

Фіксація прототропних таутомерів ксантину метильною групою практично не впливає на їхню відносну енергію: квантово-хімічне дослідження методом DFT

М. О. Платонов, С. П. Самійленко, Д. М. Говорун

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна
E-mail: dhovorun@imbg.org.ua

За допомогою неемпіричних квантово-хімічних розрахунків рівня теорії B3LYP/6-311++G(d, p) на прикладі прототропної таутомерії ксантину в його імідазольному кільці підтверджено адекватність визначення сталих таутомерної рівноваги ізольованих нуклеотидних основ, що базується на використанні відповідних метилзаміщених похідних. Окреслено межі застосування цього методу, особливо для розчинів у специфічному розчиннику.

Вступ. Біологічний інтерес до прототропної таутомерії нуклеїнових кислот та їхніх компонентів, зокрема, нуклеотидних основ, викликаний, перш за все, тим, що вона є однією з найхарактерніших функціонально значущих форм їхньої структурної мінливості [1].

Якщо раніше дослідники концентрували свою увагу лише на тих прототропних таутомерах, які спостерігаються експериментально у вільному стані, в умовах низькотемпературної інертної матриці чи в конденсованому стані — розчині або в кристалі [2], то зараз в їхнє поле зору все частіше попадають високоенергетичні таутомери з відносною енергією, набагато вищою за kT при кімнатній температурі [3], так звані «приховані структури» [4]. Вважається, що вони можуть мати важливе біологічне значення, оскільки індуються у низці випадків міжмолекулярними, зокрема, білково-нуклеїновими взаємодіями [5].

Зазвичай експериментально таутомерну рівновагу за участі високоенергетичних прототропних таутомерів нуклеотидних основ досліджують, фіксуючи таутомери заміщенням рухливих атомів вод-

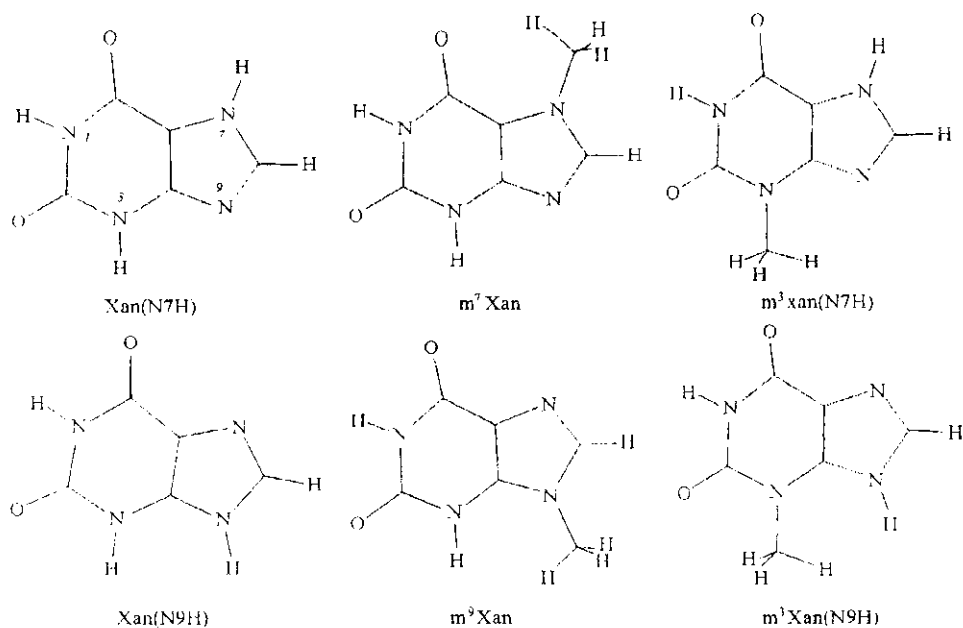
ню метильною групою [6]. Традиційно вважають, що така процедура суттєво не збуває відносної енергії зафіксованих «таутомерів» у порівнянні з відповідними прототропними таутомерами.

Метою представленої роботи було встановлення меж адекватності такого підходу, оскільки в літературі ми не знайшли повідомлень, які давали б відповідь на це важливе з методологічної точки зору запитання.

Матеріали і методи. Ми скористалися неемпіричними методами квантової хімії, а саме — методом DFT на рівні теорії B3LYP/6-311++G(d, p). Геометричну структуру прототропних таутомерів та їхніх метильованих аналогів розраховували в режимі повної оптимізації. Коливальні спектри отримували на рівні теорії HF/6-31G(d, p) в гармонійному наближенні з масштабним множником для частот 0,94. При розрахунках використано програмний пакет NWChem 4.5 [7].

Об'єктом дослідження слугувала молекула ксантину — дезамінованого аналога канонічної нуклеотидної основи гуаніну.

Результати і обговорення. Беручи до уваги той факт, що енергетично найвигоднішими прототропними таутомерами ксантину є Хал(N7H) (глобаль-



Енергетично найвигідніші прототропні таутомери ксантину та їхні метильовані аналоги за даними неемпіричних квантово-хімічних розрахунків рівня теорії ВЗІ.УР/6-311++G(d, p). Нумерація атомів стандартна

ний мінімум) і наступний за ним за енергією Xan(N9H) [8—120], а атоми водню іміногруп N9H, N7H і N3H є найкислішими [11], ми сконцентрували свою увагу на сполуках Xan(N7H), Xan(N9H), m⁷Xan, m⁹Xan, m³Xan(N7H) і m³Xan(N9H).

Аналіз результатів, наведених на рисунку та в табл. 1 і 2, дозволяє зробити такі висновки.

Заміна мобільного атома водню на метильну групу в енергетично найвигідніших прототропних таутомерах Xan практично не впливає на їхню відносну енергію. При цьому відносна енергія (з урахуванням нульової коливальної енергії) таутомерів Xan(N7H) і Xan(N9H) (8,74 ккал/моль) відрізняється від аналогічної величини для їхніх фіксованих метильованих моделей m⁷Xan і m⁹Xan (9,11 ккал/моль) лише на 0,37 ккал/моль, що складає 4 %.

Заміщення атома водню Xan в положенні 3 на метильну групу також практично не впливає на відносну енергію таутомерів N7H і N9H модельної сполуки m³Xan: величина відносної енергії таутомерів Xan(N7H) і Xan(N9H) (8,74 ккал/моль) відрізняється від такої для прототропних таутомерів m³Xan(N7H) і m³Xan(N9H) (9,53 ккал/моль) лише на 0,79 ккал/моль, що становить 8 %.

Ці результати свідчать про адекватність методичних підходів до вивчення енергетичних характеристик прототропних перетворень ізольованих нуклеотидних основ з використанням метильова-

них аналогів таутомерів у тому випадку, коли відносна енергія складає декілька ккал/моль і більше. Тоді ж, коли значення відносної енергії таутомерів не перевищує 1 ккал/моль, адекватність застосування цього підходу стає проблематичною.

Окрім того, слід зазначити, що метильовання мобільних атомів водню Xan практично не збурює частот валентних коливань іміногруп NH та їхніх інтенсивностей (табл. 2), які зазвичай використовують як тестові смуги при експериментальному вивченні таутомерної рівноваги нуклеотидних основ методами ІЧ спектроскопії [12].

З іншого боку, і на цьому треба наголосити особливо, фіксація прототропних таутомерів Xan метильованням не лише змінює їхні полярні властивості (табл. 1), але й знижує здатність вступати в міжмолекулярні водневі зв'язки як донор протона. Останнє вказує на те, що при переході з вільного стану у розчин треба обов'язково робити поправку на сольватаційні ефекти, зумовлені використанням не вихідних прототропних таутомерів, а їхніх метильованих моделей. Без такої поправки, що сама по собі є досить непростю процедурою, яка часто не гарантує прийнятної точності [13—15], зазначений методичний підхід може претендувати лише на оцінку сталих таутомерної рівноваги у вакуумі або в неполярному розчиннику.

Автори планують найближчим часом поширити започаткований підхід на ширше коло нуклеотидних основ.

Таблиця 1

Відносна енергія з урахуванням нульової коливальної енергії* (ΔE) та дипольний момент (d) прототропних таутомерів і метилпохідних ксантину за даними неемпіричних квантово-хімічних розрахунків рівня теорії B3LYP/6-311++G(d, p)

Параметр	Сполука					
	Xan(N7H)	Xan(N9H)	m^7 Xan	m^9 Xan	m^3 Xan(N7H)	m^3 Xan(N9H)
ΔE , ккал/моль	0	8,74	0	9,11	0	9,57
d , D	4,43	7,46	4,86	8,20	4,49	7,95

*Розрахунок у гармонійному наближенні на рівні теорії HF/6-31G(d, p) з масштабним множником для частот 0,94.

Таблиця 2

Частоти* валентних коливань (ν) та їхні абсолютні інтенсивності (I) іміногруп NH прототропних таутомерів та метилпохідних ксантину за даними неемпіричних квантово-хімічних розрахунків рівня теорії HF/6-31G(d, p)

Сполука	Іміногрупа	Параметри валентних коливань	
		ν , cm^{-1}	I , $\text{D}^2/\text{a.u.} \cdot \text{\AA}^2$
Xan(N7H)	N1H	3615	2,68
	N3H	3687	3,16
	N7H	3669	3,99
Xan(N9H)	N1H	3638	2,58
	N3H	3690	2,57
	N9H	3705	3,13
m^7 Xan	N1H	3615	2,69
	N3H	3680	3,36
m^9 Xan	N1H	3656	2,61
	N3H	3699	2,37
m^3 Xan(N7H)	N1H	3622	2,67
	N7H	3644	3,95
m^3 Xan(N9H)	N1H	3620	2,58
	N9H	3721	2,41

*Використано масштабний множник 0,94.

Вичерпні дані щодо геометричної структури досліджених сполук та їхніх коливальних ІЧ спектрів містяться у комп'ютерній базі даних відділу молекулярної біофізики ІМБіГ НАН України (електр. пошта: dhovorun@imbg.org.ua).

M. O. Platonov, S. P. Samijlenko, D. M. Hovorun

Fixation of xanthine prototropic tautomers by methyl group does not practically change their relative energy: a DFT quantum-chemical investigation

Summary

The adequacy of determination of tautomeric equilibrium constants

for isolated nucleotide bases using their corresponding methyl substituted derivatives has been confirmed with an example of prototropic tautomerism of xanthine. Non-empirical quantum chemical calculation at the B3LYP/6-311++G(d, p) level of theory has been applied. The method limits are outlined especially for solutions in specific solvents.

M. O. Platonov, S. A. Samoilenko, D. N. Hovorun

Фиксация прототропных таутомеров ксантина метильной группой практически не влияет на их относительную энергию: квантово-химическое исследование методом DFT

Резюме

С помощью неэмпирических квантово-химических расчетов на уровне теории B3LYP/6-311++G(d, p) на примере прототропной таутомерии ксантина в его имидазольном кольце подтверждена адекватность определения постоянных таутомерного равновесия изолированных нуклеотидных оснований, базирующегося на использовании соответствующих метилпроизводных. Очерчены рамки применения этого метода, особенно для растворов в специфическом растворителе.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Hovorun D. M. Фізико-хімічна концепція функціонування біополімерів // Доповіді НАН України.—2000.—№ 2.—С. 171—175.
2. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот.—М.: Мир, 1987.—584 с.
3. Hovorun D. M. Прототропна таутомерія азотистих основ: новий погляд на стару проблему // Біополімери и клетка.—1997.—13, № 3.—С. 191—196.
4. Kondratyuk I. V., Samijlenko S. P., Kolomiets I. M., Potyahaylo A. L., Hovorun D. M. Prototropic molecular-zwitterionic tautomerism of xanthine and hypoxanthine: unexpected biological view // Біополімери и клетка.—2000.—16, № 2.—Р. 124—137
5. Самійленко С. П., Степанюгін А. В., Кречківська О. М., Потягайло А. Л., Hovorun D. M. Специфічна взаємодія ксантину з депротонованою карбоксильною групою амінокислот спричиняє хімічне перетворення у високоенергетичний прототропний таутомер N9H // Доповіді НАН України.—2002.—№ 4.—С. 187—191.
6. Шабарова З. А., Богданов А. А. Химия нуклеиновых кислот и их компонентов.—М.: Химия, 1978.—584 с.
7. Harrison R. J., Nichols J. A., Straatsma T. P., Dupuis M., Bylaska E. J., Fann G. I., Windus T. L., Apra E., de Jong W., Hirata S., Hackler M. T., Anshell J., Bernholdt D., Borowski P., Clark T., Clerc D., Dachsel H., Deegan M.,

- Dyall K., Elwood D., Fruchtl H., Glendening E., Gutowski M., Hirao K., Hess A., Jaffe J., Johnson B., Ju J., Kendall R., Kobayashi R., Kutteh R., Lin Z., Littlefield R., Long X., Meng B., Nakajima T., Nieplocha J., Niu S., Rosing M., Sandrone G., Stave M., Taylor H., Thomas G., van Lenthe J., Wolinski K., Wong A., Zhang Z. NWChem, a computational chemistry package for parallel computers, version 4.1.—Washington: Pacific North. Nat. Lab. Richland. publ., 2002.
8. Kondratyuk I. V., Samijlenko S. P., Kolomiets I. M., Hovorun D. M. Prototropic molecular-zwitterionic tautomerism of xanthine and hypoxanthine // *J. Mol. Struct.*—2000.—523.—P. 109—118.
 9. Sponer J., Leszczyński J. Tautomerism of xanthine: second-order Møller-Plesset study // *Struct. Chem.*—1995.—6, N 415.—P. 281—286.
 10. Hernandez B., Orozko M., Lague F. J. Tautomerism of xanthine and alloxanthine a model for substrate recognition by xanthine oxidase // *J. Comp.-Aided Mol. Design.*—1996.—10.—P. 535—544.
 11. Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В. Кислотно-лужні властивості молекулярного ксантину та його комплексотвірна здатність // *Биополимеры и клетка.*—1994.—10, № 6.—С. 61—64.
 12. Nowak M. J., Les A., Adamowicz L. Application of *ab initio* quantum chemical calculations to assign matrix-isolation IR spectra of oxopyrimidines // *Trends Phys. Chem.*—1994.—4.—P. 137—168.
 13. Luo R., Gilson S. R., Potter M. J., Gilson M. K. The physical basis of nucleic acid base stacking in water // *Biophys. J.*—2001.—80, N 7.—P. 140—148.
 14. Norberg J., Nilsson L. Solvent influence on base stacking // *Biophys. J.*—1998.—74, N 1.—P. 394—402.
 15. Симкин Б. Я., Шейхет Н. Н. Квантовохимические и статистические теории растворов. Вычислительные методы и их применение.—М.: Химия, 1989.—252 с.

УДК 573.3

Надійшла до редакції 24.06.03