

Структурно-енергетичні особливості спонтанного дезамінування канонічних та модифікованих нуклеотидних основ

Д. М. Говорун

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

Напівемпіричним квантовохімічним методом AM1 досліджено енергетичні (ентальпію) та структурні (зміну стереохімічної нежорсткості та таутомерного стану) особливості спонтанного дезамінування канонічних нуклеотидних основ та низки їхніх біологічно важливих модифікованих похідних, що мають у своєму складі аміногрупу.

Вступ. Відомо (див. [1] і наведену там бібліографію), що індуковане теплом дезамінування основ ДНК відіграє неабияку роль у спонтанному мутагенезі, спричиняючи транзиції з досить простим молекулярним механізмом [2]. Нині генотоксичні прояви спонтанного дезамінування основ ДНК загалом зрозумілі, проте відносний внесок дезамінування кожної з них з'ясований недостатньо [1]. Так, зокрема, потребує подальшого вивчення роль дезамінування Gua і можливість його репарації, неповно (особливо в теоретичному плані) ще вивчені фізико-хімічні механізми дезамінування як канонічних нуклеотидних основ, так і їхніх численних біологічно важливих модифікованих аналогів.

Метою цієї роботи є дослідження енергетичних (ентальпії) та структурних (зміни стереохімічної нежорсткості та таутомерного стану) особливостей спонтанного дезамінування канонічних нуклеотидних основ та ряду їхніх модифікованих аналогів, що мають аміногрупу, у вакуумі.

Методи. Ентальпію реакції дезамінування ΔH канонічних нуклеотидних основ та деяких їхніх похідних $A_{\text{CNH}_2} + \text{H}_2\text{O} + \Delta H = A_{\text{CONH}} + \text{NH}_3$ визначали за формулою

$$\Delta H = \Delta H(A_{\text{CONH}}) - \Delta H(A_{\text{CNH}_2}) + \Delta H(\text{NH}_3) - \Delta H(\text{H}_2\text{O}),$$

де $\Delta H(A_{\text{CNH}_2})$ і $\Delta H(A_{\text{CONH}})$ — теплота утворення нуклеотидної основи з аміногрупою A_{CNH_2} та молекули — продукту її дезамінування A_{CONH} ; $\Delta H(\text{NH}_3)$ і $\Delta H(\text{H}_2\text{O})$ — теплота утворення молекули аміаку і води відповідно. При цьому величини $\Delta H(A_{\text{CNH}_2})$ і $\Delta H(A_{\text{CONH}})$, що відповідають основній таутомерній формі досліджених молекул, розраховано напівемпіричним квантовохімічним методом AM1 [5] в режимі оптимізації всіх структурних параметрів з нормою градієнта $< 0,01$, а числові значення $\Delta H(\text{NH}_3) = -11,04$ ккал/моль і $\Delta H(\text{H}_2\text{O}) = -57,80$ ккал/моль брали з експерименту [3].

Об'єктами дослідження вибрано канонічні нуклеотидні основи (Ade, Gua, Cyt) та їхні численні модифіковані аналоги, з-поміж них мінорні основи ДНК ($m^5\text{Cyt}$, $m^6\text{Ade}$, $m^2\text{Gua}$, $m^4\text{Cyt}$, $m^1\text{Gua}$, $m^7\text{Gua}$) і РНК ($m^7\text{Gua}$, $m^6\text{Gua}$), продукти алкілювання нуклеотидних основ ($m^7\text{Gua}$, $m^6\text{Gua}$) та їхнього пошкодження кисневими радикалами ($o^8\text{Gua}$, $o^8\text{Ade}$), геометричні ізомери канонічних нуклеотидних основ (2-aminoPur, 8-aminoPur, isoGua, isoCyt, 8-aminoHyp), молекули, що мають терапевтичне значення (5-azaCyt, 6-azaCyt, 2-azaAde, $m_2^{6,6}\text{Ade}$), мутагени (2-aminoPur, $m^6\text{Gua}$), модельні сполуки (2-aminoIm, $m^1(2\text{-amino})\text{Im}$) [4] тощо.

Результати та обговорення. Аналіз отриманих результатів (таблиця) дозволяє зробити такі висновки.

За схильністю до спонтанного дезамінування

Ентальпія спонтанного дезамінування ΔH (ккал/моль) канонічних нуклеотидних основ та деяких їхніх аналогів у вакуумі, розрахована напівемпіричним методом АМІ

Молекула	ΔH	Молекула	ΔH
Ade	3,21	m ⁷ Gua	-12,24
m ⁹ Ade	2,90	m ₂ ^{7,9} Gua	-14,15
m ² Ade	1,72	m ⁶ Gua	-0,38
m ₂ ^{2,9} Ade	1,71	isoGua	-11,11
m ⁶ Ade	0,76	o ⁸ Gua	-5,94
m ₂ ^{6,6} Ade	-6,96	m ⁹ o ⁸ Gua	-6,62
2-azaAde	5,86	8-aminoHyp	-5,11
o ⁸ Ade	3,42	Cyt	-9,86
m ⁹ o ⁸ Ade	3,37	m ¹ Cyt	-9,93
2-aminoPur	2,73	m ⁵ Cyt	-9,52
8-aminoPur	-8,28	m ₂ ^{1,5} Cyt	-9,55
2-aminoIm	2,59	m ⁰ Cyt	-9,51
m ¹ -2-aminoIm	3,55	m ⁴ Cyt	-13,08
Gua	-10,42	m ₂ ^{4,4} Cyt	-18,50
m ⁹ Gua	-6,88	isoCyt	-8,66
m ¹ Gua	-5,75	5-azaCyt	-8,92
m ₂ ^{1,9} Gua	-6,21	6-azaCyt	-10,52
m ² Gua	-14,44	m ¹ -5-azaCyt	-8,78
m ₂ ^{2,2} Gua	-18,09	m ¹ -6-azaCyt	-10,67

канонічні нуклеотидні основи утворюють ряд Gua > Cyt > Ade. При цьому лише для Ade та переважної більшості його похідних реакція дезамінування є ендотермічною (для Gua і Cyt та всіх без винятку їхніх похідних цей процес у вільному стані має екзотермічний характер). Серед амінопуринів (Ade, 2-aminoPur і 8-aminoPur), що складають повне сімейство структурних ізомерів, найменшу схильність до спонтанного дезамінування має канонічна нуклеотидна основа Ade. Метильовані по глікозидному атому азоту канонічні нуклеотидні основи за своєю здатністю спонтанно дезамінуватися утворюють ряд m¹Cyt > m⁹Gua > m⁹Ade, причому m¹Cyt > Cyt, m⁹Gua < Gua і m⁹Ade > Ade. Суттєве зниження здатності до дезамінування m⁹Gua у порівнянні з Gua пояснюється фіксацією енергетично не вигідної таутомерної форми N9H [5] продукту дезамінування — молекули m⁹Хап; в Хап, як відомо [5], основною таутомерною формою є N7H, яка на 4,19 ккал/моль вигідніша, ніж наступна за нею таутомерна форма N9H.

Одноразове і особливо подвійне метилювання аміногрупи канонічних нуклеотидних основ значно

підвищує їхню здатність спонтанно дезамінуватися: m⁹Gua < m⁴Cyt < m⁰Ade, причому m₂^{2,2}Gua > m²Gua, m₂^{4,4}Cyt > m⁴Cyt і m₂^{6,6}Ade > m⁰Ade.

Характерно, що метилювання m¹Cyt у п'ятому положенні, а також m⁹Gua в першому положенні дещо знижує схильність цих молекул до дезамінування. Не виключено, що це є своєрідним «захистом» від спонтанного дезамінування, який є надто актуальним у першому випадку у зв'язку з виникненням так званих «гарячих» мутацій [1].

Будь-яка модифікація канонічної нуклеотидної основи помітно змінює ентальпію реакції її дезамінування. А priori передбачити ці збурення, спираючись лише на фізико-хімічні властивості вихідних молекул, нині практично неможливо. Навіть, так би мовити, «найм'якша» модифікація нуклеотидних основ шляхом метилювання їхніх NH- чи СН-груп не призводить у всіх без винятку випадках до уніфікованих, бодай на якісному рівні, наслідків.

Таким же слабкопередбачуваним є вплив конденсації імідазольного (Im) та піримідинового циклів на ентальпію спонтанного дезамінування пуринів, що є, як показало дослідження, надзвичайно істотним. Так, наприклад, ентальпії дезамінування 2-aminoIm та 8-aminoPur відрізняються між собою більше ніж на 10 ккал/моль, причому конденсація кілець призводить до зміни термодинамічного характеру реакції.

Привертає до себе увагу й те, що у переважній своїй більшості молекули — продукти дезамінування є, на відміну від відповідних канонічних нуклеотидних основ [6] та їхніх похідних, планарними (симетрія C_v), дипольно-стійкими структурами. Зафіксовано лише окремі винятки із цієї закономірності. Так, серед досліджених похідних канонічних нуклеотидних основ, що мають у своєму складі аміногрупу, тільки дві молекули — 2-azaAde і isoGua є планарними (симетрія C_v), дипольно-стійкими структурами. 3-поміж молекул — продуктів дезамінування аналогів канонічних нуклеотидних основ неплоскими, дипольно-нестійкими структурами є ті, що мають карбонільну групу у восьмому положенні, — o⁸Pur, o⁸Хап, o⁸Hyp та їхні метильовані в дев'ятому положенні похідні. Їхня непланарність органічно пов'язана із стереохімічною нежорсткістю o²Im, енергетичний бар'єр інтерконверсії якого складає близько 0,13 ккал/моль. При конденсації o²Im з піримідином та його планарними похідними неплоскість імідазольного кільця передається і на піримідинове — вся молекула в цілому стає стереохімічно нежорсткою структурою.

У переважній більшості випадків дезамінуван-

ня канонічних нуклеотидних основ та їхніх похідних не супроводжується таутомерними переходами. Винятки складають описаний вище Gua і m^9 Gua. В останньому випадку у молекулі — продукті дезамінування імінопротони знаходяться при атомах азоту N7 і N3 (тобто відбувається таутомерний перехід N9H→N7H); енергетично вигідніша *цис*-орієнтація метильної групи відносно атома N1 при цьому зберігається.

Слід відзначити при цьому, що перехід з вакууму до водного розчину може спричинити істотне підвищення ендотерміки реакції індукованого теплом дезамінування канонічних нуклеотидних основ та їхніх аналогів, оскільки, зокрема, теплота утворення води в рідкому стані (–68,27 ккал/моль [3]) значно менша порівняно з молекулярним станом (–57,80 ккал/моль [3]).

Автор висловлює вдячність І. В. Кондратюку за допомогу при проведенні розрахунків.

Д. Н. Говорун

Структурно-енергетические особенности спонтанного дезаминирования канонических и модифицированных нуклеотидных оснований

Резюме

Полуэмпирическим квантовохимическим методом AM1 исследованы энергетические (энтальпия) и структурные (изменения стереохимической жесткости и таутомерного состояния) особенности спонтанного дезаминирования канонических нуклеотидных оснований и целого ряда их биологически важных модифицированных аналогов, имеющих в своем составе аминогруппу, в свободном состоянии.

D. M. Hovorun

Structural-energetic peculiarities of spontaneous deamination of canonical nucleotide bases and their modified analogues

Summary

By the semiempirical quantum-chemical AM1 method there were investigated energetic (enthalpy) and structural (variation in stereochemical non-rigidity and tautomeric state) peculiarities of spontaneous deamination of canonical nucleotide bases and number of their biologically important modified analogues which have exocyclic aminogroup in their composition.

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, № 2.— С. 734—755.
2. Данилов В. И., Квенцель Г. Ф. Электронные представления в теории точечных мутаций.— Киев: Наук. думка, 1971.— 83 с.
3. Реми Г. Курс неорганической химии.—М.: Мир, 1972.— 824 с.
4. Handbook of biochemistry and molecular biology / Ed. G. D. Fasman.— Boca Raton: CRC press Inc., 1983.—923 p.
5. Кондратюк І. В., Говорун Д. М., Желтовський М. В. Прототропна молекулярно-цвітеріонна таутомерія ксантину: розрахунок методом AM1 // Біополімери і клітка.— 1994.—10, № 6.— С. 52—60.
6. Говорун Д. М., Мішук Я. Р., Кондратюк І. В. Про квантовохімічну природу стереохімічної нежорсткості канонічних нуклеотидних основ // Там же.—1996.—12, № 5.—С. 5—12.

УДК 577.323.23

Надійшла до редакції 15.01.97