

TOMASZ LESZCZYŃSKI, HENRYK DUŃSKI
Instytut Podstaw Chemii Żywności
Politechnika Łódzka

SPOSOBY WIĄZANIA CZĄSTECZEK LIGANDÓW Z DNA

Opiniodawca: **prof. dr hab. Wojciech Stanisław Wysocki**

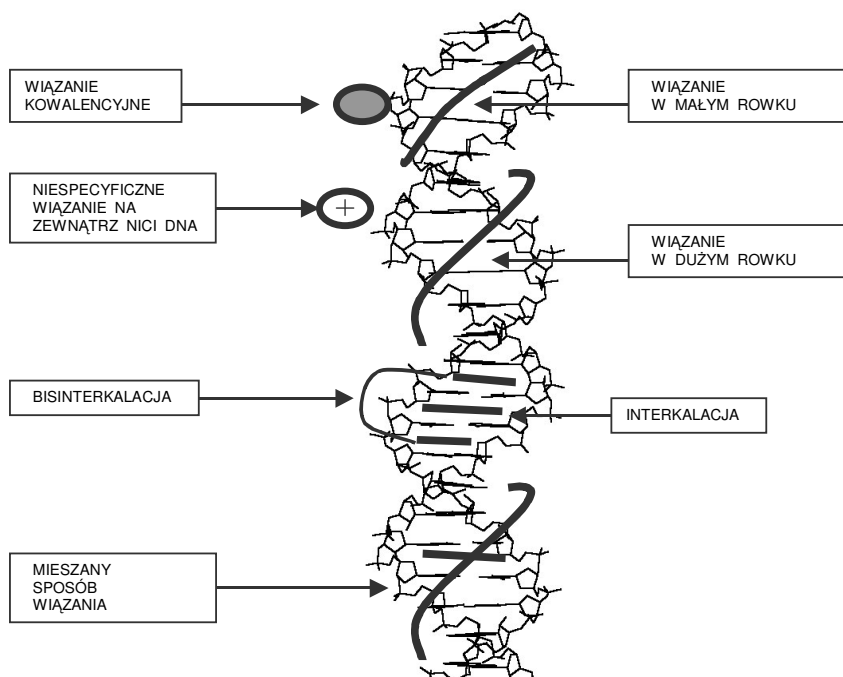
W pracy omówiono różne grupy ligandów o zróżnicowanych sposobach wiązania z DNA. Scharakteryzowano sposoby wiązania ligandów z DNA oraz omówiono cechy charakterystyczne w ich strukturze determinujące sposób, w jaki oddziałują z tą makromolekułą.

1. Wprowadzenie

Rozwój metod leczenia nowotworów, jaki miał miejsce w ostatnich 20 latach wskazuje na konieczność poszukiwania wciąż nowych, skuteczniejszych i bardziej bezpiecznych leków. Mimo szybkiego rozwoju nowoczesnych sposobów walki z nowotworami, chemoterapia pozostaje jedną z ważniejszych, a w przypadku niektórych nowotworów (np. białaczka), jedyną metodą leczenia. Lecznicze właściwości większości dotychczas opracowanych leków przeciwnowotworowych wiążą się z ich oddziaływaniem z DNA. Istnieje nieliczna grupa leków przeciwnowotworowych, których aktywność biologiczna nie jest oparta na oddziaływaniu z DNA (np. Taxol). Warto zauważyć, że DNA jest prawdopodobnie najlepiej strukturalnie scharakteryzowaną makromolekułą, co czyni ją atrakcyjnym obiektem dla poszukiwań nowych związków, mogących być potencjalnymi lekami nakierowanymi na DNA. Racjonalne planowanie struktur nowych leków wymaga szczegółowego zrozumienia oddziaływań istniejących już leków z DNA [1].

Najważniejsze cechy charakterystyczne wiązania leku z DNA, jakie wpływają na aktywność biologiczną leku to: miejsce wiązania leku z DNA, specyficzność sekwencyjna wiązania oraz kinetyka asocjacji/dysocjacji.

Istnieje kilka sposobów wiązania (oddziaływania) cząsteczek liganda z łańcuchem DNA (rys. 1): interkalacja, bisinterkalacja, wiązanie w małym lub dużym rowku, wiązanie kowalencyjne, niespecyficzne wiązanie na zewnątrz nici DNA oraz mieszany sposób wiązania. Istota tych oddziaływań zostanie omówiona w dalszej części opracowania. Sposoby wiązania liganda z DNA wymienione powyżej stanowią podstawę klasyfikacji związków oddziaływujących z kwasem deoksyrybonukleinowym [2]. Alternatywny (rzadziej stosowany) podział związków oddziałujących z DNA opiera się na budowie chemicznej ligandów [3] i nie będzie tutaj omawiany.



Rys. 1. Sposoby wiązania cząsteczek z DNA

2. Interkalatory

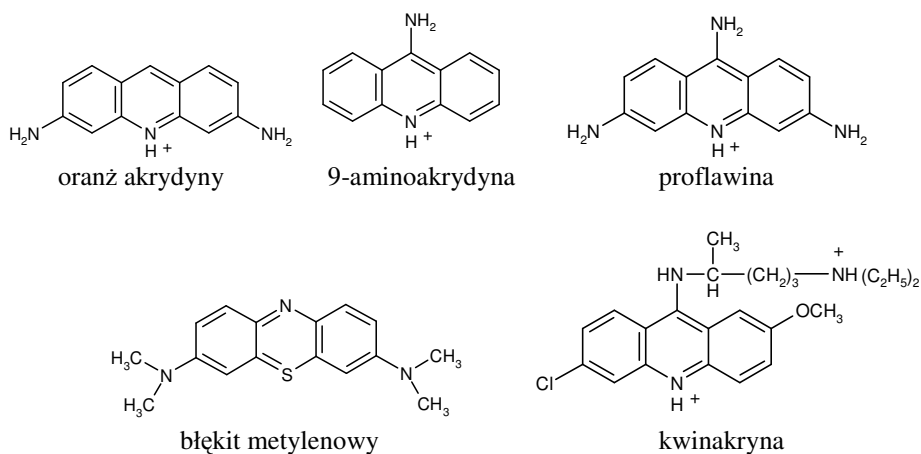
Po raz pierwszy koncepcję interkalacji zaproponował Lerman i wsp. w roku 1961 [4]. Termin interkalacja pochodzi od łacińskiego *intercalare*, co oznacza wsuwać się; jest zarezerwowany dla specyficznego sposobu wiązania polegającego na wsuwaniu się płaskich heterocyklicznych, aromatycznych układów o grubości 2-3,7 Å, pomiędzy pary zasad w podwójnej helisie DNA. Płaski interkalator jest utrzymywany sztywno w orientacji prostopadłej do osi heliksu.

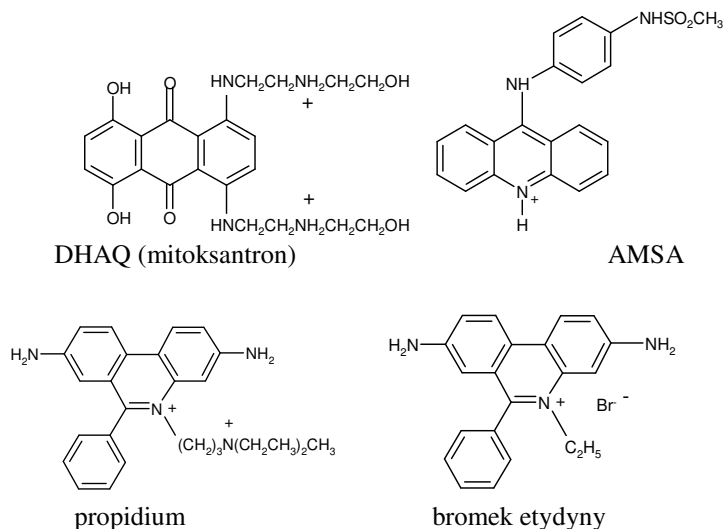
Uważa się, że DNA wiąże maksymalnie jedną cząsteczkę interkalującego liganda na 2-2,5 pary zasad. Warunkiem niezbędnym tworzenia się kompleksu interkalacyjnego jest występowanie w cząsteczce liganda obszaru płaskiego [5], [6]. Dla optymalnej interkalacji płaska część molekuly powinna mieć powierzchnię minimum 28 \AA^2 , czyli trzy lub cztery pierścienie tworzące strukturę aromatyczną [7].

Kompleks interkalacyjny stabilizowany jest przez nakładanie się orbitali π chromoforu i zasad azotowych (wiązanie typu „stacking”), poprzez wiązanie hydrofobowe i wiązanie z przeniesieniem ładunku. Związki interkalujące są ligandami, które nie posiadają zasadniczo specyficzności w stosunku do zasad, jedynie preferują sekwencje, w których występuje przewaga niektórych par, np. powinowactwo bromku etydyny jest większe wobec par GC [4], [8].

Po interkalacji, pierwszo- i drugorzędowa struktura DNA pozostaje nienaruszona. Na skutek rozwinięcia fragmentu DNA, spowodowanego wsunięciem ligandem, zmianie ulega trzeciorzędowa struktura DNA – cząsteczka DNA zostaje częściowo wydłużona. Odległości pomiędzy dwiema sąsiadującymi parami zasad kompleksu interkalacyjnego zwiększają się średnio z $3,4 \text{ \AA}$ do $7-8 \text{ \AA}$. Uzyskane podczas interkalacji częściowe rozkręcenie heliksu charakteryzowane jest kątem rozkręcenia, który jest różnicą pomiędzy typowym kątem skręcenia (dla α -helisy wynosi on 36°) a kątem powstałym po interkalacji. Redukcja kąta skręcenia podwójnej helisy DNA wynosząca w zależności od chromofora $10^\circ - 26^\circ$ jest charakterystyczna dla procesu interkalacji [9].

Spośród związków interkalujących do DNA należy wymienić oranż akrydyny [10], kwinakrynę [11], [12], propidium [13], bromek etydyny, amsakrynę [14], mitoksantron (DHAQ) [14], [15], błękit metylenowy [16], aktynomycynę D [17], proflawinę, 9-aminoakrydynę [5]. Wzory strukturalne wyżej wymienionych interkalatorów zostały zebrane na rys. 2.





Rys. 2. Wzory strukturalne interkalatorów

2. Związki lokujące się w małym rowku DNA

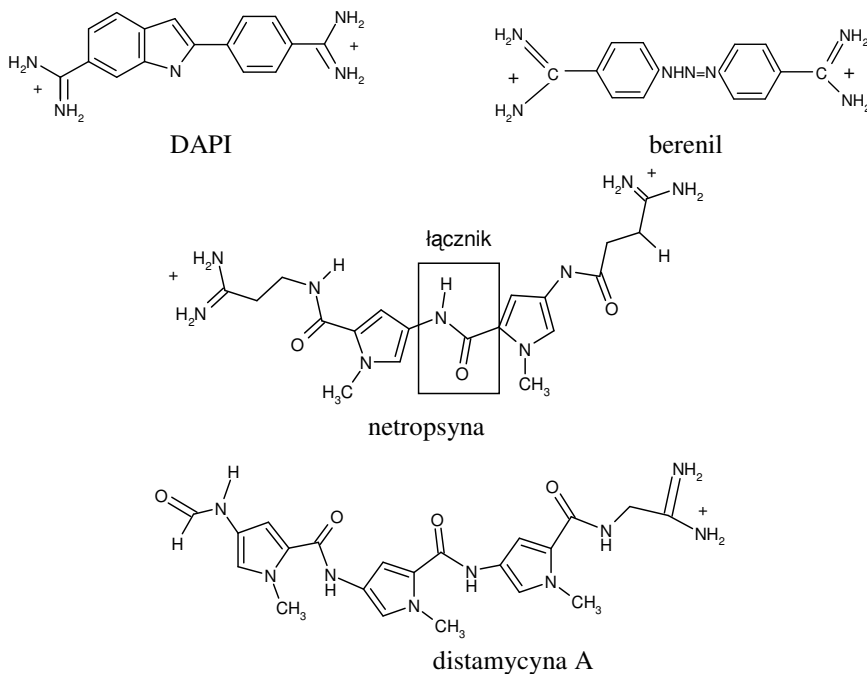
Cechą charakterystyczną w budowie tych związków jest występowanie kilku pojedynczych, rzadziej podwójnych pierścieni – głównie aromatycznych – oddzielonych od siebie krótkim łącznikiem (przykładowo: w przypadku netropsyny łącznikiem jest grupa amidowa (rys. 3)). Związki te charakteryzują się liniową, wydłużoną i giętką strukturą umożliwiającą dopasowanie się związku do kształtu małego rowka, co pozwala na pojawienie się oddziaływań pomiędzy grupami funkcyjnymi liganda a wnętrzem małego rowka, wpływając stabilizująco na trwałość powstałego kompleksu.

Do tej klasy związków należą m.in. distamycyna A oraz netropsyna [18], [19]. Wspomniane związki są naturalnymi polipeptydami wiążącymi się preferencyjnie do sekwencji bogatych w pary AT [20], [21], [22], [23]. Związki te wykazują aktywność biologiczną jako leki przeciwwirusowe [20].

W przypadku niektórych związków z tej klasy sposób ich oddziaływania zależy w dużym stopniu od warunków zewnętrznych (głównie od siły jonowej i pH), a także od lokalnej sekwencji par zasad w DNA.

Przykładem jest berenil, który także wykazuje specyficzność wiązania do miejsc DNA bogatych w pary AT, lecz znacznie mniejszą od distamycyny A. Wiąże się on w małym rowku w podwójnej helisie DNA, przy czym miejsce wiązania jest wielkości 4 par zasad [20]. Berenil może również interkalować oraz wiązać się w małym rowku dwuniciowych fragmentów RNA [2].

Do związków lokujących się w małym rowku DNA należy także błękit metylenowy [24] oraz DAPI. Związki te wiążą się w małym rowku DNA, w miejscach bogatych w pary AT, natomiast interkalują w miejsca bogate w pary GC [6], [25].



Rys. 3. Przykładowe związki lokujące się w małym rowku DNA

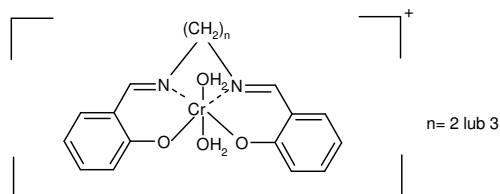
3. Związki łączące się w dużym rowku DNA

Wiązanie w dużym rowku jest zjawiskiem dość rzadkim. Znacznie większa „objętość” dużego rowka czyni go dostępnym miejscem wiązania dla większych cząsteczek (np. białka) niż te, które lokalizują się w małym rowku. Omawiany typ wiązania dotyczy głównie związków, w których oprócz fragmentu struktury wiążącego się (przeważnie słabo) w dużym rowku DNA, występują inne struktury, pozwalające silnie połączyć cząsteczkę z DNA (np. na drodze interkalacji lub wiązania kowalencyjnego). Występowanie dodatkowych grup funkcyjnych jest często kluczowe, gdyż oddziaływania występujące w dużym rowku są zbyt słabe, by utrzymać tam ligand.

W dużym rowku wiążą się pewne kompleksy chromu III i zasady Shiffa np.: $[\text{Cr}(1,2\text{-bis}(\text{salicylidenoamino})\text{etano}(\text{H}_2\text{O})_2)]^+$ (rys. 4) [26].

Związkiem lokującym się w dużym rowku jest błękit metylenowy, jednak takie oddziaływanie w przypadku tego związku występuje tylko w stosunku do poli(dA)·poli(dT) [24], [27].

W dużym rowku może wiązać się także bromek etydyny (EB), ale tylko w roztworach o bardzo wysokim stężeniu EB [28], [29]. Istnieją przypuszczenia, że netropsyna może wiązać się także w dużym rowku polimera poli(dG-dC)·poli(dG-dC) [30].



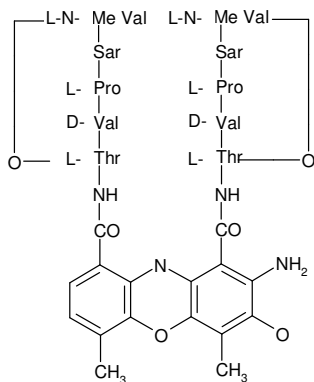
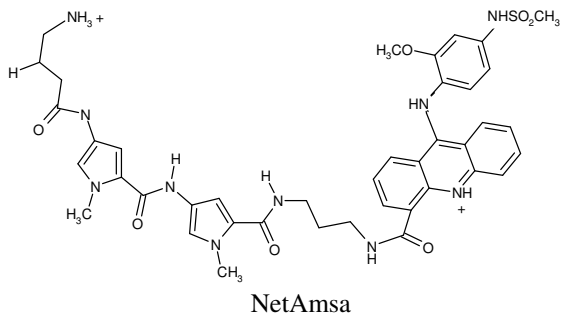
Rys. 4. Przykład związku lokującego się w dużym rowku DNA – $[\text{Cr}(1,2\text{-bis}(\text{salicylidenoamino})\text{etano}(\text{H}_2\text{O})_2)]^+$

4. „Combilexins” i inne związki o mieszanym sposobie wiązania z DNA

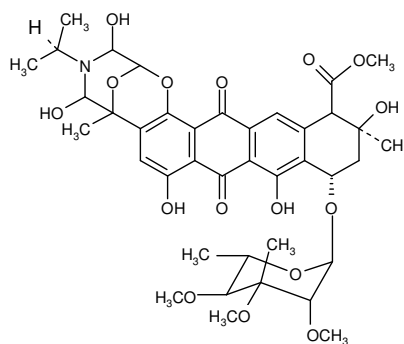
Combilexins (molekuły hybrydowe) jest to grupa ligandów DNA zawierająca element wiążący się w małym rowku oraz interkalujący chromofor. Częstotki te budzą duże zainteresowanie przemysłu farmaceutycznego. Koncepcja kombinowanego sposobu oddziaływania z DNA pozwala na zaprojektowanie takiej struktury, która będzie silnie lub specyficznie, bądź jednocześnie silnie i specyficznie wiązała się z DNA, jednocześnie oddziaływała z topoiizomerazami, a być może nawet ułatwiała cząsteczce leku wniknięcie do wnętrza komórki. Tego typu związki stabilizują DNA i większość z nich oddziałuje z topoiizomerazami np.: NetAmsa [30] (rys. 5).

Ciekawym przykładem związków interkalujących i wiążących się z DNA równolegle w obydwu rowkach jest noglamycyna, altromycyna B i aktynomycyna (rys. 5). Noglamycyna zbudowana jest z podjednostek, które po interkalacji chromoforu lokują się „wystając” do obu rowków [31]. Altromycyna B interkaluje do DNA pomiędzy pary AT a GC. Jej łańcuch disacharydowy lokuje się w małym rowku, podczas gdy podstawnik monosacharydowy w dużym. W wyniku takiej interkalacji grupa epoksydowa znajduje się w dużym rowku, gdzie kowalencyjnie wiąże się z azotem N7 guaniny [32]. Aktynomycyna [6], [17] interkaluje a jej fragmenty peptydowe lokują się w małym rowku.

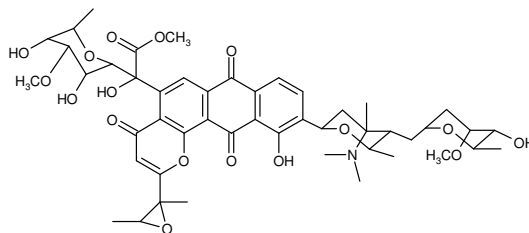
Daunorubicyna (daunomycyna), doksorubicyna (adriamycyna) (rys. 5), które są antybiotykami antracyklinowymi interkalują, podczas gdy ich reszta cukrowa lokuje się w małym rowku a fragment zwany kotwicą tworzy wiązania wodorowe [33], [34]. Wiązanie ich ma charakter kooperatywny – związanie jednej cząsteczki ułatwia wiązanie następnej [35].



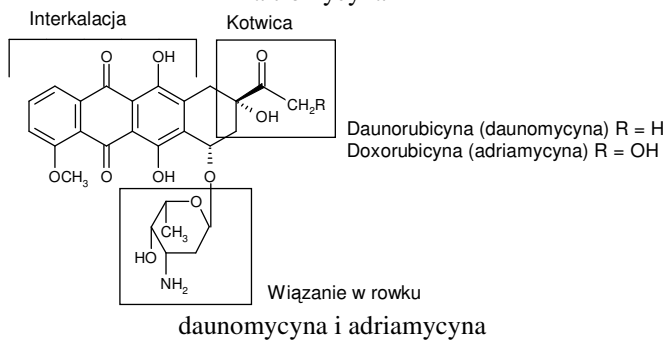
aktynomycyna



noglamycyna



altromycyna B



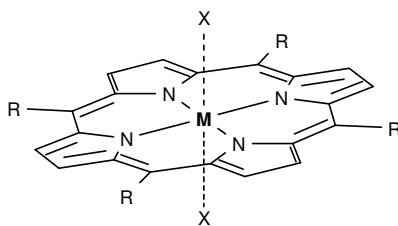
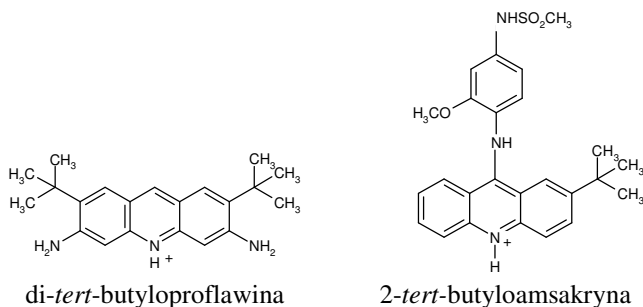
Rys. 5. Przykładowe struktury związków o kombinowanym sposobie wiązania z DNA

5. Związki niespecyficznie wiążące się na zewnątrz nici DNA

Cechami charakterystycznymi tej grupy związków są występowanie na ich powierzchni ładunku dodatniego umożliwiającego występowanie oddziaływania elektrostatycznego z ujemnie naładowanym DNA (tak zwane wiązanie elektrostatyczne na zewnątrz nici DNA) oraz obecność grupy stanowiącej zawadę steryczną uniemożliwiającą penetrację do wnętrza DNA. Związki te nie interkalują, ani też nie lokują się w rowkach. Część cząsteczka związana z DNA jest utrzymywana na zewnątrz heliksu.

Przykładem związków niespecyficznie wiążących się z DNA jest di-*tert*-butyloproflawina oraz 2-*tert*-butyloamsakryna (rys. 6). Mimo, że związki te normalnie wiążą się z DNA przez interkalację, dołączenie grupy *tert*-butylowej stwarza steryczną zawadę uniemożliwiającą ten proces [36].

Porfiryny to interesująca grupa związków, które mogą elektrostatycznie wiązać się z DNA na zewnątrz łańcucha lub nawet interkalować. Sposób oddziaływania zależy przede wszystkim od liczby koordynacyjnej centralnego atomu metalu, a także od typu DNA [37] (rys. 6).



podstawnik X jest obecny lub nie w zależności od wartościowości metalu

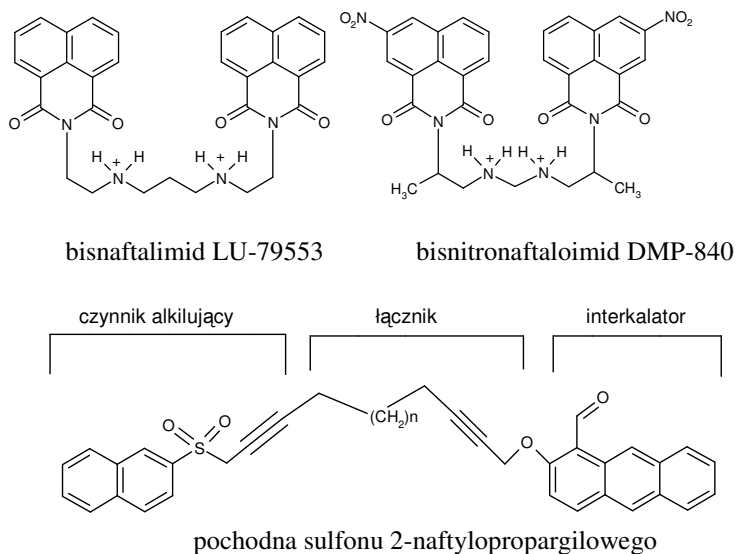
Rys. 6. Przykładowe struktury związków wiążących się na zewnątrz nici DNA

6. Bisinterkalatory

Bisinterkalatory (interkalatory bifunkcyjne) zbudowane są z dwóch cząsteczek interkalatorów (monomerów) oddzielonych od siebie łącznikiem, czyli długim łańcuchem najczęściej $[\text{CH}_2]_n$, np. bisnaftalimid LU-79553 (rys. 7). Bisinterkalatory wykazują wyższe stałe wiązania niż odpowiednie monomery [38], [39].

Do jednych z prostszych przykładów interkalatorów bifunkcyjnych należą: homodimer etydyny i heterodimer akrydyny z etydyną [40]. Innym bisinterkalatorem jest bisnaftaloimid DMP-840 [39] (rys. 7). Do ciekawych interkalatorów bifunkcyjnych należą pochodne sulfonu 2-naftylopropargilowego. Obecność czynnika alkilującego w strukturze wspomnianych pochodnych umożliwia tworzenie dodatkowego wiązania z DNA, które jest wiązaniem kowalencyjnym [41] (rys. 7).

Wysokie stałe wiązania i duża specyficzność wiązania w stosunku do DNA są powodem prowadzenia intensywnych prac badawczych nad tą klasą związków [30], [38], [42], [43].



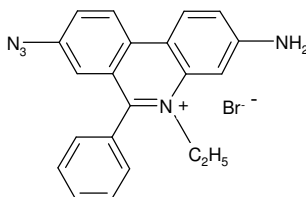
Rys. 7. Przykładowe struktury bisinterkalatorów

7. Związki tworzące z DNA wiązanie kowalencyjne

Do tytułowej grupy związków należą wymienione już wcześniej: altromycyna B [32], pochodne sulfonu 2-naftylopropargilowego [41] (rys. 7).

W przypadku niektórych związków (np. monoazydek etydyny, 7-azydoaktynomycyna) powstawanie wiązania kowalencyjnego może być spowodowane

działaniem światła widzialnego. Monoazydek etydyny (rys. 8) – analog bromku etydyny łączy się z DNA podobnie jak bromek etydyny, ale po fotolizie światłem widzialnym grupa azydkowa jest aktywowana do aktywnego nitrenu i uzyskuje się *in situ* kowalencyjne przyłączenie etydyny [44], [45], [46], [47]. Analogicznie fotoliza grupy azydkowej 7-azydo-aktynomycyny do wysoce reaktywne go nitrenu powoduje powstanie wiązania kowalencyjnego z DNA [17].



Rys. 8. Monoazydek etydyny

8. Literatura

- [1] **Bourdouxhe-Housiaux C., Colson P., Houssier C., Waring M.J., Bailly C.:** Interaction of a DNA-Threading Netropsin-Amsacrine Combilexin with DNA and Chromatin, *Biochemistry*, 35, 14, 4251-4264, (1996).
- [2] **Pilch D.S., Kirolos M.A., Liu X., Plum G.E., Breslauer K.J.:** Berenil (1,3-bis(4'-amidinophenyl)triazene) Binding to DNA Duplexes and to a RNA Duplex - Evidence for Both Intercalative and Minor-Groove Binding-Properties, *Biochemistry*, 34, 31, 9962-9976, (1995).
- [3] **Kiwamu Yamaoka,:** Effect of Chemical structures of Acridine and Triphenylmethane Dyes on the Induced Optical Activity of DNA-Dye Complexes, *Biopolymers*, 11, 2537-2561, (1972).
- [4] **Lerman, L.S.:** Structural considerations in the interactions of DNA and acridines, *J. Mol. Biol.* 3, 18-30, (1961).
- [5] **Hogan M., Dattagupta N., Crothers D.M.:** Transient Electric Dichroism Studies of the Structure of the DNA Complex with Intercalated Drugs, *Biochemistry*, 18, 2, 280-288, (1979).
- [6] **Tanious F.A.:** DAPI (4'.6-Diamino-2-phenylindole) Binds Differently to DNA and RNA: Minor-Groove Binding at AT Sites and Intercalation at AU Sites, *Biochemistry*, 31, 12, 3103-3112, (1992).
- [7] **Pindur U., Haber M., Sattler K.:** Antitumor Active Drugs as Intercalators of Deoxyribonucleic Acid (Molecular Models of intercalation Complexes), *Journal of Chemical Education*, 70, 4, 263-272, (1993).
- [8] **Pastwa Elżbieta:** Praca doktorska Akademia Medyczna w Łodzi, 1998. Promotor: dr hab. Leszek Szmigiero
- [9] **Waring, M. J.:** Variation of the supercoils in closed circular DNA by binding of antibiotics and drugs: Evidence for molecular models involving intercalation, *J. Mol. Biol.* 54, 247-279, (1970).

- [10] **Fredericq E., Houssier C.:** Study of the Intercalation of DNA and Acridine Orange by Various Optical Methods, *Biopolymers*, 11, 2281-2308, (1972).
- [11] **Hard T., Fan P., Magde D., Kearns D.R.:** On The Flexibility of DNA: Time-Resolved Fluorescence Polarization of Intercalated Quinacrine and 9-Amino-6-chloro-2-methoxyacridine, *J. Phys. Chem.* 93, 10, 4338-4345, (1989).
- [12] **Wilson W.D., Lopp I.G.:** Analysis of Cooperativity and Ion Effects in the Interaction of Quinacrine with DNA, *Biopolymers*, 18, 3025-3041, (1979).
- [13] **Wilson W.D., Krishnamoorthy C.R., Wang Y-H., Smith I.C.:** Mechanism of Intercalation: Ion Effects on the Equilibrium and Kinetic Constants for the Interaction of Propidium and Ethidium with DNA, *Biopolymers*, 24, 1941-1961, (1985).
- [14] **Nitiss J.L., Zhou J., Rose A., Hsiung Y., Gale K.C., Osheroff N.:** The Bis(naphthalimide) DMP-840 Causes Cytotoxicity by Its Action against Eukaryotic Topoisomerase II, *Biochemistry*, 37, 9, 3078-3085, (1998).
- [15] **Rosenberger L.S., Carvlin M.J., Krugh T.R.:** The Antitumor Agent Mitoxantrone Binds Cooperatively to DNA: Evidence for Heterogeneity in DNA Conformation, *Biochemistry*, 25, 5, 1002-1008, (1986).
- [16] **Atherton S.J., Harriman A.:** Photochemistry of Intercalated Methylene Blue: Photoinduced Hydrogen Atom Abstraction from Guanine and Adenine, *J. Am. Chem. Soc.* 115, 5, 1816-1822, (1993).
- [17] **Bailly C., Graves D.E., Ridge G., Waring M.J.:** Use of a Photoactive Derivative of Actinomycin to Investigate Shuffling Between Binding Sites on DNA, *Biochemistry*, 33, 29, 8736-8745, (1994).
- [18] **Rentzeperis D., Marky L.A.:** Netropsin Binding as a Thermodynamic Probe of the Grooves of Parallel DNA, *J. Am. Chem. Soc.* 115, 5, 1645-1650, (1993).
- [19] **Fritzsche H.:** Infrared linear dichroism studies of DNA-drug complexes: quantitative determination of the drug-induced restriction of the B-A transition, *Nucleic Acids Research*, 22, 5, 787-791, (1994).
- [20] **Braithwaite A.W., Baguley B.C.:** Existence of an Extended Series of Antitumor Compounds Which Bind to Deoxyribonucleic Acid by Nonintercalative Means, *Biochemistry*, 19, 6, 1101-1106, (1980).
- [21] **Dattagupta N., Hogan M., Crothers D.M.:** Interaction of Netropsin and Distamycin with Deoxyribonucleic Acid: Electric Dichroism Study, *Biochemistry*, 19, 26, 5998-6005, (1980).
- [22] **Rentzeperis D., Marky L.A.:** Interaction of Minor Groove Ligands to an AAATT/AATTT Site: Correlation of Thermodynamic Characterization and Solution Structure, *Biochemistry*, 34, 9, 2937-2945, (1995).
- [23] **Lah J.:** Binding of Distamycin A and Netropsin to the 12mer DNA Duplexes Containing Mixed AT GC Sequences with At Most Five or Three Successive AT Base Pairs, *Biochemistry*, 39, 31, 9317-9326, (2000).
- [24] **Roths R.:** Methylene Blue Binding to DNA with GC Base Sequence: A Modeling Study, *J. Am. Chem. Soc.* 122, 12, 2860-2866, (2000).
- [25] **Wilson W.D.:** DNA Sequence Dependent Binding Modes of 4',6-Diamidino-2-phenylindole (DAPI), *Biochemistry*, 29, 36, 8452-8461, (1990).
- [26] **Vijayalakshmi R., Kanthimathi M., Subramanian V., Nair, B.U.:** Interaction of DNA with $[\text{Cr}(\text{Schiff base})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{ClO}_4$, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1475, 157-162, (2000).

- [27] **Tuite E., Norden B.:** Sequence-specific interactions of methylene blue with polynucleotides and DNA: a spectroscopic study, *J. Am. Chem. Soc.* 116, 17, 7548-7556, (1994).
- [28] **Warning M.J.:** Complex formation between ethidium bromide and nucleic acids, *J. Mol. Biol.* 13, 269-282, (1965).
- [29] **Jakeway S. C.:** Consideration of end effect of DNA hybridization in selection of fluorescent dyes for development of optical biosensors, *Can. J. Chem.* 77, 2083-2087, (1999).
- [30] **Bourdouxhe-Housiaux C., Colson P., Houssier C., Waring M.J., Christian Bailly, C.:** Interaction of a DNA-Threading Netropsin-Amsacrine Combilexin with DNA and Chromatin, *Biochemistry*, 35, 14, 4251-4264, (1996).
- [31] **Liaw Y.-C., Gao Y.-G., Robinson H., van der Marel G.A., van Boom J.H., Wang A.H.-J.,** Antitumor Drug Nogalamycin Binds DNA in Both Grooves Simultaneously; Molecular Structure of Nogalamycin-DNA Complex, *Biochemistry*, 28, 26, 9913-9918, (1989).
- [32] **Hansen M., Hurley L.,** Altromycin B Threads the DNA helix interacting with Both the Major and the Minor Grooves To Position Itself for Site-Directed Alkylation of Guanine N7, *J. Am. Chem. Soc.* 117, 9, 2421-2429, (1995).
- [33] **Chaires J.B., Satyanarayana S., Suh D., Fokt I., Przewloka T., Priebe W.:** Parsing the Free Energy of Anthracycline Antibiotic Binding to DNA, *Biochemistry*, 35, 7, 2047-2053, (1996).
- [34] **Wang A.H.-J.:** Interactions between an Anthracycline Antibiotic and DNA; Molecular Structure of Daunomycin Complexed to d(CpGpTpApCpG) at 1,2 Angstrom Resolution, *Biochemistry*, 26, 4, 1152-1163, (1987).
- [35] **Graves D.E., Krugh, T.R.:** Adriamycin and Daunorubicin Bind in a Cooperative Manner to Deoxyribonucleic Acid, *Biochemistry*, 22, 16, 3941-3947, (1983).
- [36] **Feigon J., Denny W.A., Leupin W., Kearns D.R.:** Interaction of Antitumor Drugs with Natural DNA: ¹H NMR Study of Binding Mode and Kinetics, *J. Med. Chem.* 27, 4, 450-465, (1984).
- [37] **Strickland J.A., Marzilli L.G., Gay K.M., Wilson W.D.:** Porphyrin and Metalloporphyrin Binding to DNA Polymers: Rate and Equilibrium Binding Studies, *Biochemistry*, 27, 24, 8870-8878, (1988).
- [38] **Gallego J., Reid B.R.:** Solution Structure and Dynamics of a Complex between DNA and the Antitumor Bisnaphthalimide LU-79553: Intercalated Ring Flipping on the Millisecond Time Scale, *Biochemistry*, 38, 46, 15104-15115, (1999).
- [39] **Spicer J.A.,** Bis(phenazine-1-carboxamides): Structure-Activity Relationships for a New Class of Dual Topoisomerase I/II-Directed Anticancer Drugs, *J. Med. Chem.* 43, 7, 1350-1358, (2000).
- [40] **Gaugain B.:** DNA Bifunctional Intercalators. 2. Fluorescence Properties and DNA Binding Interaction of an Ethidium Homodimer and an Acridine Ethidium Heterodimer, *Biochemistry*, 17, 24, 5078-5088, (1978).
- [41] **Dai W.-M., Chow C.W., Zhou L.:** Bifunctional 2-naphthyl propargylic sulfones Exhibiting high DNA intercalating and alkylating activity, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 9, 19, 2789-2794, (1999).
- [42] **Jourdan M., Garcia J., Lhomme J., Teulade-Fichou M.-P., Vigneron J.-P., Lehn J.-M.:** Threading Bis-Intercalation of a Macrocyclic Bisacridine at Abasic Sites in

- DNA: Nuclear Magnetic Resonance and Molecular Modeling Study, *Biochemistry*, 38, 43, 14205-14213, (1999).
- [43] **Spicer J.A.:** Bis(phenazine-1-carboxamides): Structure-Activity Relationships for a New Class of Dual Topoisomerase I/II-Directed Anticancer Drugs, *J. Med. Chem.* 43, 7, 1350-1358, (2000).
- [44] **Bolton P.H., Kearns D.R.:** Spectroscopic properties of ethidium monoazide: a fluorescent photoaffinity label for nucleic acids, *Nucleic Acids Research*, 5, 12, 4891-4903, (1978).
- [45] **Connelly P., Ghosaini L., Hu C-Q., Kitamura S., Tanaka A., Sturtevant J.M.:** A Differential Scanning Calorimetric Study of the Thermal Unfolding of Seven Mutant Forms of Phage T4 Lysozyme, *Biochemistry*, 30, 7, 1887-1891, (1991).
- [46] **Gilbert P.L., Graves D.E., Britt M., Chaires J.B.:** Inhibition of the B to Z Transition in Poly(dGdC)*Poly(dGdC) by Covalent Attachment of Ethidium: Kinetic Studies, *Biochemistry*, 30, 45, 10931-10937, (1991).
- [47] **Marx G., Zhou H., Graves D.E., Osheroff N.:** Covalent Attachment of Ethidium Results in Enhanced Topoisomerase II-Mediated DNA Cleavage, *Biochemistry*, 36, 50, 15844-15891, (1997).

THE MODES OF BINDING OF LIGAND MOLECULES WITH DNA

Summary

In this paper, we characterized various modes of bindings of ligand molecules with DNA, including intercalation, bisintercalation, binding in minor or major groove of DNA, non-specific binding outside DNA, covalent binding and mixed binding mode - characteristic for hybrid molecules named combilexins. We discussed the structural features of ligand affecting its interactions and, in case mixed binding mode ligands, external factors influencing occurrence of specific mode.

Department of Biotechnology and Food Sciences
Technical University of Łódź