

# Пошкодження пуринових основ кисневими радикалами: енергетичний та структурний аспекти

Д. М. Говорун

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

*Напівемпіричним квантовохімічним методом АМ1 вивчено енергетичний (ентальпію) та структурний (зміну стереохімічної нежорсткості та таутомерного стану) аспекти індукованої теплом реакції пошкодження кисневими радикалами азотистих основ пуринового ряду у вільному стані.*

Вступ. У процесі життєдіяльності організму під дією кисневих радикалів у ДНК утворюються численні продукти пошкодження її основ, найістотнішими з-поміж них як за кількісним виходом, так і за біологічною значущістю є пуринові похідні (див., наприклад, [1, 2] і наведену там бібліографію) —  $o^8\text{Gua}$  і  $o^8\text{Ade}$ . Встановлено [1, 2], що ці сполуки відіграють важливу роль у мутагенезі, канцерогенезі, у процесах старіння тощо.

Так, зокрема, їхня висока мутагенна специфічність пояснюється утворенням неправильних пар  $\text{A}:o^8\text{G}$  і  $\text{G}:o^8\text{G}$  та відносно високою стійкістю першої з них до репарації. Левова частка мутацій, що виникають в результаті пошкодження ДНК кисневими радикалами, є точковими замінами основ, такими як трансверсії  $\text{Gua} \rightarrow \text{Thu}$  і  $\text{Gua} \rightarrow \text{Cyt}$  та транзиції  $\text{Cyt} \rightarrow \text{Thu}$  [1].

Високу концентрацію продуктів окислювальної модифікації азотистих основ пуринового ряду, зокрема  $o^8\text{Gua}$ , виявлено в тканинах пухлин, що спричиняють рак молочної залози у жінок. Значне підвищення вмісту  $o^8\text{Gua}$  в ДНК лейкоцитів людини викликає куріння — воно призводить до окислювального пошкодження основ ДНК і, як наслідок, до раку легенів. Найімовірніші мутаційні заміни, які відбуваються при раковій легенів і печінки, а також при карциномі сечового міхура у людини, зумовлені утворенням  $o^8\text{Gua}$  в ДНК [1].

Утворення  $o^8\text{Gua}$  під дією кисневих радикалів — постійне і неминуче пошкодження ДНК, що

корелює зі швидкістю метаболічних процесів, обумовлених засвоєнням кисню. З віком відбувається накопичення вмісту  $o^8\text{Gua}$  в мітохондріальній ДНК людини [1].

Визріла нагальна потреба детального розуміння фізико-хімічних засад процесів спонтанного пошкодження нуклеотидних основ кисневими радикалами. Актуальним є питання про те, як особливості геометричної та електронної будови канонічних нуклеотидних основ пов'язані з термодинамічними характеристиками їхнього спонтанного окислення. Незважаючи на певні успіхи у цьому напрямку, досягнуті, в основному, завдяки експериментальним дослідженням (див. [1, 2] і наведену там бібліографію), існуючі фізико-хімічні уявлення про цю життєво важливу проблему не є вичерпними.

Ця робота має за мету вивчити енергетичний (ентальпію) та структурний (найімовірніше місце окислення та зміни стереохімічної нежорсткості і таутомерного стану, що його супроводжують) аспекти реакції спричиненого теплом пошкодження пуринових основ ДНК кисневими радикалами.

Матеріали і методи. Ентальпію реакції окислення  $\Delta H$  пуринових основ та деяких їхніх метильованих аналогів



визначали за формулою

$$\Delta H = \Delta H(o\text{A}) - \Delta H(\text{A}) + \Delta H(\text{H}_2) - \Delta H(\text{H}_2\text{O}),$$

де  $\Delta H(\text{A})$  і  $\Delta H(o\text{A})$  — теплота утворення азотистої основи  $\text{A}$  та її окисленого аналога  $o\text{A}$ ;  $\Delta H(\text{H}_2\text{O})$  і  $\Delta H(\text{H}_2)$  — теплота утворення молекули води і водню відповідно. При цьому величини  $\Delta H(\text{A})$  і

$\Delta H$ (oA), що відповідають основній таутомерній формі досліджуваних молекул [3—7], розраховувалися напівемпіричним квантовохімічним методом AM1 в режимі оптимізації всіх структурних параметрів з нормою градієнта < 0,01, а значення  $\Delta H$ (H<sub>2</sub>O) і  $\Delta H$ (H<sub>2</sub>) бралися з експерименту [8].

Враховуючи, що найбільшу біологічну значущість мають продукти пошкодження кисневими радикалами саме пуринових основ [1, 2], об'єктами дослідження вибрано канонічні нуклеотидні основи (Ade і Gua), їхні метильовані у дев'ятому положенні аналоги (m<sup>9</sup>Ade і m<sup>9</sup>Gua), які є найпростішими моделями нуклеозидів, продукти дезамінування цих сполук (Hyp, Xan, m<sup>9</sup>Hyp, m<sup>9</sup>Xan), а також деякі модельні молекули (Im, Pur, m<sup>1</sup>Im та m<sup>9</sup>Pur).

**Результати і обговорення.** Аналіз отриманих результатів (таблиця) дозволяє зробити наступні висновки.

Реакція пошкодження азотистих основ пуринового ряду у вільному стані має ендотермічний характер. За одних і тих же фізико-хімічних умов здатність до неї значно менша, аніж до дезамінування [9].

За схильністю до викликаного теплом окислення канонічні нуклеотидні основи та їхні метильо-

вані в дев'ятому положенні аналоги утворюють ряди Gua > Ade, m<sup>9</sup>Gua > m<sup>9</sup>Ade, причому m<sup>9</sup>Ade > Ade, m<sup>9</sup>Gua > Gua. Останні два співвідношення можуть свідчити про те, що при переході від канонічної нуклеотидної основи до відповідного нуклеозиду схильність до ушкоджень кисневими радикалами підвищується. При цьому молекули — продукти дезамінування у порівнянні з відповідними основами з аміногрупою та їхніми метильованими в дев'ятому положенні похідними проявляють меншу здатність до цього процесу.

Для всіх без винятку досліджених молекул найімовірнішим місцем приєднання атома кисню в результаті окислення є атом C8 імідазольного кільця пуринової основи (C2 — у випадку Im та m<sup>1</sup>Im).

Порівняння відповідних ентальпій для Im (m<sup>1</sup>Im) та пуринових основ (метильованих у дев'ятому положенні аналогів) вказує на значну їхню залежність від конденсації імідазольного кільця із піримідиновим. У всіх випадках, за винятком Xan, ця конденсація призводить до суттєвого зниження ентальпії реакції окислення.

Окислення пуринових основ суттєво змінює їхню стереохімічну нежорсткість. Це органічно пов'язано з тим, що молекула o<sup>2</sup>Im у порівнянні з Im є стереохімічно нежорсткою структурою з бар'єром інтерконверсії близько 0,13 ккал/моль [9]. Завдяки цьому в результаті окислення навіть планарні, дипольно-стійкі молекули (Pur, Hyp та Xan) стають стереохімічно-нежорсткими (o<sup>8</sup>Pur, o<sup>8</sup>Hyp та o<sup>8</sup>Xan). Оскільки стереохімічна нежорсткість нуклеотидних основ супроводжується дипольною нестійкістю [9], то реакції їхнього окислення буде супроводжуватися електромагнітним випромінюванням у широкому діапазоні спектра (про фізичну причину цього явища та умови його експериментального спостереження див., наприклад, [10—12]).

Характерно, що в жодному випадку змін таутомерного стану при спричиненому теплом ушкодженні азотистих основ пуринового ряду кисневими радикалами не зафіксовано — локалізація протонів, характерна для вихідної молекули, залишається незмінною.

Насамкінець необхідно зазначити, що при переході з вакууму до водного розчину може мати місце істотне підвищення ендотермічного характеру реакції термоіндукованого пошкодження пуринових основ кисневими радикалами, оскільки, зокрема, теплота утворення води в рідкому стані (–68,27 ккал/моль) значно менша, ніж у молекулярному (–57,80 ккал/моль) [8].

Автор вдячний І. В. Кондратюку за допомогу при проведенні розрахунків.

*Ентальпія реакції окислення  $\Delta H$  (ккал/моль) азотистих основ пуринового ряду та їхніх метильованих по глікозидному азоту аналогів у вільному стані, розрахована напівемпіричним квантовохімічним методом AM1*

Молекула	Місце окислення	$\Delta H$
Ade	C8H	8,06
	C2H	20,40
m <sup>9</sup> Ade	C8H	4,31
Gua	C8H	7,90
m <sup>9</sup> Gua	C8H	4,16
Hyp	C8H	8,27
	C2H	10,27
m <sup>9</sup> Hyp	C8H	8,46
Xan	C8H	12,38
m <sup>9</sup> Xan	C8H	8,18
Pur	C8H	6,31
	C6H	11,04
	C2H	18,35
m <sup>9</sup> Pur	C8H	6,59
Im	C2H	9,63
m <sup>1</sup> Im	C2H	9,67

Д. Н. Говорун

Повреждение пуриновых оснований кислородными радикалами: энергетический и структурный аспекты

Резюме

*Полуэмпирическим квантовохимическим методом AM1 изучены энергетические (энтальпия) и структурные (изменение стереохимической жесткости и таутомерного состояния) аспекты индуцированной теплом реакции повреждения кислородными радикалами азотистых оснований пуринового ряда в свободном состоянии.*

D. M. Novorup

The damage of purine bases by oxygen radicals: energetic and structural aspects

Summary

*The energetical (enthalpy) and structural (variation in stereochemical nonrigidity and tautomeric state) aspects of the heat induced damage of purine bases by oxygen radicals have been studied by the semiempirical quantum-chemical AM1 method.*

## 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. 734—757.
2. Пескин А. П. Взаимодействие активного кислорода с ДНК // Биохимия.—1997.—62, № 12.—С. 1571—1578.
3. Говорун Д. М., Кондратюк І. В. Квантовохімічні розрахунки свідчать: прототропна таутомерія канонічних нук-

леотидних основ має молекулярно-цвітеріонний характер. І. Пурины // Биополимеры и клетка.—1996.—12, № 1.—С. 49—52.

4. Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В. Прототропна молекулярно-цвітеріонна таутомерія пурину // Там же.—1995.—11, № 6.—С. 45—50.
5. Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В. Прототропна молекулярно-цвітеріонна таутомерія імідазолу та піримідину // Там же.—С. 41—44.
6. Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В. Прототропна молекулярно-цвітеріонна таутомерія гіпоксантину: розрахунок методом AM1 у вакуумному наближенні // Там же.—№ 1.—С. 30—35.
7. Кондратюк І. В., Говорун Д. М., Желтовський М. В. Прототропна молекулярно-цвітеріонна таутомерія ксантину: розрахунок методом AM1 // Там же.—1994.—10, № 6.—С. 52—60.
8. Краткая химическая энциклопедия.—М.: Советская энциклопедия, 1961.—1262 с.
9. Говорун Д. М. Структурно-енергетичні особливості спонтанного дезамінування канонічних та модифікованих нуклеотидних основ // Биополимеры и клетка.—1997.—13, № 1.—С. 36—38.
10. Бучаченко А. Л., Бердинский В. Л. Химически индуцированное радиоизлучение и химическая радиофизика // Успехи химии.—1983.—52, № 1.—С. 3—19.
11. Боровов Г. И., Воронков Э. Н. Инфракрасное и радиочастотное излучение при структурных переходах // Письма в ЖТФ.—1980.—6, № 21.—С. 1293—1295.
12. Бальмаков М. Д. Структурная релаксация и радиоизлучение // Физика и химия стекла.—1987.—13, № 5.—С. 781—784.

Надійшла до редакції 15.01.97