DICHLORDIAMINEPLATINUM AND *cis*-DICHLORDIAMINEPALLADIUM WITH DNA

Summary

Comparative research of melting of complexes *cis*-dichlordiamineplatinum and *cis*-dichlordiaminepalladium with DNA is carried out. It is revealed, that melting temperature – T_m of complexes of DNA with both compounds at low concentrations grows, while at increase of concentration of these compounds on the contrary, T_m decreases.