

Стабільність мутагенних таутомерів урацилу та його галогенових похідних: результати квантово-механічного дослідження

О. О. Броварець^{1,2}, Д. М. Говорун^{1,3}

¹Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, Україна, 03680

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Вул. Володимирська, 64, Київ, Україна, 03127

³Інститут високих технологій Київського національного університету імені Тараса Шевченка
Просп. Академіка Глушкова, 2, корп. 5, Київ, Україна, 03127

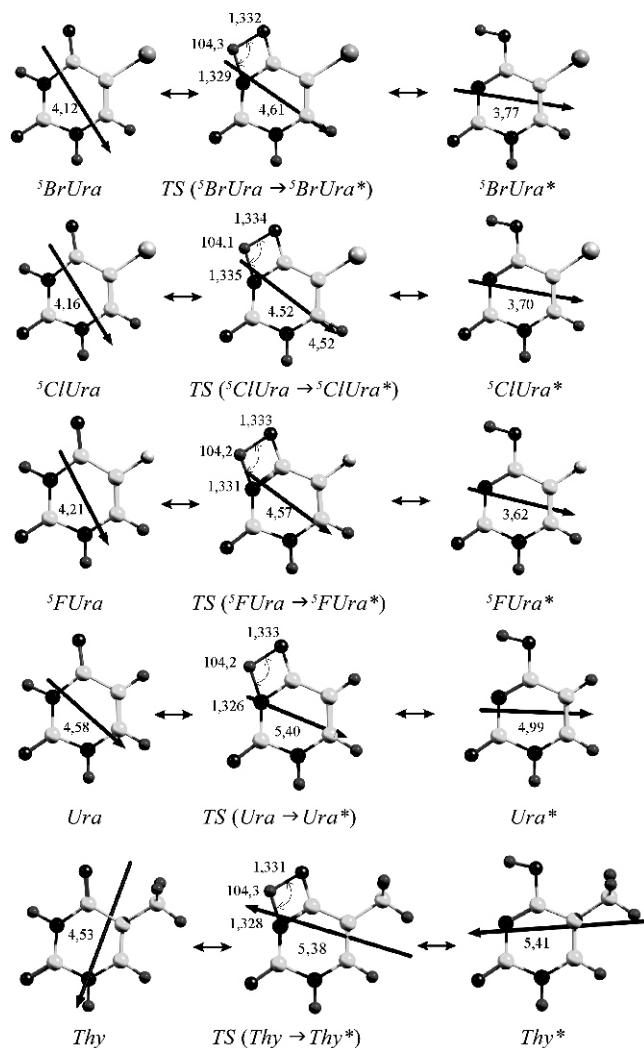
brovarets@list.ru

Мета. Дослідити квантово-механічними методами внутрішньомолекулярну таутомеризацію урацилу (Ura) та вплив на цей процес заміни метильної (Me) групи тиміну (Thu) на галоген. **Методи.** Неемпірична квантова механіка, аналіз топології електронної густини за Бейдером, фізико-хімічна кінетика. **Результати.** Вперше встановлено, що заміна Me-групи тиміну на галоген (Br, F, Cl) практично не впливає на основні фізико-хімічні характеристики внутрішньомолекулярної таутомеризації. Водночас енергія таутомеризації Ura у порівнянні з аналогічною величиною для Thu збільшується на 3,08 ккал/моль за нормальних умов. **Висновки.** Таким чином, Thu (на противагу від Ura), очевидно, здатний як канонічна нуклеотидна основа ДНК забезпечити разом із Ade, Gua і Cyt прийнятний рівень мінливості геному з точки зору його адаптаційного резерву. Мутагенна дія галогенопохідних Ura безпосередньо не пов'язана з їхньою таутомеризацією.

Ключові слова: основи ДНК, урацил, мутагенні таутомери, галогенізація урацилу, час життя, внутрішньомолекулярна таутомеризація, квантово-механічні розрахунки.

Вступ. У попередній нашій праці [1] сучасними квантово-механічними методами на рівні теорії MP2/6-311++G(2df,pd)//DFT B3LYP/6-311++G(d,p) досліджено внутрішньомолекулярну таутомеризацію, тобто перехід із основної (низькоенергетичної) таутомерної форми у рідкісну (мутагенну), канонічних основ ДНК – аденіну (Ade), гуаніну (Gua), цитозину (Cyt) і тиміну (Thu). Вперше показано, що час життя мутагенних таутомерів значно перевищує час реплікації ДНК у клітині.

Ця робота є логічним продовженням попередньої [1] і присвячена квантово-механічному дослідженню внутрішньомолекулярної таутомеризації урацилу (Ura) та впливу на неї заміни Me-групи Thu на галоген. Цікавість до цієї біологічно важливої теми зумовлена щонайменше двома причинами: Ura є основним продуктом спонтанного пошкодження ДНК внаслідок дезамінування Cyt за участі молекул води [2, 3], а галогенові похідні Ura – ⁵XUra (X = Br, Cl, F) – є класичними мутагенами, молекулярні механізми дії котрих тривалий час дискутуються у літературі [4–9]. Нам вперше вда-



Внутрішньомолекулярна таутомеризація тиміну, урацилу та деяких його галогенпохідних: геометричне (довжини хімічних зв'язків за участі протона, що мігрує, подано в Å, валентний кут між ними – у град) та електричне (дипольний момент позначено стрілкою – його абсолютне значення наведено в Дебаях) представлення

лося показати, що заміна метильної групи Thy на галогени F, Br і Cl практично не впливає на процес внутрішньомолекулярної таутомеризації; водночас Ura демонструє у порівнянні з Thy помітне (на 3,08 ккал/моль за нормальних умов) підвищення енергії таутомеризації Гіббса.

Матеріали і методи. Об'єктами вивчення слугували Thy, Ura та низка його галогенпохідних – ⁵BrUra, ⁵ClUra і ⁵FUra. Досліджували внутрішньо-

молекулярну таутомеризацію Ura та вплив на неї його галогенізації. Використано сучасні квантово-механічні методи на рівні теорії MP2/6-311++G (2df,pd)//B3LYP/6-311++G(d,p) (детальніше див. [1]).

Результати і обговорення. Отримані результати представлено на рисунку та в таблиці. Вони дозволяють зробити висновок про те, що заміна Me-групи Thy на галоген практично не впливає на основні фізико-хімічні характеристики внутрішньомолекулярної таутомеризації. Так, кут N3HO4 (H – протон, що мігрує) між розрихленими хімічними зв'язками N3H і O4H у перехідному стані таутомеризації змінюється не більше, ніж на 0,2 град, а їхні довжини – не більше, ніж на 0,009 і 0,002 Å відповідно. При цьому значення електронної густини та лапласіану електронної густини для зв'язків N3H і O4H у перехідному стані таутомеризації лежать у доволі вузьких межах: $n_{N3H} = 0,134 \text{ } 0,137 \text{ а. о.}$, $n_{O4H} = 0,131 \text{ } 0,132 \text{ а. о.}$; $\rho_{N3H} = -0,093 \text{ } -0,103 \text{ а. о.}$, $\rho_{O4H} = -0,023 \text{ } -0,026 \text{ а. о.}$ Як і в Thy [1], заміна протона, що мігрує, у досліджених сполуках на дейтерій приблизно у 5 разів (таблиця) підвищує час життя їхніх мутагенних таутомерів за рахунок зниження імовірності тунелювання.

Спостерігається також паралелізм і в зміні орієнтації та абсолютної величини дипольного моменту молекул при таутомеризації: в усіх випадках, окрім Ura, значення дипольних моментів зростають у такому порядку – основа в мутагенній таутомерній формі, основа в канонічній таутомерній формі, перехідний стан внутрішньомолекулярної таутомеризації. Для Ura вищезгаданий порядок є зворотним. Окрім того, Ura вирізняється з-поміж досліджених молекул також і орієнтацією дипольного моменту – як для основної, так і особливо для мутагенної таутомерної форми ортогональна складова його дипольного моменту відносно глікозидного зв'язку є максимальною серед зазначених молекул. Зауважимо, що зміна ортогональної (до глікозидного зв'язку) складової дипольного моменту основи при її таутомеризації може бути відповідальною за зміну орієнтації основи відносно цукрового залишку канонічних 2'-дезоксирибонуклеозидів при таутомеризації їхніх основ (особливо піримідинових) [10].

Основні енергетичні та кінетичні характеристики внутрішньомолекулярної таутомеризації тиміну, урацилу та деяких його галогенопохідних

Перехід	G , ккал/моль	k , с ⁻¹	t , с	D/H	$t_{1/2}$, с	$-i$, с ⁻¹	Γ	G , ккал/моль	K
⁵ BrUra → ⁵ BrUra*	39,55	6,10 · 10 ⁻¹⁷	1,64 · 10 ¹⁶	–	1,14 · 10 ¹⁶	1847,9	4,07	11,45	4,01 · 10 ⁻⁹
⁵ BrUra* → ⁵ BrUra	28,10	1,52 · 10 ⁻⁸	6,57 · 10 ⁷	4,92	4,56 · 10 ⁷	1847,9	4,07	-11,45	2,49 · 10 ⁸
⁵ BrUra _D * → ⁵ BrUra	29,04	3,09 · 10 ⁻⁹	3,24 · 10 ⁸	4,92	2,24 · 10 ⁸	1341,3	2,87	–	–
⁵ FUra → ⁵ FUra*	40,41	1,42 · 10 ⁻¹⁷	7,06 · 10 ¹⁶	–	4,90 · 10 ¹⁶	1847,6	4,07	11,80	2,20 · 10 ⁻⁹
⁵ FUra* → ⁵ FUra	28,61	6,44 · 10 ⁻⁹	1,55 · 10 ⁸	4,90	1,08 · 10 ⁸	1847,6	4,07	-11,80	4,55 · 10 ⁸
⁵ FUra _D * → ⁵ FUra	29,55	1,31 · 10 ⁻⁹	7,61 · 10 ⁸	4,90	5,27 · 10 ⁸	1341,1	2,87	–	–
⁵ ClUra → ⁵ ClUra*	39,73	4,47 · 10 ⁻¹⁷	2,24 · 10 ¹⁶	–	1,55 · 10 ¹⁶	1848,3	4,07	11,49	3,72 · 10 ⁻⁹
⁵ ClUra* → ⁵ ClUra	28,24	1,20 · 10 ⁻⁸	8,32 · 10 ⁷	4,91	5,77 · 10 ⁷	1848,3	4,07	-11,49	2,69 · 10 ⁸
⁵ ClUra _D * → ⁵ ClUra	29,18	2,45 · 10 ⁻⁹	4,09 · 10 ⁸	4,91	2,83 · 10 ⁸	1341,6	2,87	–	–
Ura → Ura*	38,85	1,97 · 10 ⁻¹⁶	5,07 · 10 ¹⁵	–	3,51 · 10 ¹⁵	1837,1	4,03	14,72	1,61 · 10 ⁻¹¹
Ura* → Ura	24,14	1,23 · 10 ⁻⁵	8,15 · 10 ⁴	4,94	5,65 · 10 ⁴	1837,1	4,03	-14,72	6,22 · 10 ¹⁰
Ura _D * → Ura	25,08	2,48 · 10 ⁻⁶	4,03 · 10 ⁵	4,94	2,79 · 10 ⁵	1333,3	2,85	–	–
Thy → Thy*	39,09	1,32 · 10 ⁻¹⁶	7,60 · 10 ¹⁵	–	5,27 · 10 ¹⁵	1903,1	4,25	11,64	2,88 · 10 ⁻⁹
Thy* → Thy	27,45	4,57 · 10 ⁻⁸	2,19 · 10 ⁷	4,91	1,52 · 10 ⁷	1903,1	4,25	-11,64	3,47 · 10 ⁸
Thy _D * → Thy	28,39	9,32 · 10 ⁻⁹	1,07 · 10 ⁸	4,91	–	1381,3	2,99	–	–

Примітка. Позначення параметрів на рисунку та в тексті; індекс D означає дейтерування протона, що мігрує; k – константа швидкості; t – час життя; D/H – відношення часу життя при дейтеруванні; $t_{1/2}$ – час напівжиття; i – дійсне значення уявної частоти; Γ – фактор Вігнера; K – стала таутомерної рівноваги.

Галогенізація Ura не впливає також на енергетичні та кінетичні параметри таутомеризації (таблиця). Водночас енергія таутомеризації Ura G у порівнянні з аналогічною величиною для Thy збільшується на 3,08 ккал/моль за нормальних умов. Унаслідок цього стала таутомерної рівноваги Ura → Ura* зменшується більше, ніж на два десяткових порядки.

Таким чином, Thy на противагу Ura як канонічна нуклеотидна основа ДНК здатний, очевидно, забезпечити разом із Ade, Gua і Cyt прийнятний рівень мінливості геному з точки зору його адаптаційного резерву [11, 12].

Насамкінець, спираючись на отримані кінетичні характеристики таутомеризації, доходимо висновку про те, що класична таутомерна гіпотеза Вотсона-Крика [13] може бути поширена на Ura та його галогенові похідні такою ж мірою, як і на канонічні основи ДНК [1], а мутагенна дія ⁵XUra (X =

= Br, Cl, F) безпосередньо не пов'язана із їхньою таутомеризацією.

O. O. Brovarets', D. M. Hovorun

Stability of mutagenic tautomers of uracil and its halogen derivatives: the results of quantum-mechanical investigation

Summary

Aim. To investigate using the quantum-mechanical methods uracil (Ura) intramolecular tautomerisation and the effect of the thymine (Thy) methyl (Me) group substitution by the halogen on that process. **Methods.** Non-empirical quantum mechanic, analysis of the electron density by means of Bader's atom in molecules (AIM) theory and physicochemical kinetics were used. **Results.** For the first time it has been established that the substitution of thymine Me-group for the halogen (Br, F, Cl) has practically no effect on the main physico-chemical characteristics of intramolecular tautomerisation. At the same time, the energy of Ura tautomerisation increases for 3,08 kcal/mol in comparison with corresponding value for Thy under standard conditions. **Conclusions.** So, Thy, unlike Ura, is obviously able, as a canonical DNA nucleotide base, to provide together with Ade, Gua and Cyt an acceptable mutability degree of the genome from the point of view of

its adaptation reserve. Mutagenic action of the Ura halogen derivatives is not directly associated with their tautomerisation.

Key words: DNA bases, uracil, mutagenic tautomers, uracil halogenation, lifetime, intramolecular tautomerisation, quantum-mechanical calculations.

О. А. Броварец, Д. Н. Говорун

Стабильность мутагенных таутомеров урацила и его галогеновых производных: результаты квантово-механического исследования

Резюме

Цель. Исследовать квантово-механическими методами внутримолекулярную таутомеризацию урацила (Ura) и влияние на этот процесс замещения метильной (Me) группы тимина (Thy) на галоген. **Методы.** Неэмпирическая квантовая механика, анализ топологии электронной плотности по Бейдеру, физико-химическая кинетика. **Результаты.** Впервые установлено, что замещение Me-группы тимина на галоген (Br, F, Cl) практически не влияет на основные физико-химические характеристики внутримолекулярной таутомеризации. В то же время энергия таутомеризации Ura в сравнении с аналогичной величиной для Thy возрастает на 3,08 ккал/моль при нормальных условиях. **Выводы.** Таким образом, Thy в отличие от Ura как каноническое нуклеотидное основание ДНК способен, очевидно, обеспечивать вместе с Ade, Gua и Cyt приемлемый уровень изменчивости генома с точки зрения его адаптационного резерва. Мутагенное действие галогенпроизводных Ura не связано непосредственно с их таутомеризацией.

Ключевые слова: основания ДНК, урацил, мутагенные таутомеры, галогенирование урацила, время жизни, внутримолекулярная таутомеризация, квантово-механические расчеты.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Brovarets' O. O., Hovorun D. M. How stable are the mutagenic tautomers of DNA bases? // Biopolym. cell.–2010.– **26**, N 1.–P. 72–76.
2. Drake J. W., Baltz R. H. The biochemistry of mutagenesis // Annu. Rev. Biochem.–1976.–**45**.–P. 11–37.
3. Fryxell K. J., Zuckerkandl E. Cytosine deamination plays a primary role in the evolution of mammalian isochores // Mol. Biol. Evol.–2000.–**17**, N 9.–P. 1371–1383.

4. Litman R. M., Pardee A. B. The induction of mutants of bacteriophage T2 by 5-bromouracil. III. Nutritional and structural evidence regarding mutagenic action // Biochim. Biophys. Acta.–1960.–**42**.–P. 117–130.
5. Rudner R., Shapiro H., Chargaff E. Distribution of 5-bromouracil among the pyrimidine clusters of the deoxyribonucleotide acid of *E. coli* // Nature.–1962.–**195**, N 4837.–P. 143–146.
6. Kramer G., Wittmann H. G., Schuster H. Die Erzeugung von Mutanten des Tabakmosaikvirus durch den Einbau von Fluorouracil in die Virus-nukleinsäure // Z. Naturforsch. B.–1964.–**19**.–P. 46–51.
7. Cooper P. D. The mutation of poliovirus by 5-fluorouracil // Virology.–1964.–**22**, N 2.–P. 186–192.
8. Hanus M., Kabela M., Nachtigallova D., Hobza P. Mutagenic properties of 5-halogenuracils: correlated quantum chemical *ab initio* study // Biochemistry.–2005.–**44**, N 5.–P. 1701–1707.
9. Orozco M., Hernandez B., Luque F. J. Tautomerism of 1-methyl derivatives of uracil, thymine, 5-bromouracil. Is tautomerism the basis for the mutagenicity of 5-bromouridine? // J. Phys. Chem. B.–1998.–**102**, N 26.–P. 5228–5233.
10. Kochina O. S., Zhyrakivsky R. O., Hovorun D. M. The influence of the nucleotide bases tautomerisation on the conformational properties of the nucleosides: quantum-mechanical investigation by using the method of the density functional // Repts NAS of Ukraine.–2008.–N 1.–P. 181–186.
11. Inge-Vechtomov S. G. Neodnoznachnost' matrichnykh protsessov kak faktor adaptatsii // Sistemy nadezhnosti kletki / Pod red. D. M. Grodzinskogo.–Kyiv: Nauk. dumka, 1977.–P. 75–85.
12. Lantsov V. A. Reparatsiya DNK i kantserogenez: universalnye mekhanizmy reparatsii u pro- i eukariot i posledstviya ikh povrezhdeniya u cheloveka // Molekulyar. biol.–1998.–**32**, N 5.–P. 757–772.
13. Watson J. D., Crick F. H. C. The structure of DNA // Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.– 1953.–**18**.–P. 123–131.

УДК 577.3

Надійшла до редакції 27.01.10