

НУКЛЕОТИДНІ ОСНОВИ ЯК СН-КИСЛОТИ *

Напівемпіричним квантовохімічним методом АМ1 в режимі оптимізації всіх структурних параметрів досліджено газофазну СН-кислотність ряду пуринових (Ade, Gua, Xap, Hup і Pur), піримідинових (Ura, Thy, Cyt і Pyr) нуклеотидних основ та імідазолу (Im). Порівняння енергії депротонування зв'язків СН, яка визначає протонодонорні властивості останніх (чим менша енергія депротонування зв'язку, тим сильніша його протонодонорна функція) і лежить в діапазоні 350,8 ккал/моль (Hup) — 403,4 ккал/моль (Im), з зарядами на атомах водню груп СН, їхніми рівноважними довжинами і частотами валентних СН-коливань свідчить про те, що на відміну від «нормальних» органічних СН-кислот, для нуклеотидних основ не вдається зафіксувати простих кореляційних співвідношень між СН-кислотністю і фізико-хімічними параметрами, що її визначають. Це пояснюється тим, що в стабілізацію карбаніонів нуклеотидних основ істотної, якщо не вирішальної, внесок на фоні індуктивного механізму дають ефекти електронного спряження — про це свідчить значна делокалізація надлишкового негативного заряду при депротонуванні зв'язків СН. Отримана в роботі кількісна інформація щодо газофазної СН-кислотності нуклеотидних основ може бути використана, зокрема, для прогнозування внеску водневих зв'язків за участю груп СН азотистих основ у високоспецифічні білково-нуклеїнові контакти.

Вступ. Останнім часом в структурній біології все більше уваги приділяється водневим зв'язкам, у яких протонодонорами служать групи СН (див., наприклад, [1—4] і цитовану там літературу). Вважається, що попри їхню відносно слабкість, вони відіграють поряд з найрозповсюдженішими і найкраще вивченими «класичними» водневими зв'язками типу NH...N, NH...O, OH...O і OH...N важливу роль, зокрема, у високомолекулярному впізнаванні.

Так, існуванням таких Н-зв'язків пояснюють додаткову стабілізацію ряду помилкових пар нуклеотидних основ в основній таутомерній формі, помилки при біосинтезі нуклеїнових кислот за участю алкілованих основ, а також включення в полінуклеотидний ланцюг деяких аналогів нуклеотидів, не здатних вступати у «класичні» водневі зв'язки [1]. Саме здатністю утворювати міжмолекулярні водневі зв'язки типу СН...O і СН...N інваріантними місцями правильних нуклеотидних пар (група С6Н6 піримідинових і група С8Н8 пуринових основ) поряд з «класичними» Н-зв'язками пояснюється механізм ферментативно-нуклеотидного впізнавання при біосинтезі нуклеїнових кислот [2].

Окрім того, Н-зв'язки за участю груп СН виявлено в кристалах нуклеотидних основ і їхніх аналогів [5], при самоасоціації і сольватації метилпохідних нуклеотидних основ у розчині [6], а також при високоспецифічній точковій взаємодії деяких нуклеотидних основ з бічними радикалами амінокислот [7—10]. Існуванням такого типу водневих зв'язків поряд з «класичними» Н-зв'язками пояснюються також механізми каталітичної активності серин-гістидинових естераз, зокрема, хімотрипсину [11].

Проте, порівняно з «класичними» водневими зв'язками, фізико-хімічні властивості Н-зв'язків за участю СН-груп нуклеотидних основ вивчено надзвичайно слабо. Це пов'язано, в першу чергу, з відомими

* Роботу виконано при фінансовій підтримці Державного комітету України з питань науки і технологій.

експериментальними труднощами — поганою розчинністю нуклеотидних основ в органічних розчинниках і їхньою високою NH-кислотністю [9, 10], на фоні якої зареєструвати набагато слабшу SH-кислотність дуже важко, а часто-густо — і просто неможливо. Ці труднощі долають шляхом модифікації основ, проте такий підхід дозволяє отримувати лише приблизну інформацію про SH-кислотність нуклеотидних основ, оскільки модифікація, зокрема метилювання, помітно збурює електронну структуру молекули. Чи не єдиним виходом з цієї ситуації є комп'ютерний експеримент на основі сучасних напівемпіричних квантовохімічних методів, котрий добре зарекомендував себе при дослідженні газофазної SH-кислотності широкого класу органічних сполук [12, 13].

Матеріали і методи. Методика квантовомеханічних розрахунків з використанням напівемпіричного методу AM1 (режим оптимізації всіх структурних параметрів з нормою градієнта $< 0,01$) детально викладена в попередніх наших роботах [9—11]. Квантовохімічне дослідження явища газофазної SH-кислотності ряду пуринових (Ade, Gua, Xap, Hup і Pur), піримідинових (Ura, Thy, Cyt і Pyr) нуклеотидних основ та імідазолу (Im) в основному таутомерному стані зводилося до розрахунку рівноважної геометричної та електронної структури як самих молекул, так і всіх їхніх карбаніонів у вільному стані і визначення на його основі енергетичних (енергія депротонування зв'язку SH), геометричних (рівноважна довжина зв'язку SH), електронних (заряди на всіх атомах, і в першу чергу — на атомі водню, зв'язаному з атомом вуглецю) та спектрально-коливальних (частота валентного коливання зв'язку SH) фізико-хімічних параметрів, які описують SH-кислотність.

Результати і обговорення. Отримані результати зібрані в табл. 1 і 2. Кореляційний аналіз вказує на відсутність статистично значимого зв'язку між енергією депротонування зв'язків SH та зарядами на їхніх атомах водню. Це означає, що нуклеотидні основи істотно відрізняються від «нормальних» SH-кислот [13, 14], протонодонорна здатність котрих визначається величиною заряду на атомі водню групи SH — кислотніші ті зв'язки, які мають на атомі водню більший позитивний заряд [15]. Ця відмінність пояснюється так. Відомо [16], що карбаніони «нормальних» SH-кислот стабілізуються, в основному, за рахунок індуктивного механізму [17], оскільки депротонування їхніх SH-зв'язків не супроводжується істотним перерозподілом негативного надлишкового заряду на атомах [18]. В нуклеотидних основах має місце зовсім інша ситуація: в стабілізацію їхніх карбаніонів суттєвий, якщо не вирішальний, внесок на фоні індуктивного механізму дають ефекти електронного спряження, про що свідчить значна делокалізація надлишкового заряду при депротонуванні зв'язків SH (див. табл. 2). Саме переважанням ефектів електронного спряження пояснюється той факт, що кислотність групи SH пуринових основ, як правило, перевищує SH-кислотність піримідинових основ і кислотність груп SH піримідинового фрагменту пуринових основ (див. табл. 1), оскільки імідазольний фрагмент пуринових основ є сильніше спряженою структурою, аніж піримідиновий фрагмент чи сам піримідин [9—11]. Подинокі винятки зумовлені переважаним внеском індуктивного ефекту.

До речі, наведені в табл. 2 заряди на атомах карбаніонів нуклеотидних основ та Im можуть бути використані для прогнозування змін SH-кислотності при переході з вільного стану в розчин. Згідно з сучасними уявленнями (див., наприклад, [12, 13, 16] і цитовану там літературу), утворення сольватних комплексів між молекулами протонодонорного розчинника і карбаніонами з делокалізованим зарядом малоімовірно, при цьому сольватація гетероароматичного карбаніона з атомом азоту в циклі збільшується по мірі локалізації заряду на ньому. Окрім цього, числові дані табл. 2 можуть бути корисними при віднесенні хімічних зсувів ^{13}C в спектрах ЯМР нуклеотидних основ.

На відміну від «нормальних» СН-кислот [13, 14], де спостерігається наступне корелятивне правило [19]: більшій кислотності (тобто меншій енергії депротонування СН-зв'язку) відповідає більша довжина зв'язку СН і менша частота його валентного коливання, в нуклеотидних основах ця кореляція ледь перевищує прийнятний для практичного використання рівень достовірності (див. табл. 1).

Отже, на противагу «нормальним» органічним СН-кислотам, для котрих вдається встановити прості кореляційні співвідношення між кислотністю і фізико-хімічними параметрами, що її детермінують, які мають послідовне квантовохімічне обґрунтування [15, 19], для нуклеотидних основ зробити це принципово неможливо. Більше того, навіть для кожної окремо взятої основи з кількома СН-кислотними центрами квантовохімічні чинники, що визначають їхні протонодонорні властивості, не є однопараметричними і знаходяться в складному взаємозв'язку.

На превеликий жаль, експериментальні дані по газофазній протонфільності карбаніонів нуклеотидних основ в літературі відсутні, що не дозволяє порівняти розрахункові результати з дослідними.

Насамкінець зауважимо, що співставляти енергію депротонування зв'язків СН з їхніми протонодонорними властивостями (чим менша енергія депротонування зв'язку, тим сильніша його протонодонорна функція) можна лише при одному і тому ж електронному стані атома С. Тому із усіх даних, наведених в табл. 1, які стосуються зв'язків $\geq C-H$, «випадають» результати для метильної групи Thy. Останні

Таблиця 1

Деякі енергетичні, геометричні, електронні і спектрально-коливальні характеристики, які визначають СН-кислотність нуклеотидних основ, розраховані методом АМ1 в режимі оптимізації всіх структурних параметрів з нормою градієнта $< 0,01$ у вакуумному наближенні

Молекула	СН-зв'язок	Енергія депротонування, ккал/моль	Довжина зв'язку, Å	Заряд на атомі водню, e	Частота валентного коливання, см ⁻¹ *
Ade	C2H2	373,2	1,112 (1)	0,189	2987
	C8H8	361,0	1,096 (4)	0,202	3073
Gua	C8H8	363,9	1,095 (3)	0,205	3080
	C8H8	357,8	1,097 (8)	0,211	3063
Urp	C2H2	350,8	1,112 (4)	0,186	2978
	C8H8	362,8	1,095 (8)	0,207	3076
Pur	C2H2	371,4	1,110 (7)	0,194	2992
	C6H6	379,6	1,104 (8)	0,180	3038
	C8H8	356,9	1,097 (8)	0,206	3064
Ura	C5H5	381,0	1,096 (4)	0,180	3102
	C6H6	359,1	1,106 (4)	0,163	3026
Thy	C6H6	359,5	1,106 (4)	0,163	3029
	C5 _{Me} H5	366,0	1,117 (0)	0,076	2953
	C5 _{Me} H'5**	366,0	1,119 (6)	0,099	2934
Cyt	C5H5	385,2	1,094 (2)	0,155	3115
	C6H6	364,1	1,106 (7)	0,152	3023
Pyr	C2H2	377,4	1,109 (7)	0,193	2998
	C4H4	382,7	1,104 (7)	0,166	3039
	C5H5	389,9	1,095 (2)	0,155	3110
	C6H6	382,7	1,104 (7)	0,166	3039
Im	C2H2	381,2	1,094 (2)	0,197	3089
	C4H4	403,4	1,088 (8)	0,179	3136
	C5H5	388,0	1,087 (2)	0,176	3149

* Наведено немасштабовані значення частот; ** еквівалентні атоми водню метильної (Me) групи, втягнуті у внутрішньомолекулярний водневий зв'язок з сусіднім атомом O4.

можуть порівнюватися лише з аналогічними даними для метильних груп інших метилпохідних нуклеотидних основ. Принагідно зазначимо, що фрагмент $\geq C-CH_3$ Thy досить сильно взаємодіє з π -електронною системою — про це свідчить значне скорочення (на 0,11 Å) зв'язку $C5-C5_{Me}$ при депротонуванні метильної групи та істотна асиметрія карбаніона. Є підстави очікувати послаблення цієї взаємодії у фрагменті $\geq N-CH_3$ метильованих нуклеотидних основ.

Таблиця 2

Заряди на атомах електрично нейтральних форм нуклеотидних основ і їхніх карбаніонів (місце депротонування позначено нижнім індексом), розраховані методом AM1 в режимі оптимізації всіх структурних параметрів з нормою градієнта $< 0,01$ у вакуумному наближенні.

Атом	Ade	Ade $^-_{H2}$	Ade $^-_{H8}$	Gua	Gua $^-_{H8}$	Xan	Xan $^-_{H8}$
N1	-0,273	-0,282	-0,257	-0,350	-0,316	-0,362	-0,371
N2	—	—	—	-0,330	-0,293	—	—
N3	-0,212	-0,265	-0,215	-0,249	-0,182	-0,281	-0,279
N6	-0,360	-0,324	-0,303	—	—	—	—
N7	-0,116	-0,128	-0,313	-0,058	-0,246	-0,153	-0,205
N9	-0,228	-0,259	-0,261	-0,203	-0,218	-0,159	-0,308
C2	0,028	-0,192	-0,078	0,237	0,047	0,407	0,393
C4	0,066	0,048	-0,039	0,060	-0,142	0,080	0,072
C5	-0,245	-0,302	-0,139	-0,241	-0,151	-0,244	-0,359
C6	0,246	0,129	0,074	0,399	0,367	0,400	0,394
C8	-0,056	-0,139	-0,172	-0,097	-0,201	-0,036	-0,159
O2	—	—	—	—	—	-0,358	-0,457
O6	—	—	—	-0,321	-0,411	-0,341	-0,439
H1	—	—	—	0,249	0,228	0,273	0,240
H2	0,189	—	0,146	—	—	—	—
H3	—	—	—	—	—	0,283	0,253
H2'	—	—	—	0,205	0,147	—	—
H2''	—	—	—	0,226	0,158	—	—
H6	—	—	—	—	—	—	—
H6'	0,241	0,163	0,154	—	—	—	—
H6''	0,250	0,168	0,186	—	—	—	—
H7	—	—	—	—	—	0,279	0,226
H8	0,202	0,159	—	0,205	—	0,211	—
H9	0,269	0,223	0,216	0,267	0,214	—	—

Атом	Нур	Нур $^-_{H2}$	Нур $^-_{H8}$	Pur	Pur $^-_{H2}$	Pur $^-_{H6}$	Pur $^-_{H8}$
N1	-0,338	-0,320	-0,341	-0,185	-0,243	-0,268	-0,215
N2	—	—	—	—	—	—	—
N3	-0,180	-0,325	-0,150	-0,159	-0,256	-0,283	-0,202
N6	—	—	—	—	—	—	—
N7	-0,063	-0,080	-0,247	-0,110	-0,134	-0,101	-0,311
N9	-0,191	-0,252	-0,215	-0,228	-0,263	-0,251	-0,267
C2	0,075	-0,128	-0,049	-0,020	-0,214	-0,049	-0,114
C4	0,016	0,089	-0,153	0,024	0,029	-0,025	-0,052
C5	-0,213	-0,316	-0,156	-0,170	-0,273	-0,198	-0,087
C6	0,382	0,341	0,364	0,031	-0,016	-0,179	-0,093
C8	-0,090	-0,177	-0,207	-0,033	-0,134	-0,149	-0,158
O2	—	—	—	—	—	—	—
O6	-0,316	-0,448	-0,414	—	—	—	—
H1	0,253	0,216	0,216	—	—	—	—
H2	0,186	—	0,141	0,194	—	0,122	0,145
H3	—	—	—	—	—	—	—
H2'	—	—	—	—	—	—	—
H2''	—	—	—	—	—	—	—
H6	—	—	—	0,180	0,110	—	0,138
H6'	—	—	—	—	—	—	—
H6''	—	—	—	—	—	—	—
H7	—	—	—	—	—	—	—
H8	0,207	0,164	—	0,206	0,159	0,158	—
H9	0,270	0,234	0,213	0,272	0,232	0,223	0,217

Атом	Ura	Ura $\overline{H_5}$	Ura $\overline{H_6}$	Thy	Thy $\overline{H_6}$	Thy $\overline{H_5Me}$
N1	-0,320	-0,341	-0,264	-0,316	-0,263	-0,177
N3	-0,366	-0,400	-0,373	-0,365	-0,373	-0,374
C2	0,394	0,370	0,328	0,394	0,328	0,328
C4	0,354	0,367	0,348	0,355	0,349	0,349
C5	-0,300	-0,459	-0,468	-0,230	-0,416	0,042
C5 $_{Me}$	—	—	—	-0,153	-0,079	-0,487
C6	0,048	-0,124	-0,175	0,036	-0,163	-0,489
O2	-0,360	-0,508	-0,490	-0,363	-0,488	-0,489
O4	-0,329	-0,419	-0,477	-0,330	-0,468	-0,414
H1	0,269	0,202	0,228	0,268	0,230	0,186
H2	—	—	—	—	—	—
H3	0,268	0,202	0,217	0,268	0,218	0,224
H4	—	—	—	—	—	—
H4'	—	—	—	—	—	—
H4''	—	—	—	—	—	—
H5	0,180	—	0,131	—	—	—
H5 $_{Me}$	—	—	—	0,076	0,056	0,081
H5' $_{Me}$	—	—	—	0,099	0,033	0,093
H6	0,163	0,109	—	0,163	—	0,124

Атом	Cyt	Cyt $\overline{H_5}$	Cyt $\overline{H_6}$	Pyr	Pyr $\overline{H_2}$	Pyr $\overline{H_4}$
N1	-0,324	-0,344	-0,269	-0,167	-0,253	-0,282
N3	-0,293	-0,348	-0,371	-0,167	-0,253	-0,233
C2	0,349	0,324	0,288	-0,034	-0,248	-0,096
C4	0,223	0,160	0,145	-0,039	-0,078	-0,297
C5	-0,343	-0,521	-0,440	-0,233	-0,357	-0,279
C5 $_{Me}$	—	—	—	—	—	—
C6	0,064	-0,105	-0,186	-0,039	-0,078	-0,114
O2	-0,341	-0,489	-0,481	—	—	—
O4	—	—	—	—	—	—
H1	0,253	0,199	0,215	—	—	—
H2	—	—	—	0,193	—	0,115
H3	—	—	—	—	—	—
H4	—	—	—	0,166	0,088	—
H4'	0,222	0,161	0,160	—	—	—
H4''	0,235	0,190	0,155	—	—	—
H5	0,155	—	0,110	0,155	0,090	0,095
H5 $_{Me}$	—	—	—	—	—	—
H5' $_{Me}$	—	—	—	—	—	—
H6	0,152	0,100	—	0,166	0,088	0,092

Атом	Pyr $\overline{H_5}$	Pyr $\overline{H_6}$	Im	Im $\overline{H_2}$	Im $\overline{H_4}$	Im $\overline{H_5}$
N1	-0,228	-0,233	-0,210	-0,256	-0,255	-0,228
N3	-0,228	-0,282	-0,142	-0,334	-0,213	-0,184
C2	-0,156	-0,096	-0,105	-0,271	-0,206	-0,305
C4	-0,143	-0,114	-0,174	-0,193	-0,343	-0,407
C5	-0,429	-0,279	-0,171	-0,340	-0,368	-0,299
C5 $_{Me}$	—	—	—	—	—	—
C6	-0,143	-0,297	—	—	—	—
O2	—	—	—	—	—	—
O4	—	—	—	—	—	—
H1	—	—	0,250	0,181	0,158	0,185
H2	0,122	0,115	0,197	—	0,123	0,128
H3	—	—	—	—	—	—
H4	0,103	0,092	0,179	0,105	—	0,109
H4'	—	—	—	—	—	—
H4''	—	—	—	—	—	—
H5	—	0,095	0,176	0,107	0,104	—
H5 $_{Me}$	—	—	—	—	—	—
H5' $_{Me}$	—	—	—	—	—	—
H6	0,103	—	—	—	—	—

Примітка. Н' — атом водню аміногрупи, котрий вступає у водневий зв'язок при Уотсон-Криківському спарюванні; Н'' — інший атом водню аміногрупи, який не бере участі у водневому зв'язку; Н' $_{Me}$ — атоми водню метильної групи Thy, втягнуті у внутрішньомолекулярний водневий зв'язок з сусіднім атомом кисню.

NUCLEOTIDE BASES AS CH-ACIDS

Summary

The CH-acidity of some purine (Ade, Gua, Xan, Hyp and Pur) and pyrimidine (Ura, Thy, Cyt and Pyr) nucleotide bases and of imidazole was investigated in vacuum by means of semiempirical quantum mechanical AM1 method with full optimization of all parameters. The consideration of CH bond deprotonation energies which determine their ability to donate protons and are situated in the 350,8 kcal/mol (Hyp C2H2) — 403,4 kcal/mol (Im C4H4) interval and correlation with the strengths of CH group hydrogen atoms, equilibrium CH bond length and frequencies of stretching ν (CH) vibration bring as about the conclusion that unlike «usual» organic CH-acids and physico-chemical parameters, which caused it. This may be explained by considerable (if main) contribution of conjugation effects (on the background of inductive mechanism) to the stabilization of carbanion of nucleotide bases, which is confirmed by significant charge delocalization involving all the atoms under deprotonation of CH group. The obtained quantitative information on the vacuum CH-acidity of nucleotide bases may be useful to predict contributions of H-bond involving C—H groups of nucleotide bases to high specific protein-nucleic acid contacts.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Полтев В. И., Брусков В. И., Шулюпина Н. В. и др. Генотоксическая модификация оснований нуклеиновых кислот и ее биологические последствия. Обзор и перспективы экспериментальных и расчетно-теоретических исследований // Молекуляр. биология.— 1993.— 27, № 4.— С. 737—757.
2. Брусков В. И. Модельные системы белково-нуклеинового узнавания: Дис. ... д-ра хим. наук.— М.: МГУ, 1990.— 38 с.
3. Раевский О. А. Структура и свойства комплексов, моделирующих молекулярное распознавание // Успехи химии.— 1990.— 59, № 3.— С. 375—400.
4. Pelletier H., Sawaya M. R., Kumar A. et al. Structures of ternary complexes of Rat DNA polymerase β , a DNA template-primer, and ddCTP // Science.— 1994.— 264, N 5167.— P. 1891—1903.
5. Taylor R., Kennard O. The molecular structures of nucleosides and nucleotides. 1. The influence of protonation on the geometries of nucleic acid constituents // J. Mol. Struct.— 1982.— 78.— P. 1—28.
6. Брусков В. И., Окон М. С. Термодинамические характеристики C—H...O водородных связей, образуемых аналогами оснований нуклеиновых кислот // Докл. АН СССР.— 1984.— 277, № 6.— С. 1482—1486.
7. Zheltovsky N. V., Samoilenko S. A., Kondratyuk I. V. et al. Recognition of purine bases and nucleosides by the amino acid carboxylic group // J. Mol. Struct.— 1995.— 344.— P. 53—62.
8. Желтовський М. В., Самійленко С. П., Коломієць І. М. та ін. Дослідження взаємодії гіпоксантину та його метил- і глікозилпохідних з карбоксильною групою амінокислот спектроскопічними методами // Біополімери і клітка.— 1993.— 9, № 3.— С. 72—77.
9. Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В. Кислотно-лужні властивості молекулярного ксантину та його комплексотвірна здатність // Там же.— 1994.— 10, № 6.— С. 61—64.
10. Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В. Газофазні кислотно-лужні властивості молекулярного гіпоксантину // Там же.— 1995.— 11, № 1.— С. 36—39.
11. Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В. Вплив протонування та депротонування на кислотно-лужні властивості пурину, піримідину та імідазолу // Там же.— № 3—4.— С. 29—34.
12. Тупицын И. Ф., Попов А. С., Шибяев А. Ю. Ароматические гетероциклы как СН-кислоты. I. Метильные производные пяти- и шестичленных гетероциклов // Журн. общ. химии.— 1992.— 62(124), № 9.— С. 2100—2111.
13. Тупицын И. Ф., Попов А. С., Шибяев А. Ю. Ароматические гетероциклы как СН-кислоты. II. Незамещенные пяти- и шестичленные гетероциклы // Там же.— № 10.
14. Реутов О. А., Белецкая И. П., Бутик К. П. СН-кислоты.— М.: Наука, 1980.
15. Green K. D. Hydrogen bonding by CH-groups.— London: McMillan, 1974.— 207 p.
16. Погорелый В. К., Вишнякова Г. Б. Водородная связь и СН-кислотность // Успехи химии.— 1984.— 53, № 12.— С. 1985—2008.
17. Крам Д. Основы химии карбанонов.— М.: Мир, 1967.— 300 с.
18. Верецагин А. Н. Индуктивный эффект.— М.: Наука, 1987.— 326 с.
19. Кабачник М. И., Мазуркова Т. А. Корреляционный др-анализ СН-кислотности // Журн. общ. химии.— 1993.— 63 (125), № 1.— С. 3—24.
20. Билобров В. М. Водородная связь. Межмолекулярные взаимодействия.— Киев: Наук. думка, 1993.— 520 с.