

配合物与 G-四链体 DNA 相互作用的研究

冯大千, 王 伟

(盐城工学院 化学与生物工程学院, 江苏 盐城 224051)

摘要:端粒在维持基因组稳定、癌症和衰老相关的生理过程中发挥着重要作用,鸟嘌呤通过形成 G-四分体平面堆积成 G-四链体结构, DNA 二级结构参与一些重要的生物调控过程。人们已经在生物体内发现 G-四分体结构的存在,它们大量存在于基因的启动区域表明 G-四链体可能参与调节基因表达。以 G-四链体为新靶标设计能与 G-四链体 DNA 相互作用的小分子,为开发抗癌药物提供了新途径。最近的许多研究证明金属配合物与 G-四链体 DNA 具有有效的相互作用,有望开发成新的抗癌药物。

关键词:配合物; G-四链体 DNA; 端粒酶抑制剂; 癌基因; 抗癌药物

中图分类号: O61; R730; R979.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-5322(2013)02-0020-05

癌症是除心脑血管疾病、糖尿病外的人类三大疾病中的第二大死亡原因,严重威胁人类的健康^[1],寻找抗癌新靶标和发现新型抗癌药物具有重要的研究意义。端粒酶在 85% - 90% 以上的肿瘤细胞中过表达,而正常组织(生殖细胞、造血细胞等干细胞除外)中均显阴性,表明端粒酶与细胞的恶性转化及持续分裂增殖可能具有密切关系^[2]。端粒末端 DNA 在一定条件下可以形成 G-四链体结构,从而抑制了端粒酶活性的表达,使肿瘤细胞端粒缩短直至细胞停止增殖,转入细胞凋亡,从而抑制肿瘤的发展,能够诱导和稳定 G-四链体 DNA 结构的化合物有望成为新的抗癌药物。因此, G-四链体 DNA 做为抗肿瘤治疗的新靶标,为肿瘤治疗提供了新的思路。

人端粒 DNA 末端由数百个沿着 5 到 3 方向的 (TTAGGG)_n 重复单元组成, 4 个鸟嘌呤通过 Hoogsteen 氢键连接形成 G-四分体, G-四分体通过堆积而形成特殊的四链体结构^[3-5]。最近的生物信息学研究表明,富含鸟嘌呤的序列在人基因中无处不在(约 37 万个序列),除了人端粒 DNA,一些癌基因如 c-myc 和 c-kit 的启动区域也富含鸟嘌呤。它们大量存在于基因的启动区域,越来越多的证据表明 G-四链体参与调控基因表达,调节相应基因的转录。这些序列引起了

人们的极大兴趣, G-四链体 DNA 已成为新的抗癌靶标。虽然已报道的 G-四链体 DNA 结合剂多数为有机分子,但最近的研究发现,大量的金属配合物被证明与 G-四链体 DNA 具有有效的相互作用。许多研究组报道了金属配合物小分子与 G-四链体 DNA 有强烈的相互作用和高选择性,并能抑制端粒酶的活性,为新型抗癌药物的开发提供了基础^[6-12]。金属配合物的抗肿瘤活性是抗癌药物的重要研究领域之一,本文主要介绍金属配合物与 G-四链体 DNA 相互作用的研究现状。

1 金属配合物与 G-四链体 DNA 的相互作用模式

配合物与 G-四链体 DNA 的作用模式主要有 3 种:末端堆积模式、嵌插模式和沟槽结合模式^[13]。配合物可以非共价键结合形式堆积在末端 G-四分体上,结合在沟环上或嵌插在两个 G-四分体之间。有效的 G-四链体 DNA 结合剂与目标 DNA 具有强的相互作用和高的选择性,除了基于平面的有机杂环体系,能够与 G-四分体通过末端堆积等作用结合。除此以外, DNA 环区和沟槽以及磷酸骨架也是主要的结合部位,另外,可以容纳碱金属阳离子的中心碳基通道也可以与配合物作用。

收稿日期: 2013-05-23

作者简介: 冯大千(1984-),女,湖北宜昌人,讲师,博士,主要研究方向为配合物合成及生物活性、纳米生物传感。

2 大环配体配合物

配合物可以通过 π 堆积与 G-四链体 DNA 相互作用,主要有大环配体的配合物和非大环的多齿配体平面配合物。金属卟啉配合物稳定富 G 的人端粒 DNA 序列是最早报道的大环配体配合物的例子,基于卟啉或者类卟啉的金属配合物通过 π 堆积采用末端堆积模式与 G-四链体 DNA 作用。具有阳离子取代基的血红素卟啉替代物被证明更有效,因为可以和 G-四链体 DNA 环区和沟槽区带负电的磷酸骨架发生静电相互作用,同时金属离子也可以增加静电作用进一步增强亲和力。Pratviel 报道了具有阳离子末端的柔性侧链修饰的锰卟啉配合物^[14],与双链 DNA 相比,它对 G-四链体 DNA 具有非常高的亲和力和选择性,对 G-四链体 DNA 的选择性比双链 DNA 高 10 000 倍,并且可以稳定 G-四链体 DNA 抑制端粒酶的活性(如图 1 所示)。

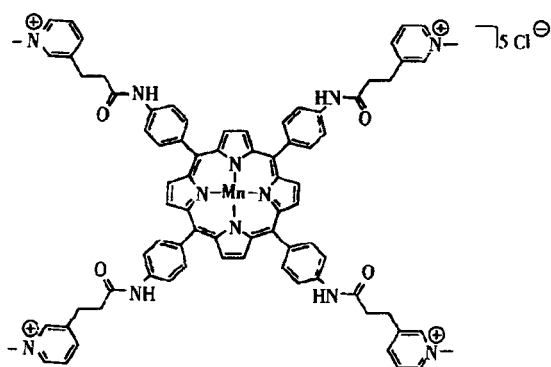


图 1 带 5 个正电荷的锰卟啉阳离子配合物^[14]

Fig. 1 Pentacationic manganese(III) porphyrin^[14]

3 平面型非大环多齿配体配合物

近年来的研究认为,非大环具有离域 π 键的多齿螯合物也有潜在稳定 G-四链体的能力而引起了人们的重视。与有大环配体的金属配合物不同的是,在这种情况下,金属离子往往会诱导配体为平面构象而自由配体本身不是平面,从而发挥重要的作用。事实上在大多数情况下,自由配体与 G-四分体因为没有有效的 π 堆积作用,与 G-四链体 DNA 结合力很弱。这种类型的金属配合物的氨基侧链在生理条件下质子化,有利于与 G-四链体 DNA 的磷酸骨架的环区和沟槽区发生静电作用。Vilar 研究发现希夫碱类的功能化环胺侧链的 Salphen 镍配合物是很好的 G-四链体结合剂^[15],熔链温度提高了 33 °C 证明它们具

有很好的稳定 G-四链体 DNA 的能力,对 G-四链体 DNA 的选择性比双链 DNA 高 50 倍。此外,通过端粒酶重复序列扩增实验发现这些配合物在体外具有潜在的抑制端粒酶活性的作用。具有相同的配体的 Nickel(II), Copper(II), Zinc(II) 等金属离子的配合物用来进行对比实验,阐释配位几何构型对 G-四链体 DNA 结合能力的影响,研究发现在这类配体条件下,平面四方型的配合物通常优于四方锥型配合物。平面的邻菲罗啉铂配合物也成功的作用于端粒 G-四链体 DNA,修饰有环胺侧链或者酰胺链的邻菲罗啉对端粒 G-四链体 DNA 表现出高的亲和力,并且有效地抑制端粒酶活性。具有类似结构的铂配合物具有有趣的光学性质, Che 课题组报道了二吡啶吩嗪铂配合物不仅可以作为端粒酶抑制剂^[16],而且可以作为 G-四链体 DNA 的荧光探针。这些平面配合物比邻菲罗啉配合物与 G-四链体 DNA 的作用更强,突显了需要离域 π 平面的配体,光物理测量表明,这种通过外部末端堆积模式的结合力为 10^6 M^{-1} ,这些配合物的体外抑制端粒酶能力也已得到证实。Ramon Vilar 报道了配体修饰环胺侧链的三联吡啶铂配合物和 G-四链体 DNA 具有相互作用^[17],对比金属配合物与自由配体与 G-四链体 DNA 的结合能力,实验发现平面的铂金属中心具有重要作用使配合物能与 G-四链体 DNA 很好的结合,并且与双链 DNA 相比配合物对 G-四链体 DNA 具有选择性。Teulade-Fichou 也报道了三联吡啶配合物可以有效地和 G-四链体 DNA 相结合(见图 2)^[18],研究证明在这种情况下,与端粒四链体 DNA 的结合力大小和选择性取决于配合物的几何构型。对不同金属中心 Cu(II), Pt(II), Zn(II), Ru(III) 的三联吡啶配合物研究表明做为稳定剂至少需要一个可以靠近的平面与 G-四链体 DNA 末端的 G 四分体发生有效的 $\pi-\pi$ 堆积相互作用,而 Cu(II), Pt(II) 的三联吡啶配合物由于平面的几何构型具有好的稳定性和选择性。

4 平面型超分子配合物

除了大环配体的配合物和非大环的多齿配体平面配合物外,另一类超分子配合物可以通过金属组装由非平面变成平面结构,合理设计超分子结构很可能可以和生物分子表面相互作用,已报道的例子有超分子平面配合物、手性超分子螺旋

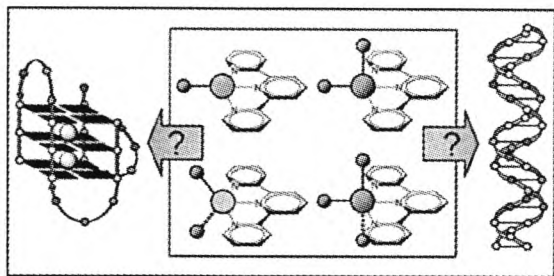


图 2 中心金属离子配位几何构型对三联吡啶配合物与 G-四链体 DNA 结合能力的影响^[18]

Fig.2 Terpyridine complexes used to investigate the relationship between the geometry around the metal center and Quadruplex DNA binding affinity^[18]

以及超分子笼。超分子笼的设计在消除平面分子插入双链 DNA 的可能性是非常可取的^[19],可以增强对 G-四链体 DNA 的选择性。这一原则适用于开发一系列超分子结构,两个平面的四吡啶

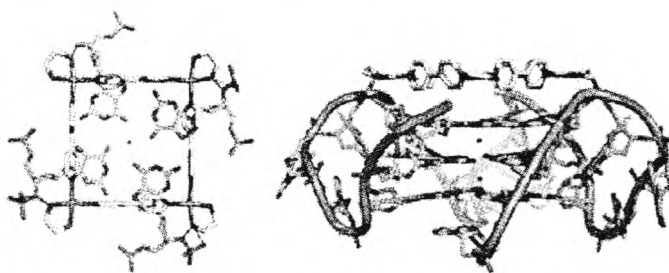
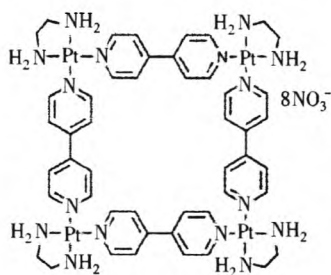


图 3 四边形铂配合物分子结构和铂配合物与 22 个碱基序列的 G-四链体 DNA 平均结构^[20]

Fig.3 Structure of the platinum molecular square and Average structure of the complex between platinum molecular square and 22-mer DNA Gquadruplex^[20]

5 手性配合物

几年前 Hannon 等人报道了一系列柱状手性超分子,基于双功能二亚胺配体合成了双金属 3 股螺旋柱状超分子,这些配合物能够与不同的 DNA 拓扑结构结合(例如 3 股交汇处与双链 DNA 的大沟区域结合)^[21]。最近 Qu 等人研究发现这种手性超分子 Ni(II)、Fe(II) 配合物可以和人端粒 H-telo 四链体 DNA 相互作用(见图 4)^[22]。研究表明两种对映异构体中只有 P 型(右旋)有效,特别是能使反平行型人端粒 G-四链体 DNA 转换成混合型构型,并且对双链 DNA 及不同的 G-四链体 DNA 有选择性。S1 核酸酶裂解实验发现 P 对映异构体与人端粒 DNA 结合可以保护其不被裂解,这表明配合物可能通过末端堆积模式与四链体 DNA 结合,结合计量比为 1:1,配合物

基铈卟啉做为立方体笼的上下两个面,金属钉 Ru(II)做为 4 个角的顶点,通过与 2,5-二羟基-1,4-二羧基苯配体配位做为立方体的 4 个棱桥联成立方体笼。阳离子立方体笼与 H-telo 和 c-myc 都有强的结和作用,主要原因是与 G-四链体 DNA 的 π 堆积作用,带高正电荷也可以通过静电相互作用产生非特异性的结合。Autexier 等人设计了一个平面的铂的超分子配合物^[20],可以作为很好的 G-四链体 DNA 结合剂和端粒酶抑制剂。如图 3 所示,基于 Pt(II) 离子的平面四方型配位模式,通过一步法将 4,4'-二联吡啶与 [Pt(en)(NO₃)₂] 自组装成一个平面型的超分子。它的形状和尺寸使其很好的堆积在 G-四分体的末端,计算模拟研究表明能量最小化的结合构型是和 G-四分体平行,其中 4 个角的金属离子和二胺配体与 DNA 的糖-磷酸骨架发生静电作用和氢键作用。

很可能是通过输水作用结合在四链体顶部,而金属中心则与环区和沟槽区发生离子相互作用。这个例子为开发类似锌指 DNA 蛋白结合基元的手性抗癌药物奠定了基础。

6 八面体金属配合物

具有平面型配体的六配位的八面体金属配合物也可以与 G-四链体 DNA 的环区和沟槽区结合。一些钌配合物与二齿芳香氮杂环配体配位形成八面体配位模式也可以和 G-四链体 DNA 作用,在这种情况下,实验表明金属本身嵌入配体的保护中不可能接近邻近的 G-四分体,但是平面的配体有可能有 π 堆积作用或者插入 G-四分体之间,整个带正电的分子与 DNA 带负电的磷酸骨架的通过静电相互作用嵌入环区或者沟槽区。

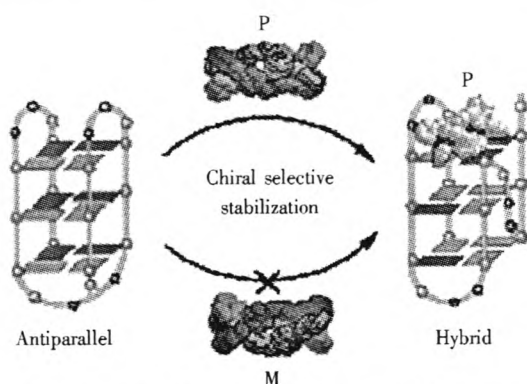


图4 用于形成两个圆柱状手性对应异构体金属配合物的双功能配体,只有P型异构体结构能稳定人端粒DNA^[22]

Fig.4 The ditopic ligand used to form the supramolecular chiral cylinder and the two chiral antipodes of the chiral cylinder complexes; Only the P enantiomer stabilizes H-telo^[22]

7 其它金属配合物

除了上述一些例子外,金属离子还可以和 G-四链体 DNA 直接配位,前面的例子中金属中心不直接参与配位,与 DNA 的碱基或者磷酸等给电子基团没有通过配位作用结合。利用共价键和非共价键结合的模式,将铂配合物通过亲水链与喹吡啶芳香环部分相连接^[23]。在这种情况下,长的连接器跨越 G-四分体使铂配合物部分与 G-四链体另一端的 G2 和 G22 碱基相互作用,喹吡啶芳香环部分堆积在 G-四链体顶部,这种配合物结构可以稳定 22 个碱基的反平行型 G-四链体 DNA。一些金属配合物可以裂解 G-四链体 DNA 结构,它们可以和 G-四链体 DNA 相互作用

用并诱导目标 DNA 的裂解。当这种配合物和人端粒 DNA 末端相互作用,会氧化 G-四分体上的鸟嘌呤以及相邻环区的脱氧核糖残基的羟基碳原子,最终导致 DNA 骨架的裂解。这种配合物作用类似人工核酸切割酶,切割位点依赖于 G-四链体 DNA 的 2 级结构类型。Vivian 报道了一种发光的水溶性三联吡啶铂配合物^[24],被证明可用于检测识别未折叠的 DNA 与分子间 G-四链体 DNA 结构。首先带正电荷的平面配合物与带负电的富 G 单链 DNA 通过静电相互作用连接,当加入 K⁺ 离子后,单链 DNA 组装形成分子间的 G-四链体 DNA 结构,这种聚集导致配合物分子靠得足够近产生 Pt-Pt 亲金属作用和 $\pi-\pi$ 作用。这种聚集产生了金属-金属到配体的电荷转移 (MMLCT) 带,很容易通过紫外可见光谱和发射光谱观察到,通过 CD 谱也证实形成了平行型 G-四链体 DNA 结构,这种 DNA 诱导的三联吡啶铂配合物的自组装也可以通过其荧光变化来检测 G-四链体结构。

8 前景与展望

近 10 年来大量的报道证明了金属配合物与 G-四链体 DNA 具有强烈的相互作用和高选择性,在抑制端粒酶的活性和调控癌基因的表达方面显示出潜在应用,从而达到抗肿瘤的目的,为新型抗癌药物的开发提供了新途径。但是还有几个重要的方面仍然需要进一步深入研究,如金属配合物与 G-四链体 DNA 作用的机理,金属配合物高灵敏性和特异性识别 G-四链体,筛选 G-四链体 DNA 稳定剂的新方法等。

参考文献:

- [1] Matsudaira P T, Lodish Harvey F, Arnold B, et al. Molecular Cell Biology[M]. W. H. Freeman & Co Ltd. 2007.
- [2] Whitehead J P, Lippard S J. Proteins that bind to and mediate the biological activity of platinum anticancer drug - DNA adducts[J]. J. Met. Ions. Biol. Sys., 1996,32:687-726.
- [3] Davis J. T. G-Quartets 40 Years Later: From 5'-GMP to Molecular Biology and Supramolecular Chemistry[J]. Angew. Chem. Int. Ed., 2004,43:668-698.
- [4] Simonsson T. G-Quadruplex DNA Structures - Variations on a Theme[J]. Biol. Chem., 2001,382:621-628.
- [5] Chen J H, Seeman N C. Synthesis from DNA of a molecule with the connectivity of a cube[J]. Nature,1991,350:631-633.
- [6] Blackburn E H, Greider C W, Henderson E, et al. Recognition and elongation of telomeres by telomerase[J]. Genome, 1989,31:553-560.
- [7] Greider C W, Blackburn E H. The telomere terminal transferase of Tetrahymena is a ribonucleoprotein enzyme with two kinds of primer specificity[J]. Cell, 1987,51:887-898.
- [8] Greider C W, Blackburn E H. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts[J].

- Cell, 1985,43:405-413.
- [9] Szostak J W, Blackburn E H. Primary procedure in carcinoma of the tongue: local resection versus combined local resection and radical neck dissection[J]. Cell, 1982,29:245-258.
- [10] Todd A K. Frequency, pattern, and risk factors of postoperative recurrence of Crohn's disease after resection different from ileo-colonic[J]. Methods, 2007,43:246-252.
- [11] Blackburn E H, Gall J G. A tandemly repeated sequence at the termini of the extrachromosomal ribosomal RNA genes in Tetrahymena[J]. J. Mol. Biol., 1978,120:33-53.
- [12] Huppert J L, Balasubramanian S. G-quadruplexes in promoters throughout the human genome[J]. Nucleic Acids Res., 2007,35:406-413.
- [13] Erin S B, Jeong T L, Jonathan L, et al. Cyclopyrroles: Size and site-specific binding to G-quadruplexes[J]. J. Am. Chem. Soc., 2006,128:2 641-2 648.
- [14] Dixon I M, Lopez F, Tejera A M, et al. A G-Quadruplex Ligand with 10000-Fold Selectivity over Duplex DNA[J]. J. Am. Chem. Soc., 2007,129:1 502-1 503.
- [15] Reed J E, Arnal A A, Neidle S, et al. Stabilization of G-Quadruplex DNA and Inhibition of Telomerase Activity by Square-Planar Nickel (II) Complexes[J]. J. Am. Chem. Soc., 2006,128:5 992-5 993.
- [16] Ma D L, Che C M, Yan S C. Platinum (II) Complexes with Dipyrrophenazine Ligands as Human Telomerase Inhibitors and Luminescent Probes for G-Quadruplex DNA[J]. J. Am. Chem. Soc., 2009,131:1 835-1 846.
- [17] Suntharalingam K, White A J P, Vilar R. Synthesis, Structural Characterization, and Quadruplex DNA Binding Studies of Platinum(II)-Terpyridine Complexes[J]. Inorg. Chem., 2009,48:9 427-9 435.
- [18] Bertrand H, Monchaud D, De Cian A, et al. The importance of metal geometry in the recognition of G-quadruplex-DNA by metal-terpyridine complexes[J]. Org. Biomol. Chem., 2007,5:2 555-2 559.
- [19] Barry N P E, Abd Karim N H, Vilar R, et al. Interactions of ruthenium coordination cubes with DNA[J]. Dalton Trans., 2009:10 717-10 719.
- [20] Kieltyka R, Englebienne P, Fakhoury J C, et al. A Platinum Supramolecular Square as an Effective G-Quadruplex Binder and Telomerase Inhibitor[J]. J. Am. Chem. Soc., 2008,130:10 040-10 041.
- [21] Meistermann I, Moreno V, Prieto M J, et al. Intramolecular DNA coiling mediated by metallo-supramolecular cylinders: Differential binding of P and M helical enantiomers[J]. Proc. Natl. Acad. Sci., 2002,99:5 069-5 074.
- [22] Yu H, Wang X, Fu M, et al. Chiral metallo-supramolecular complexes selectively recognize human telomeric G-quadruplex DNA[J]. Nucleic Acids Res., 2008,36:5 695-5 703.
- [23] Bertrand H, Bombard S, Monchaud D, et al. A platinum-quinacridine hybrid as a G-quadruplex ligand[J]. J. Biol. Inorg. Chem., 2007,12:1 003-1 014.
- [24] Yu C, Chan K H Y, Wong K M C, et al. Nucleic acid-induced self-assembly of a platinum (II) terpyridyl complex: detection of G-quadruplex formation and nuclease activity[J]. Chem. Commun., 2009:3 756-3 758.

Interaction of Metal Complexes with G-quadruplex DNA

FENG Da-qian, WANG Wei

(Yancheng Institute of Technology, School of Chemical and Biological Engineering, Yancheng Jiangsu 224051, China)

Abstract: Telomeres play an important role in critical physiological processes, including genome stability, cancer, and aging. G-quadruplex DNA is a four-stranded structure that is held together by square planes of G-quartets. Guanine-rich sequences with the potential to form G-quadruplexes exist in the telomere as well as in promoter regions of certain oncogenes. The identification of these sequences as novel targets for the development of anticancer drugs has sparked interest in the design of molecules that can interact with quadruplex DNA. Numerous metal complexes have recently been shown to interact effectively with G-quadruplexes. This review provides an overview of the important roles that metal complexes can play as quadruplex DNA binding molecules. The detection of G-quadruplex DNA is an important target for developing potential antitumor drugs.

Keywords: metal complexes; G-quadruplex DNA; telomerase inhibitor; oncogene; anti-tumor drugs

(责任编辑:沈建新)