

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

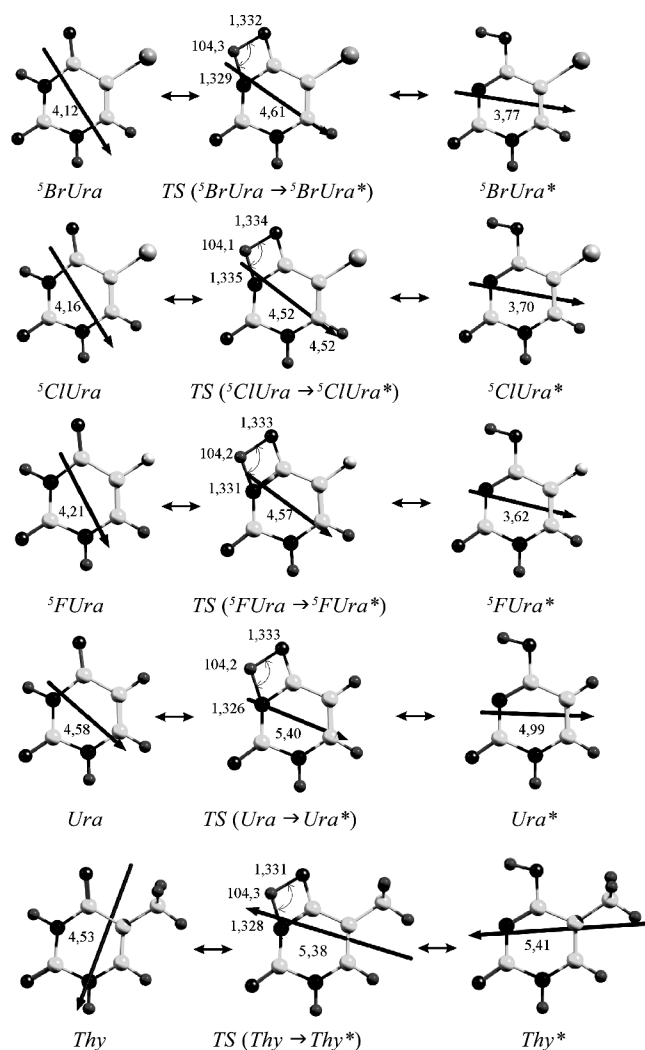
brovarets@list.ru

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 – ${}^5\text{BrUra}$, ${}^5\text{ClUra}$ і ${}^5\text{FUra}$. 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 ρ та лапласіану електронної густини $\Delta\rho$ для зв'язків N3H і O4H у перехідному стані таутомеризації лежать у доволі вузьких межах: $\rho_{\text{N3H}} = 0,134 \div 0,137$ а. о., $\rho_{\text{O4H}} = 0,131 \div 0,132$ а. о.; $\Delta\rho_{\text{N3H}} = -0,093 \div -0,103$ а. о., $\Delta\rho_{\text{O4H}} = -0,023 \div -0,026$ 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 галогенпохідних

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

Примітка. Позначення параметрів на рисунку та в тексті; індекс D означає дейтерування протона, що мігрує; k – константа швидкості; τ – час життя; $\tau_{D/H}$ – відношення часу життя при дейтеруванні; $\tau_{1/2}$ – час напівжиття; ν_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 ΔG у порівнянні з аналогічною величиною для Thy збільшується на 3,08 ккал/моль за нормальних умов. Унаслідок цього стала таутомерної рівноваги $Ura \rightarrow Ura^*$ 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 by quantum-mechanical methods the uracil (Ura) intramolecular tautomerisation and effect of changing the thymine (Thy) methyl (Me) group with halogen on this process.

Methods. Non-empirical quantum mechanics, analysis of the electron density by means of Bader's atom in molecules (AIM) theory and physical-chemical kinetics were used. **Results.** It has been established for the first time that the substitution of halogen (Br, F, Cl) for thymine Me-group has practically no effect on the main physical-chemical characteristics of the intramolecular tautomerisation. At the same time, the energy of Ura tautomerisation increases by 3.08 kcal/mole in comparison with the corresponding value for Thy under standard conditions. **Conclusions.** Thus, 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 genom from the point of view of its

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

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

O. A. 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 (Thu) 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 Thu возрастает на 3,08 ккал/моль при нормальных условиях. **Выводы.** Таким образом, Thu 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 адапционного 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 // Dopovidi NAN Ukrainy.–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. biologiya.–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.

UDC 577.3

Received 27.01.10