

Квантовохімічні розрахунки свідчать — прототропна таутомерія канонічних нуклеотидних основ має молекулярно-цвітерійний характер. 1. Піримідини

Д. М. Говорун*, І. В. Кондратюк

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України,
252143 Київ, вул. Академіка Заболотного, 150

Напівемпіричним квантовохімічним методом AM1 в режимі оптимізації всіх структурних параметрів досліджено прототропну цвітерійну таутомерію урацилу (Ura) і цитозину (Cyt) у вільному стані. Показано, що прототропна таутомерія канонічних нуклеотидних основ піримідинового ряду має молекулярно-цвітерійний характер, а в основі цього явища лежить досить висока СН-кислотність цих сполук у поєднанні з яскраво вираженою лужністю. Встановлено, що більш енергетичне підсилення таутомерів-цвітерійів Ura б Cyt відокремлене від менш енергетичного підсилення молекулярних таутомерів істотною цілісною (21,4 і 12,6 ккал/моль в Ura і Cyt відповідно). При цьому відносна енергія найвищого таутомера-цвітеріона, який формується за рахунок міграції карбопротона, приєднаного до атома вуглецю С6, на ендциклічний атом азоту N3 в Cyt і атом кисню O4 з цис-орієнтацією карбоксилу відносно хімічного зв'язку C5C6 в Ura (42,3 ккал/моль для Ura і 29,1 ккал/моль для Cyt), значно перевищує аналогічну величину для основної лінійної форми основ пуринового ряду та імідазолу. Це дозволяє пояснити, чому в Ura і Cyt воднево-третієвий обмін групи С6Н6 з водою при сприятливих рН практично відсутній порівняно з основами пуринового ряду та імідазолу, адже перехідним станом цієї реакції є саме енергетично найвищого таутомер-цвітерій, який утворюється за участю протонів водного середовища шляхом естафетного протонування (атома O4 в Ura і атома N3 в Cyt) — депротонування (зв'язку С6Н6).

Вступ. Традиційно вважається (див., наприклад, [1—3]), що в прототропній таутомерії нуклеотидних основ та їхніх аналогів не беруть участь протони при атомах вуглецю — так звані карбопротони. Таке наближення ґрунтується на повному нехтуванні рухливостю (кислотністю) останніх. Нещодавно нами за допомогою квантовохімічного напівемпіричного методу AM1 зафіксовано явище прототропної молекулярно-цвітерійної таутомерії в імідазолі, піримідині та пурині [4, 5] і встановлено, що в його основі лежить досить висока СН-кислотність цих молекул [6] у поєднанні з яскраво вираженою лужністю [7]. Це дозволило з єдиних фізико-хімічних позицій пояснити молекулярно-кінетичний механізм воднево-третієвого обміну груп С2Н (імідазол, піримідин) і С8Н (пурин) цих сполук з водою при сприятливих рН та його особливості [8].

*Correspondence address.

По аналогії з імідазолом, піримідином та пурином молекулярно-цвітеріонний характер прототропної таутомерії можна очікувати в усіх без винятку канонічних нуклеотидних основах, оскільки ці молекули є теж типовими амфотерними сполуками [9, 10].

Ця праця присвячена дослідженню прототропної цвітеріонної таутомерії канонічних нуклеотидних основ піримідинового ряду — урацилу і цитозину.

Матеріали і методи. Методика розрахунків з використанням напівемпіричного квантовохімічного методу AM1 в режимі оптимізації всіх структурних параметрів з нормою градієнта $< 0,01$ детально викладена в попередніх наших роботах [4, 5, 11].

Результати і обговорення. Розрахунки свідчать, що прототропна таутомерія урацилу (Ura) і цитозину (Cyt) має молекулярно-цвітеріонний характер, тобто повне, замкнуте сімейство прототропних таутомерів цих сполук складається як з підсімейства класичних молекулярних таутомерів [3], які формуються шляхом міграції іміно- та амінопротонів при збереженні правил валентності, так і з більш чисельної множини цвітеріонних таутомерів, які утворюються внаслідок міграції як іміно(аміно)-, так і карбопротонів (при цьому традиційні правила валентності порушуються, зберігається лише електрична нейтральність). Аналіз одержаних результатів показує, що з усієї множини цвітеріонних таутомерів Ura і Cyt, у формуванні яких беруть участь карбопротони, найнижкоенергетичнішими з них є ті, що утворюються шляхом міграції карбопротонів в основній молекулярній таутомерній формі з фіксованими імінопротонами. З огляду на це доцільно обмежитися детальним аналізом саме цієї підмножини таутомерів-цвітеріонів. Це дозволяє, не розпорошуючи увагу на другорядні деталі, отримати принципові висновки, не поступаючись загальністю і послідовністю.

Підмножина прототропних цвітеріонних таутомерів Ura, що утворюються шляхом міграції карбопротонів H5 і H6 в основній молекулярній таутомерній формі [3] з фіксованими імінопротонами, розміщуючись в діапазоні відносних енергій ≈ 82 ккал/моль, складається з 11 структур (рис. 1, табл. 1). Всі вони, за винятком пари цвітеріонів-енантіомерів VI, VII, мають планарну (симетрія C_2) дипольно-стійку будову зі значно меншими за амплітуди теплових непланарних коливань відхиленнями атомів від площинності. Суттєво непланарні (симетрія C_1) цвітеріони-енантіомери VI і VII, максимальні відхилення деяких атомів котрих від площинності (на рис. 1 вони позначені знаками «+» і «-») сягають $\pm 0,52 \div 0,62$ Å, мають тотожні скалярні фізико-хімічні характеристики і відрізняються лише просторовою орієнтацією вектора дипольного моменту. Квантовохімічна природа їхньої непланарності не зводиться лише до стеричного фактору, а саме: відштовхування гідроксильної групи від сусіднього імінопротона, і є досить складною. Таутомери-цвітеріони II, IV, VI, VII, IX, XI є високоенергетичнішими ротамерами таутомерів-цвітеріонів I, III, V, VIII, X відповідно: вони утворюються з останніх шляхом повороту відповідної гідроксильної групи на кут 180° навколо ординарного зв'язку CO. Привертає увагу те, що більшість таутомерів-цвітеріонів Ura мають вищі, ніж молекулярні таутомери [3], дипольні моменти (таутомер-цвітеріон V має аномально низький дипольний момент 0,15 D) і перші адіабатичні потенціали іонізації (див. табл. 1). Характерно, що високоенергетичніше цвітеріонне підсімейство таутомерів Ura відокремлене від низькоенергетичнішого молекулярного підсімейства таутомерів істотною енергетичною щільною, що складає 21,4 ккал/моль. При цьому відносна енергія, що відраховується від основного молекулярного таутомерного стану, енергетично найвигіднішого таутомера-цвітеріона I (див. рис. 1 і табл. 1), який утворюється за рахунок переходу карбопротона H6 на атом кисню O4 з цис-орієнтацією карбоксилу

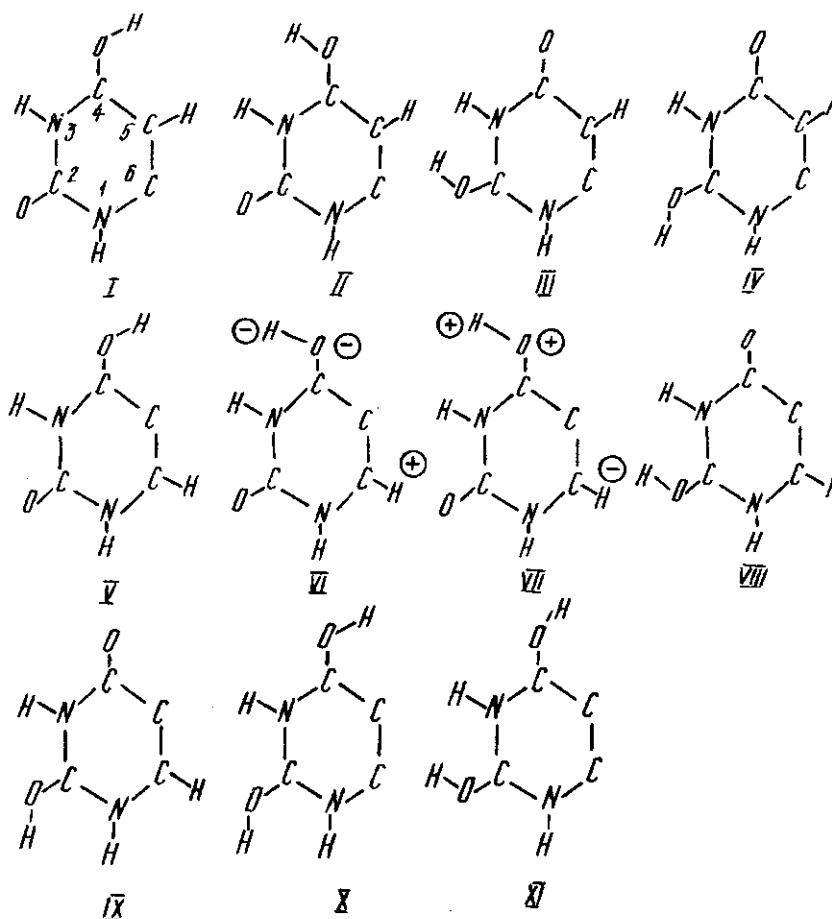


Рис. 1. Сімєство прототропних таутомерів-цвітеріонів урацилу, котрі утворюються шляхом міграції карбопротонів в основній молекулярній таутомерній дикетоформі з фіксованими імінопротонами. Тут і на рис. 2 знаками «+» і «-» позначено максимальні відхилення атомів від площинності

Таблиця 1
Деякі фізико-хімічні характеристики прототропних таутомерів-цвітеріонів урацилу, розраховані напівемпіричним квантовомеханічним методом AM1 в режимі оптимізації всіх структурних параметрів з нормою градієнта < 0,01

Таутомер (див. рис. 1)	Теплота утворення, ккал/моль	Дипольний момент, D	Потенціал іонізації, eV
I*	-11,87	3,21	9,10
II	-9,66	3,69	9,11
III	3,68	6,72	8,81
IV	4,03	6,94	8,81
V	8,27	0,15	8,62
VI, VII	16,29	1,72	8,57
VIII	22,31	7,95	8,12
IX	23,27	8,80	8,11
X	70,05	6,59	7,93
XI	70,22	7,32	7,93

*Повна енергія таутомера-цвітеріона I з нерухливими ядрами складає -37360,03 ккал/моль.

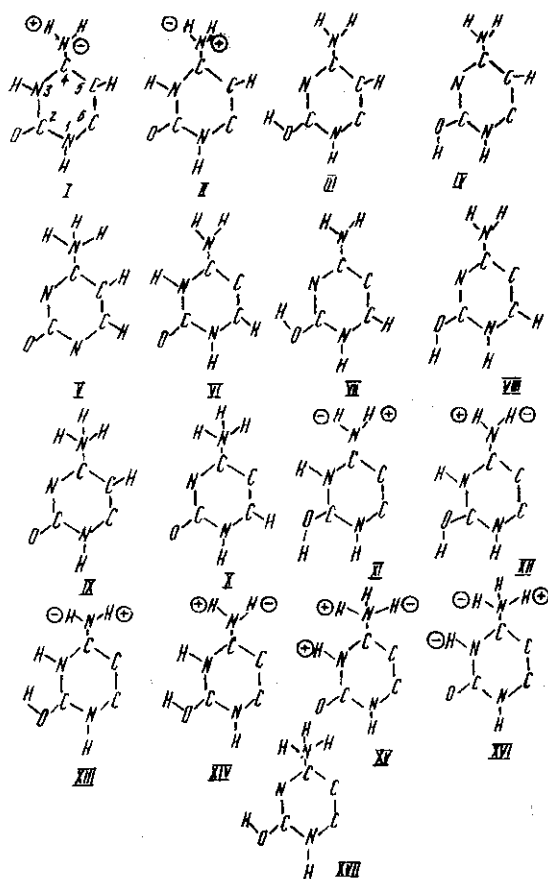


Рис. 2. Сімейство прототропних таутомерів-цвітеріонів цитозину, котрі утворюються шляхом міграції карбопротонів в основній молекулярній таутомерній формі з фіксованими імінопротонами

відносно хімічного зв'язку C5C6, становить близько 42,2 ккал/моль, що майже в 2,5 раза перевищує аналогічну величину для основної ілідної форми основ пуринового ряду та імідазолу [8]. Саме цей факт пояснює, чому в Ura воднево-третієвий обмін групи C6H6 з водою при сприятливих рН практично відсутній [12—15] у порівнянні з основами пуринового ряду та імідазолу [12—15]. При цьому перехідним станом цієї реакції є таутомер-цвітеріон I, який формується шляхом естафетного протонування (атома кисню O4 з цис-орієнтацією карбоксилу відносно хімічного зв'язку C5C6) — депротонування (зв'язку C6H6) за участю протонів оточуючого водного середовища.

Підмножина прототропних цвітеріонних таутомерів Cyt, що утворюються як шляхом міграції імінопротонів (структура V), так і завдяки міграції карбопротонів H5 і H6 в основній молекулярній таутомерній формі [3] з фіксованими імінопротонами, займає діапазон відносних енергій 89 ккал/моль і складається з 17 структур (рис. 2, табл. 2). Всі вони, за винятком чотирьох пар цвітеріонів-енантіомерів I і II, XI і XII, XIII і XIV, XV і XVI, мають плоскосиметричну (симетрія C_s) (структури III, IV, VI, VII, VIII — планарну) дипольно-стійку будову зі значно меншими за амплітуди фундаментальних непланарних коливань відхиленнями атомів від плоскосиметричності (площинності для планарних структур). Чотири пари вищезгаданих суттєво непланарних (симетрія C_1) цвітеріонів-енан-

Таблиця 2

Деякі фізико-хімічні характеристики прототропних таутомерів-цвітеріонів цитозину, розраховані напівемпіричним квантовомеханічним методом AM1 в режимі оптимізації всіх структурних параметрів з нормою градієнта $< 0,01$

Таутомер (див. рис. 2)	Теплота утворення, ккал/моль	Дипольний момент, D	Потенціал іонізації, eV
I, II*	31,55	5,13	8,76
III	38,13	3,45	8,65
IV	44,67	1,32	8,64
V	48,28	13,23	8,14
VI	51,20	2,99	8,09
VII	59,02	2,93	7,78
VIII	66,40	3,16	7,77
IX	70,80	10,80	8,04
X	83,45	7,28	8,03
XI, XII	114,84	6,52	7,69
XIII, XIV	115,11	7,28	7,74
XV, XVI	117,31	9,56	8,00
XVII	120,35	8,02	7,61

*Повна енергія таутомера-цвітеріона I (чи його енантіомера II) з нерухливими ядрами складає $\sim 35063,46$ ккал/моль.

тіомерів (максимальні відхилення атомів від площинності для них не перевищують $\pm 0,87$ Å — на рис. 2 вони позначені знаками «+» і «-») мають попарно тотожні скалярні фізико-хімічні характеристики і відрізняються лише просторовою орієнтацією вектора дипольного моменту. Квантово-хімічна природа їхньої непланарності досить складна і не зводиться лише до тривіального стеричного фактору. Таутомери-цвітеріони IV, VIII, XIII і XIV є високоенергетичнішими ротамерами таутомерів-цвітеріонів III, VII, XI і XII відповідно: вони утворюються з останніх внаслідок повороту відповідної гідроксильної групи на кут 180° навколо ординарного хімічного зв'язку CO. Більшість таутомерів-цвітеріонів Cyt мають вищі, ніж молекулярні таутомери [3], дипольні моменти і потенціали іонізації (див. табл. 2). Характерно, що високоенергетичніша цвітеріонна підмножина таутомерів Cyt відокремлена від більш низькоенергетичної підмножини молекулярних таутомерів істотною енергетичною щільною $12,6$ ккал/моль, яка значно менша порівняно з Ura. При цьому відносна енергія, що відраховується від енергії основного молекулярного таутомера [3], енергетично найвищого таутомера-цвітеріона I (див. рис. 2 і табл. 2), який формується за рахунок міграції карбопротона H6 на ендациклічний атом азоту N3, складас $29,1$ ккал/моль, що значно нижче, ніж в Ura, але майже вдвічі перевищує аналогічну величину для основної ілідної форми основ пуринового ряду та імідазолу [8]. Надто висока енергія перехідного стану (таутомер-цвітеріон I, що формується шляхом естафетного протонування (атома азоту N3) — депротонування (зв'язку C6H6) за участю протонів водного середовища) призводить до того, що і в Cyt воднево-третієвий обмін групи C6H6 з водою при сприятливих рН практично відсутній [13—16] у порівнянні з основами пуринового ряду та імідазолом [13—16], хоча і дещо помітніший, ніж в Ura.

Наостанок зазначимо, що масиви повної числової інформації щодо геометричної та електронної структури цвітеріонів-таутомерів Ura і Cyt зберігаються у комп'ютерному банку даних відділу молекулярної біофізики

Інституту молекулярної біології та генетики НАН України.

Роботу виконано при фінансовій підтримці Державного комітету України з питань науки і технологій та Міжнародного наукового фонду «Україна» (грант K1F100).

Д. П. Говорун, И. В. Кондратюк

Квантовохимические расчеты свидетельствуют — прототропная таутомерия канонических нуклеотидных оснований имеет молекулярно-цвиттерионный характер. 1. Пиримидины

Резюме

Полуэмпирическим квантовохимическим методом AM1 в режиме оптимизации всех структурных параметров исследована прототропная цвиттерионная таутомерия урацила (Ura) и цитозина (Cyt) в свободном состоянии. Показано, что прототропная таутомерия канонических нуклеотидных оснований пиримидинового ряда имеет молекулярно-цвиттерионный характер, а в основе этого явления лежит достаточно высокая СН-кислотность этих соединений в сочетании с ярко выраженной основностью. Установлено, что более высокоэнергетичное подсемейство таутомеров-цвиттерионов Ura и Cyt отделено от более низкоэнергетичного подсемейства молекулярных таутомеров существенной энергетической щелью (21,4 и 12,6 ккал/моль в Ura и Cyt соответственно). При этом относительная энергия энергетически наиболее выгодного таутомера-цвиттериона, формирующегося за счет миграции карбопротона, соединенного с атомом углерода С6, на атом азота N3 в Cyt и атом кислорода О4 с цис-ориентацией гидроксильной группы относительно химической связи С5С6 в Ura (42,3 ккал/моль для Ura и 29,1 ккал/моль для Cyt), значительно превышает аналогичную величину для оснований илльной формы оснований пуринового ряда и имидазола. Это позволяет объяснить, почему в Ura и Cyt водородно-третий обмен группы С6Н6 с водой при благоприятных рН практически не происходит в сравнении с основаниями пуринового ряда и имидазола, если принять во внимание, что в качестве переходного состояния этой реакции выступает именно энергетически наиболее выгодный таутомер-цвиттерион, образующийся при участии протонов водной среды путем эстафетного протонирования (атома О4 в Ura и атома N3 в Cyt) — депротонирования (связи С6Н6).

D. M. Govorun, I. V. Kondratyuk

The quantum mechanical calculations evidence molecular-zwitterionic features of prototropic tautomerism of canonical nucleotide bases. 1. Pyrimidines

Summary

A prototropic zwitterionic tautomerism of free uracil (Ura) and cytosine (Cyt) was investigated by the semi-empirical quantum-mechanical AM1 method at the full optimization of structural parameters. The prototropic tautomerism of canonical pyrimidine nucleotide bases was shown to be molecular-zwitterionic in nature, rather high CH-acidity in combination with the pronounced basicity being of the root of this phenomenon. It was found that the higher energetically subfamilies of zwitterionic tautomers Ura and Cyt are separated from the lower energetically subfamilies of molecular tautomers by the significant energetical gap (21,4 kcal/mol for Ura and 12,6 kcal/mol for Cyt). In this case, relative energy (42,3 kcal/mol for Ura and 29,1 kcal/mol for Cyt) of the lowest energetically zwitterionic tautomers, formed by migration of C6H carboproton to Cyt N3 nitrogen atom and Ura O4 oxygen atom with the cis-position to C5H6 bond of resulting hydroxyl bond exceed significantly such values of main tautomeric forms of purine nucleotide bases and imidazole. It makes clear why there is practically no hydrogen-tritium exchange of Ura and Cyt C6H6 groups with water under favourable pH values, unlike situation in the case of purine bases and imidazole, if one takes in consideration that it is just the lowest energetically zwitterionic tautomer which is an intermediate state of such reaction, water proton participating in formation of it by protonation of Ura O4 and Cyt N3 atoms accompanying deprotonation of C6H6 bonds.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Kwiatkowski J. S., Person W. B. The tautomerism of the nucleic acid bases: from non-interacting to interacting bases // Theor. biochem. and mol. biophys.— New York: Adenine press, 1990.—P. 153—171.
2. Шеина Г. Г. Прототропная таутомерия пуриновых и пиримидиновых оснований нуклеиновых кислот: Автореф. дис. ... д-ра хим. наук.— Киев: Ин-т биоорг. химии и

- нсфтехимии АН Украины, 1992.—42 с.
3. *Norinder U.* A theoretical reinvestigation of the nucleic bases adenine, guanine, cytosine, thymine and uracil using AM1 // *J. Mol. Struct.*—1987.—151.—P. 259—269.
 4. *Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В.* Прототропна молекулярно-цвітеріонна таутомерія імідазолу та піримідину // *Биополимеры и клетка.*—1995.—11, № 6.—С. 41—44.
 5. *Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В.* Прототропна молекулярно-цвітеріонна таутомерія пурину // *Там же.*—С. 45—50.
 6. *Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В.* Нуклеотидні основи як СН-кислоти // *Там же.*— № 5.—С. 15—20.
 7. *Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В.* Кислотно-лужні властивості піримідину, імідазолу та пурину у вільному стані: розрахунок методом AM1 // *Там же.*—С. 21—23.
 8. *Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В.* Про фізико-хімічний механізм воднево-тригієвого обміну групи С8Н8 нуклеотидних основ пуринового ряду з водою // *Там же.*— № 3—4.—С. 24—28.
 9. *Говорун Д. М., Кондратюк І. В.* Квантовохімічне дослідження протонодонорних-протоно-акцепторних властивостей канонічних нуклеотидних основ: пурини // *Там же.*—1996.—12.— (В друці)
 10. *Говорун Д. М., Кондратюк І. В.* Квантовохімічне дослідження протонодонорних-протоно-акцепторних властивостей канонічних нуклеотидних основ: піримідини // *Там же.*— (В друці).
 11. *Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В.* Прототропна молекулярно-цвітеріонна таутомерія ксантину: розрахунок методом AM1 // *Там же.*—1994.—10, № 6.—С. 52—60.
 12. *Voerth D. W., Harding F. X., Jr.* Theoretical investigation of acidity and isotope exchange in purine nucleotide cations // *J. Amer. Chem. Soc.*—1985.—107, N 10.—P. 2952—2969.
 13. *Маслова Р. Н., Лесник Е. А., Варшавский Я. М.* Кинетика и механизм $^1\text{H} \rightarrow ^3\text{H}$ -обмена в $\text{C}_{(8)}\text{H}$ -группах производных пурина // *Молекуляр. биология.* — 1975. — 9, № 2. — С. 310—320.
 14. *Агранович И. М.* Конформационные особенности ДНК в растворе и в биологических объектах, выявляемые методом медленного $^1\text{H} \rightarrow ^3\text{H}$ -обмена: Автореф. дис. ... канд. хим. наук.— М: ИМБ АН СССР, 1985.—21 с.
 15. *Benevides J. M., Leteur D., Thomas G. J., Jr.* Molecular conformation and 8-CN exchange rates of purine ribo- and deoxyribonucleotides: investigation by Raman spectroscopy // *Biopolymers.*—1984.—23, N 6.—P. 1011—1024.