

УДК 277.3

ВНУТРІШНЬОМОЛЕКУЛЯРНА ТАУТОМЕРИЗАЦІЯ ТА КОНФОРМАЦІЙНА МІНЛИВІСТЬ ДЕЯКИХ КЛАСИЧНИХ МУТАГЕНІВ-ПОХІДНИХ ПУРИНОВИХ ОСНОВ ДНК: КВАНТОВО-ХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

^{1,2}Броварець О.О., ^{1,3}Говорун Д.М.

¹Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка

³Інститут високих технологій Київського національного університету імені Тараса Шевченка
e-mail: brovarets@list.ru

Надійшла до редакції 25.12.2009

Вперше на рівні теорії MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/6-311++G(d,p) досліджено конформаційне різноманіття, включаючи структурну нежорсткість, та фізико-хімічний механізм внутрішньомолекулярної таутомеризації низки класичних мутагенів, що є похідними пуринових основ ДНК. Показано, що оскільки їхні мутагенні таутомери мають значний час життя (у порівнянні з характерним часом елементарного акту біосинтезу ДНК), то на них формально може бути поширена таутомерна гіпотеза Вотсона і Крика. У цьому зв'язку цілком логічно пов'язати мутагенні властивості гідроксиамінопурину і 6-тіогуаніну з їхньою полегшеною здатністю у порівнянні з канонічними основами аденином і гуаніном, відповідно, переходити у мутагенну таутомерну форму. Водночас для 2-амінопурину і 2,6-діамінопурину треба шукати пояснення їхньої мутагенної активності за межами таутомерної гіпотези у класичному її розумінні, оскільки вони у порівнянні з аденином мають значно гіршу здатність переходити у мутагенну таутомерну форму.

Ключові слова: індуквані точкові мутації ДНК, похідні канонічних нуклеотидних основ, аналоги пуринових основ, внутрішньомолекулярна таутомеризація, перехідний стан, енергія активації Гіббса, час життя, конформаційні властивості, структурна нежорсткість, аналіз топології електронної густини, *ab initio*.

ВСТУП

Пошук елементарних фізико-хімічних механізмів виникнення спонтанних та індукованих точкових мутацій ДНК, з-поміж яких левову частку складають транзиції та трансверсії [1, 2], є однією із центральних задач молекулярної та квантової біофізики. Попри помітні теоретичні успіхи, досягнуті у цій біологічно важливій царині знань [3], отримання, накопичення та систематизація експериментального матеріалу [4-7] помітно випереджає темпи її осмислення на мікроструктурному рівні [8, 9]. Аналіз літератури вказує на те, що на заваді цього є, по суті, відсутність нових, продуктивних ідей та модельних уявлень якісно нового гатунку.

Суттєвий, як на нас, поступ вперед у цьому напрямку зроблено у недавніх роботах [10, 11].

Нами [10] вперше запропоновано та обґрунтовано новий фізико-хімічний механізм виникнення спонтанних транзицій. Він полягає у таутомеризації піримідинових основ змішених пар Gua·Thy і Ade·Cyt

з переходом їх у пари Gua*·Thy і Ade·Cyt* відповідно, індукованої взаємодією з центром розпізнавання правильних пар нуклеотидних основ реплікативних ДНК-полімераза.

Квантово-хімічним дослідженням на рівні теорії MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/6-311++G(d,p) нами виявлено новий фізико-хімічний механізм спонтанного перетворення Вотсон-Криківської пари Ade·Thy у пари за участі мутагенних таутомерів (позначено зірочками) Ade*·Thy і Ade·Thy* через спільний плоско-симетричний перехідний стан з енергією активації 17,38 ккал/моль – іонну пару Ade⁺·Thy⁻, охоплену чотирма Н-зв'язками N6H...O4, N6H...N3, N⁺1H...N3 і N+1H...O2 [11]. Пари Ade*·Thy і Ade·Thy* мають прийнятні відносні енергії Гіббса та дисоціації (9,94 і 12,43 ккал/моль та 6,06 і 1,61 ккал/моль за стандартних умов відповідно) для пояснення походження спонтанних точкових помилок (транзицій) реплікації ДНК, зумовлених особливостями її електронної будови.

Безпосередня експериментальна перевірка цих підходів [11] фізико-хімічними методами як у живій клітині, так і поза нею ускладнена, м'яко кажучи, через відомі причини принципового характеру, а саме – малу частоту виникнення спонтанних точкових мутацій – $10^{-9} \div 10^{-12}$ у перерахунку на одну пару нуклеотидів ДНК, що синтезується [12]. Залишається чи не єдина можливість – залучити нові модельні уявлення [10, 11] для тлумачення механізмів та характерних особливостей обох типів точкових мутацій – помилок включення та реплікації [7, 13], які індукуються мутагенами, в першу чергу тими із них, які є похідними канонічних нуклеотидних основ [6, 7].

Ця праця започатковує цикл досліджень, присвячених з'ясуванню елементарних фізико-хімічних механізмів дії мутагенів – похідних основ ДНК. Ми спираємося, з одного боку, на класичну таутомерну гіпотезу Вотсона-Крика [1], а з іншого – на мікроструктурні квантово-хімічні моделі, що її конкретизують [10, 11], і прагнемо відповісти на центральне запитання: “яких нових фізико-хімічних властивостей повинна набути канонічна нуклеотидна основа внаслідок її модифікації аби стати мутагеном?”. При цьому ми сповідуємо таку робочу гіпотезу: мутагени, похідні канонічних основ ДНК, мають помітно нижчу енергію таутомеризації, ніж останні, або ж індукують ці властивості у канонічних нуклеотидних основ, з якими вони спарені у подвійній спіралі ДНК.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Як об'єкт дослідження ми вибрали деякі класичні мутагени – похідні пуринових основ, а саме – 2-амінопурин (2amPur), 2,6-діамінопурин (2,6-DamPur), гідроксиамінопурин (HamPur) і тіогуанін (6 SGua), феноменологічні ефекти мутагенної дії яких найкраще представлено в літературі [13-19] з-поміж сполук аналогічної будови. Предмет нашого вивчення – фізико-хімічна природа процесів внутрішньомолекулярної таутомеризації досліджуваних мутагенів та їхні конформаційні властивості, включаючи структурну нежорсткість. Ця важлива з біологічної точки зору фізична інформація є неодмінною запорукою з'ясування елементарних фізико-хімічних механізмів їхньої мутагенної дії на ДНК. Для цього нами обрано квантово-хімічний метод дослідження на рівні теорії MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/6-311++G(d,p), який добре зарекомендував себе для подібного кола задач [20].

Квантово-хімічні розрахунки геометричної та електронної будови досліджуваних об'єктів проведено на рівні теорії DFT B3LYP/6-311++G(d,p) у вакуумному наближенні, яке для цієї задачі є адекватним [21,22]. При цьому перехідні стани трансформації основ ДНК ідентифікували методом STQN [23, 24]. Усі квантово-механічні розрахунки проведено із використанням програмного пакету “GAUSSIAN03” для платформи Win32 [26].

Розподіл електронної густини у досліджуваних основах та перехідних станах їхнього перетворення аналізували, використовуючи теорію Бейдера “атомів у молекулах” [27] та хвильові функції, отримані на рівні теорії B3LYP/6-311++G(d,p). Н-зв'язки [27] встановлювали за наявністю критичної точки (3,-1) між двома валентно незв'язаними атомами. Топологію електронної густини аналізували за допомогою програмного пакету AIM2000 [29], використовуючи стандартні опції. При цьому енергію внутрішньомолекулярних Н-зв'язків визначали за формулою, запропонованою авторами роботи [30] $E_{\text{НВ}}=0,5V(r)$, де $V(r)$ – значення локальної потенціальної енергії в критичній точці Н-зв'язку.

Константи швидкості для прямої та зворотної таутомеризації розраховували за формулою

$$k = \Gamma \cdot \frac{k_B T}{h} e^{-\frac{\Delta G}{RT}} \quad [31], \quad \text{де} \quad \Gamma = 1 + \frac{1}{24} \left(\frac{h\nu_i}{k_B T} \right)^2 -$$

множник Вігнера, що враховує тунелювання (позначення ті ж самі, що і в роботі [31]). Середній час життя (час релаксації) τ та час напіврозпаду $\tau_{1/2}$ обчислювали як $\tau = k^{-1}$, $\tau_{1/2} = \tau \cdot \ln 2$ [32].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Стаття організована у такий спосіб: конформаційні властивості та тісно пов'язані з ними характеристики внутрішньомолекулярної таутомеризації мутагенів – модифікованих пуринових основ ДНК - обговорюються для кожної сполуки окремо, причому спочатку досліджуються властивості базових пуринів - аденіну (Ade) і гуаніну (Gua), а потім – їхніх мутагенних похідних. Праця закінчується узагальнюючими висновками. Наголосимо також, що усі значення енергії Гіббса, якими оперують автори, наведені для стандартних умов, а енергії активації Гіббса відповідають переходам із низько-енергетичного стану у високоенергетичний, а не навпаки.

Відомо, що азотисті основи, які мають у своєму складі екзоциклічний С-амінний фрагмент $\geq\text{C-NH}_2$ є структурно-нежорсткими молекулами (про структурну нежорсткість детально див. [33-35]), інтерконверсія котрих, тобто конформаційне (без розривів хімічних зв'язків) взаємоперетворення самих в себе, здійснюється трьома топологічно і енергетично нееквівалентними шляхами – площинною інверсією амінного фрагмента та двома поворотами аміногрупи NH_2 навколо екзоциклічного зв'язку С-Н за і проти годинникової стрілки через плоско-симетричні перехідні стани з суттєво пірамідалізованим амінним фрагментом. Причому у площинному перехідному стані інверсії амінного фрагмента $\geq\text{C-NH}_2$ екзоциклічний зв'язок С-Н скорочується, зв'язки NH – подовжуються порівняно з рівноважною непланарною конфігурацією, а валентний кут HNH стає близьким до 120° . У плоско-

симетричних перехідних станах повертання аміногрупи зв'язок C-N подовжується, зв'язки NH – скорочуються, а валентний кут HNH помітно відхиляється від 120° – при цьому амінний фрагмент $\geq\text{C-NH}_2$ сильно пірамідалізується у порівнянні з рівноважною конфігурацією. Все це переконливо свідчить про те, що структурна нежорсткість молекул у даному разі контролюється внутрішньомолекулярним квантово-хімічним ефектом - р- π спряженням вільної електронної пари (ВЕП) атома азоту амінного фрагменту з π -електронною системою кільця [36, 37].

Базові молекули – Ade і Gua не “випадають” із цього контексту. Так, нами встановлено, що Ade є

ефективно планарною молекулою (ефективна [33, 34] симетрія C_s), інтерконверсія якої здійснюється через два плоско-симетричних перехідних стани (рис. 1) з енергією активації Гіббса 14,34 і 14,57 ккал/моль, а також через площинний перехідний стан з енергією активації 0,06 ккал/моль (результат отримано на рівні теорії DFT MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/cc-pVDZ). Збурення основних геометричних параметрів амінного фрагменту $\text{C}_6\text{N}_6\text{H}_2$ такі: довжина зв'язку C_6N_6 збільшується на 0,072 і 0,074 Å, довжини зв'язків N_6H зменшуються у середньому на 0,011 Å порівняно з рівноважною конфігурацією, а валентний кут HN_6H зменшується від $120,4^\circ$ до $105,8^\circ$ і $105,9^\circ$ у перехідних станах TS_2 і TS_3 відповідно.

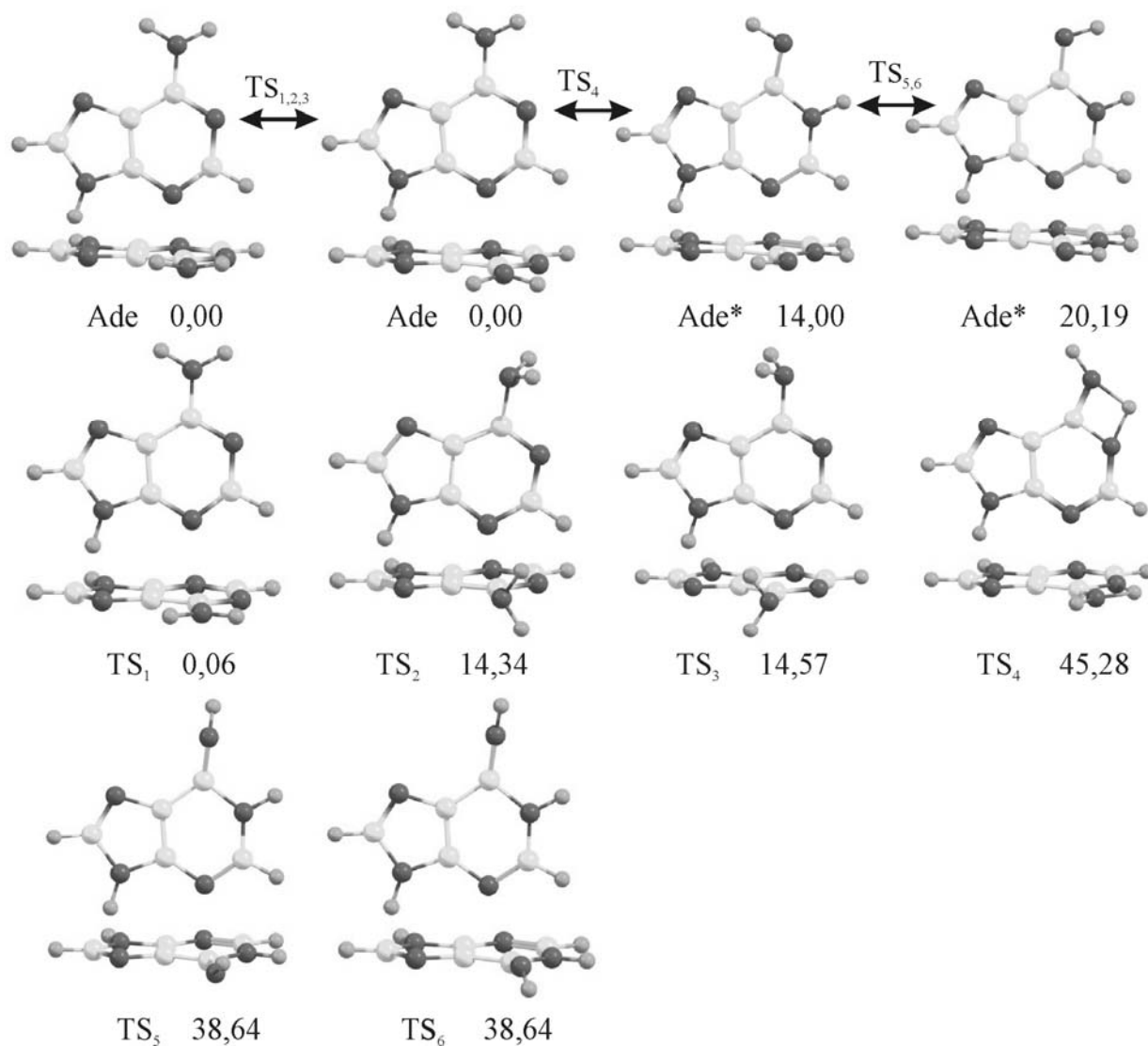


Рис. 1. Інтерконверсія та внутрішньомолекулярна таутомеризація аденіну у основній таутомерній формі та конформаційні перетворення його мутагенного таутомера (тут та на інших рисунках біля кожної структури вказана її відносна енергія Гіббса у ккал/моль за стандартних умов).

У площинному перехідному стані TS_1 інверсії амінного фрагмента $\geq C-NH_2$ екзоциклічний зв'язок C-N скорочується на 0,005 Å, зв'язки NH – подовжуються порівняно з рівноважною непланарною конфігурацією на 0,002 Å, а валентний кут HNH стає близьким до 120° і становить 120,9° на відміну від рівноважного стану (118,7°).

У мутагенного таутомера Ade* ($\Delta G=14,00$ ккал/моль) (табл. 1), який можливо спарюється з Cyt [41, 42], іміногрупа N6H має транс-орієнтацію відносно зв'язку N1C6. Рідкісний таутомер з цис-орієнтацією групи N6H ($\Delta G=20,19$ ккал/моль), який втрачає мутагенні властивості, оскільки не може помилково спарюватися з Cyt, утворюється з мутагенного таутомера двома дзеркально-симетричними конформаційними переходами через ізоенергетичні неплосинні перехідні стани (TS_5 і TS_6) ($N1C6N6H=\pm 86,2^\circ$) з енергією активації Гіббса 38,64 ккал/моль.

Амінний фрагмент $C2N2H_2$ Gua (рис.2) не можна вважати пірамідальним навіть при $T=0$ К, оскільки під бар'єром площинної інверсії (0,37 ккал/моль) не поміщається бодай один (нульовий) коливальний рівень компетентного колювання ($542,6$ см⁻¹), частота якого набуває уявного значення ($i371,1$ см⁻¹) у перехідному стані площинної інверсії. Енергії активації Гіббса інтерконверсії Gua через плоско-симетричні перехідні стани TS_2 та TS_3 повертання

аміногрупи (5,40 і 9,14 ккал/моль) з її транс- і цис-орієнтацією відносно зв'язку N1C2 суттєво відрізняються один від одного. Це пояснюється тим, що у першому випадку перехідний стан стабілізується електростатичною взаємодією ВЕП атома N2 з атомом водню при атомі азоту N1 та аміних атомів водню з ВЕП атома азоту N3. У другому випадку ці притягувальні взаємодії змінюються на відштовхування (ВЕП атомів N3 і N2 та аміних атомів водню від атома водню групи N1H), яке дестабілізує перехідний стан. У мутагенного таутомера Gua* ($\Delta G=0,13$ ккал/моль) (табл. 2), що помилково спарюється з Thy [41, 42], гідроксильна група O6H знаходиться у цис-орієнтації до зв'язку N1C6. Її перехід у транс-орієнтацію ($\Delta G=0,36$ ккал/моль) здійснюється двома дзеркально-симетричними шляхами через неплосинні перехідні стани (TS_9 , TS_{10}) ($N1C2N2H_1=\pm 16,2^\circ$; $N1C2N2H_2=\pm 165,6^\circ$, $N1C6OH=\pm 92,4^\circ$) з енергією активації Гіббса 8,25 ккал/моль. Цей таутомер не є мутагенним, оскільки він втрачає здатність спарюватися з Thy. Він має удвічі вищий (0,38 ккал/моль), ніж мутагенний таутомер (0,19 ккал/моль), бар'єр площинної інверсії і ненабагато вищі бар'єри інтерконверсії амінного фрагмента (11,79 і 12,81 ккал/моль), ніж у мутагенного таутомера (11,16 і 11,40 ккал/моль відповідно).

Таблиця 1

Основні кінетичні характеристики взаємоперетворення Ade та його похідних

Перехід	ΔG , ккал/моль	k, с ⁻¹	τ , с	$\tau_{1/2}$, с	ΔG , ккал/моль	K
Ade→Ade*	45,58	$2,29 \cdot 10^{-21}$	$4,36 \cdot 10^{20}$	$3,02 \cdot 10^{20}$	14,00	$5,40 \cdot 10^{-11}$
Ade*→Ade	31,58	$4,25 \cdot 10^{-11}$	$2,35 \cdot 10^{10}$	$1,63 \cdot 10^{10}$	-14,00	$1,85 \cdot 10^{10}$
2amPur→2amPur*	46,46	$5,16 \cdot 10^{-22}$	$1,94 \cdot 10^{21}$	$1,34 \cdot 10^{21}$	21,74	$1,14 \cdot 10^{-14}$
2amPur*→2amPur	24,73	$4,53 \cdot 10^{-6}$	$2,21 \cdot 10^5$	$1,53 \cdot 10^5$	-21,74	$1,00 \cdot 10^2$
DamPur→DamPur*	44,96	$6,58 \cdot 10^{-21}$	$1,52 \cdot 10^{20}$	$1,05 \cdot 10^{20}$	14,79	$1,41 \cdot 10^{-11}$
DamPur*→DamPur	30,16	$4,66 \cdot 10^{-10}$	$2,15 \cdot 10^9$	$1,49 \cdot 10^9$	-14,79	$7,08 \cdot 10^{10}$
HamPur→HamPur*	43,26	$1,16 \cdot 10^{-19}$	$8,64 \cdot 10^{18}$	$5,99 \cdot 10^{18}$	6,79	$1,05 \cdot 10^{-5}$
HamPur*→HamPur	36,47	$1,11 \cdot 10^{-14}$	$9,04 \cdot 10^{13}$	$6,27 \cdot 10^{13}$	-6,79	$9,55 \cdot 10^{-4}$

Позначення: ΔG – енергія активації Гіббса переходу; k- константа швидкості; K – стала таутомерної рівноваги; ΔG – енергія таутомеризації Гіббса.

Розпочнемо виклад отриманих результатів та їхнє обговорення для HamPur – мутагена, який з-поміж досліджених сполук продемонстрував найширші конформаційні можливості (рис. 3). З'ясувалося, що ця молекула має два майже ізоенергетичних конформери – з транс-орієнтацією аміногрупи N6H відносно зв'язку N1C6 ($\Delta G_1=0$) і цис-орієнтацією цієї ж групи відносно того ж зв'язку ($\Delta G_2=0,12$ ккал/моль), кожен з яких, у свою чергу, має дзеркально-

симетричний ізомер, оскільки обидва конформери є непланарними структурами з симетрією C_1 . Їхня неплосинність пов'язана з виходом із площини пуринового кільця екзоциклічного фрагмента N6OH₂. Вона має такий характер: для обох конформерів пуринове кільце є планарним – максимальні значення двограних кутів, що описують його непланарність, не перевищують 1,1°; при цьому атом азоту N6 та атоми водню і кисню, що з ним хімічно зв'язані,

відхиляються у різні боки від площини пуринового кільця ($C2N1C6N6=\pm 175,3; \pm 176,4^\circ$, $N1C6N6H=\pm 20,1; \pm 28,2^\circ$, $C6N6OH=\pm 78,6; \pm 12,0^\circ$ (знаки \pm відповідають

дзеркально-симетричним ізомерам, що мають тотожні скалярні фізико-хімічні характеристики [43], та наведені для цис і транс-конформерів відповідно).

Таблиця 2

Основні кінетичні характеристики взаємоперетворення Gua та 6SGua

Перехід	$\Delta\Delta G$, ккал/моль	k , c^{-1}	τ , с	$\tau_{1/2}$, с	ΔG , ккал/моль	K
Gua→Gua*	32,17	$1,57 \cdot 10^{-11}$	$6,38 \cdot 10^{10}$	$4,42 \cdot 10^{10}$	0,13	0,80
Gua*→Gua	32,04	$1,96 \cdot 10^{-11}$	$5,09 \cdot 10^{10}$	$3,53 \cdot 10^{10}$	-0,13	1,25
TioGua→TioGua *	22,95	$9,16 \cdot 10^{-5}$	$1,09 \cdot 10^4$	$7,56 \cdot 10^3$	-3,68	$4,98 \cdot 10^2$
TioGua*→TioGua	26,62	$1,84 \cdot 10^{-7}$	$5,43 \cdot 10^6$	$3,76 \cdot 10^6$	3,68	$2,01 \cdot 10^{-3}$

Позначення такі ж, як в табл.1

Інтерконверсія дзеркально-симетричних ізомерів відбувається за механізмом площинної інверсії – через планарні (група симетрії C_s) перехідні стани TS_1 та TS_{11} . Для цис-конформера **2** енергія активації Гіббса складає 2,35, а для транс-конформера **1** - 0,91 ккал/моль. Оскільки обидві величини перевищують $kT=0,62$ ккал/моль, а в потенціальній ямі цис-конформера розмішуються щонайменше два коливальних рівні [38] компетентного колювання з частотою $260,8 \text{ см}^{-1}$, яке в перехідному стані TS_1 стає уявним ($i240,1 \text{ см}^{-1}$), то його дзеркально-симетричні ізомери, на відміну від ефективно-планарного транс-конформера, є динамічно стійкими, але оптично неактивними [39] структурами. Конформаційний перехід транс→цис відбувається двома парами дзеркально-симетричних шляхів через ізоенергетичні дзеркально-симетричні неплщинні перехідні стани $TS_{7,8}(N1C6N6H=\pm 45,1^\circ$, $C6N6OH=\pm 53,5^\circ$, $HN6O=106,0^\circ)$ та $TS_{9,10}(N1C6N6H=\pm 137,3^\circ$, $C6N6OH=\pm 62,4^\circ$, $HN6O=106,3^\circ)$ з енергією активації Гіббса 11,36 та 12,42 ккал/моль відповідно. Цікавою структурною особливістю транс- і цис-конформерів є наявність в них внутрішньомолекулярного Н-зв'язку $OH...N1/N7$ з енергією 7,08 і 2,34 ккал/моль відповідно; перший із них $OH...N1$ при площинній інверсії дзеркально-симетричних ізомерів дещо послаблюється (до 6,62 ккал/моль), а другий - $OH...N7$ суттєво посилюється (від 2,34 до 6,14 ккал/моль).

Очевидно, що із двох конформерів мутагенну дію на ДНК буде чинити цис-аналог **2**, оскільки у основній таутомерній формі, коли атом водню локалізований при атомі азоту $N6$, він комплементарно спарюється з Thy , а його мутагенна форма з атомом водню, про який йшлося вище, приєднаним до атома азоту $N1$, - помилково спарюється з цитозином (Cyt) (ці дані детальніше будуть наведені у наступній нашій публікації). Перехід із основної таутомерної форми у мутагенну здійснюється двома дзеркально-симетричними шляхами через ізоенергетичний неплщинний дзеркально-симетричний перехідні стани $TS_{3,4}$ з

енергією активації 43,26 ккал/моль (табл. 1), яка близька до аналогічної величини для Ade (45,58 ккал/моль [39]). При цьому мутагенний таутомер має планарну будову; внутрішньомолекулярний Н-зв'язок $OH...N7$ у ньому посилюється більше, ніж удвічі у порівнянні з канонічними таутомерами, сягаючи 4,77 ккал/моль. Окрім того, $HamPur$ має низькоенергетичніший (на 3,20 ккал/моль) імінний таутомер з цис-орієнтацією зв'язку $N6O$ відносно зв'язку $N1H$, який охоплений внутрішньомолекулярним Н-зв'язком $N1H...O$ з енергією 5,51 ккал/моль. Він, на відміну від попереднього, не є мутагенним у вищезгаданому сенсі, оскільки не може неправильно спарюватися з Cyt , утворюючи пару, квазіізоморфну Вотсон-Криківським. Низькоенергетичніший імінний таутомер $HamPur$ перетворюється у мутагенний двома дзеркально-симетричними шляхами через пару ізоенергетичних, неплщинних перехідних станів $TS_{5,6}(N1C6N6O=\pm 91,3^\circ$; $C6N6OH=\pm 105,8^\circ)$ з доволі великою енергією активації Гіббса 47,79 ккал/моль. $HamPur$ має значно меншу енергію таутомеризації із основного стану у мутагенний (6,79 ккал/моль), ніж Ade (14,00 ккал/моль), а також значно більший час життя мутагенного таутомера ($9,04 \cdot 10^{13}$ с і $2,35 \cdot 10^{10}$ с відповідно), ніж аналогічний таутомер Ade . Це дозволяє якісно пояснити мутагенні властивості $HamPur$ зміною цих двох фізично взаємозв'язаних характеристик у порівнянні з канонічною основою ДНК - Ade .

Як і в Ade , доволі високий енергетичний бар'єр внутрішньомолекулярної таутомеризації $HamPur$ зумовлений відсутністю внутрішньомолекулярного Н-зв'язку, у якому бере участь протон, що мігрує, упродовж всього процесу таутомеризації – від початку і до його завершення. Щоб підкріпити цей висновок числовими даними, ми розрахували бар'єр внутрішньомолекулярної таутомеризації у обох конформерах $HamPur$ за рахунок перенесення гідроксильного атома водню, втягнутого у внутрішньомолекулярний Н-зв'язок з атомами $N7/N1$. Виявилось, що у випадку цис-конформера він складає

24,05 ккал/моль, а для транс-конформера – лише 13,76 ккал/моль, тобто значно менше, ніж у розглянутому вище випадку біологічно значущої таутомеризації. Це пояснюється тим, що у даному разі гідроксильний протон, що мігрує, втягнутий у внутрішньо-молекулярний Н-зв'язок, який є ефективним каналом

перенесення протону [8], як у початкових структурах (2,34 і 7,08 ккал/моль), у їхніх перехідних станах $TS_{2,12}$ (22,73 і 43,02 ккал/моль), так і у кінцевих структурах (6,05 і 5,12 ккал/моль) (в дужках подано енергії відповідних Н-зв'язків).

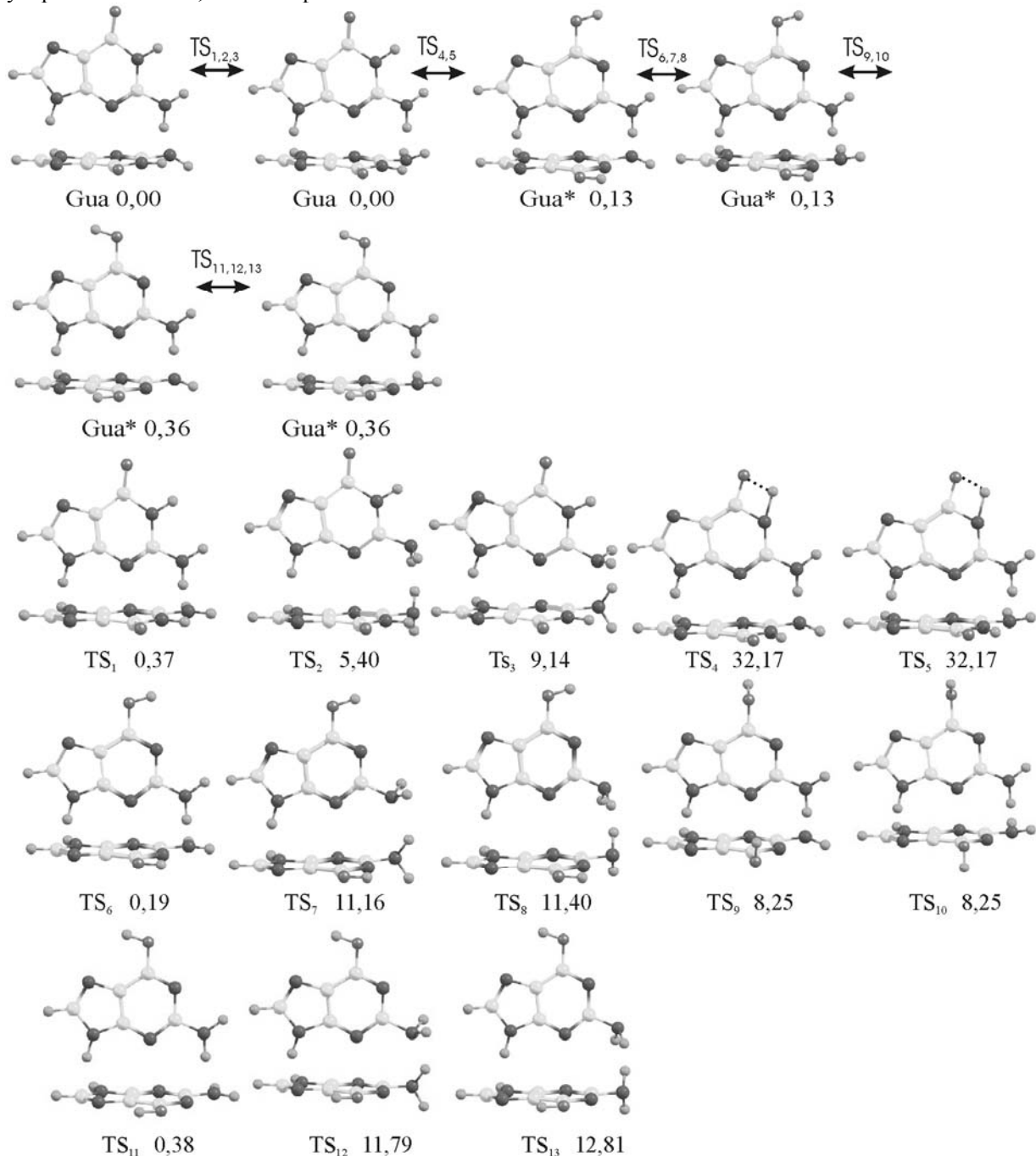


Рис. 2. Інтерконверсія гуаніну у основній та мутагенній таутомерних формах, внутрішньомолекулярна таутомеризація та конформаційні перетворення його мутагенного таутомера.

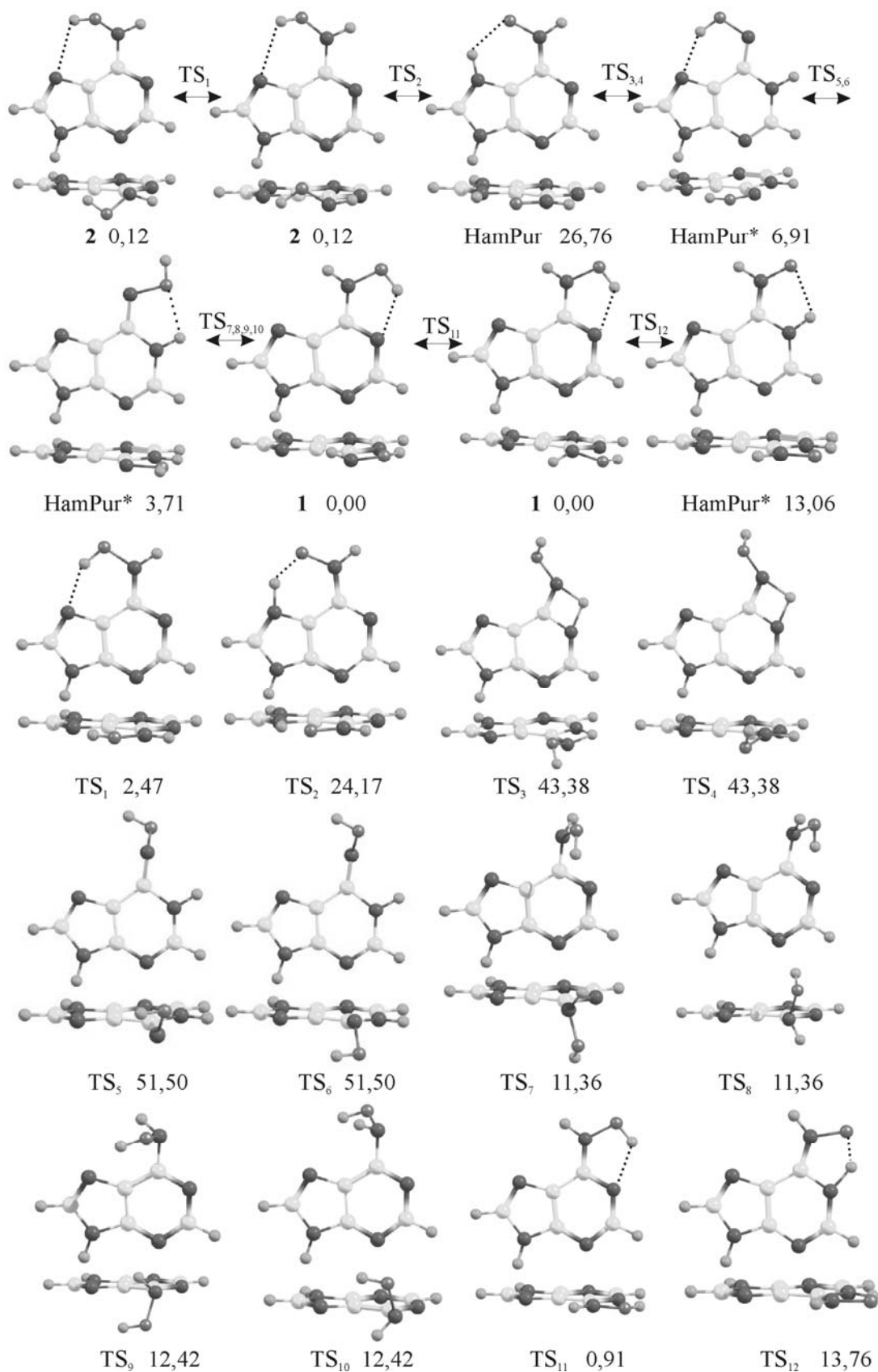


Рис. 3. Конформаційні перетворення HamPur у основній та мутагенній таутомерних формах та внутрішньомолекулярна таутомеризація HamPur (пунктиром позначено внутрішньомолекулярні Н-зв'язки).

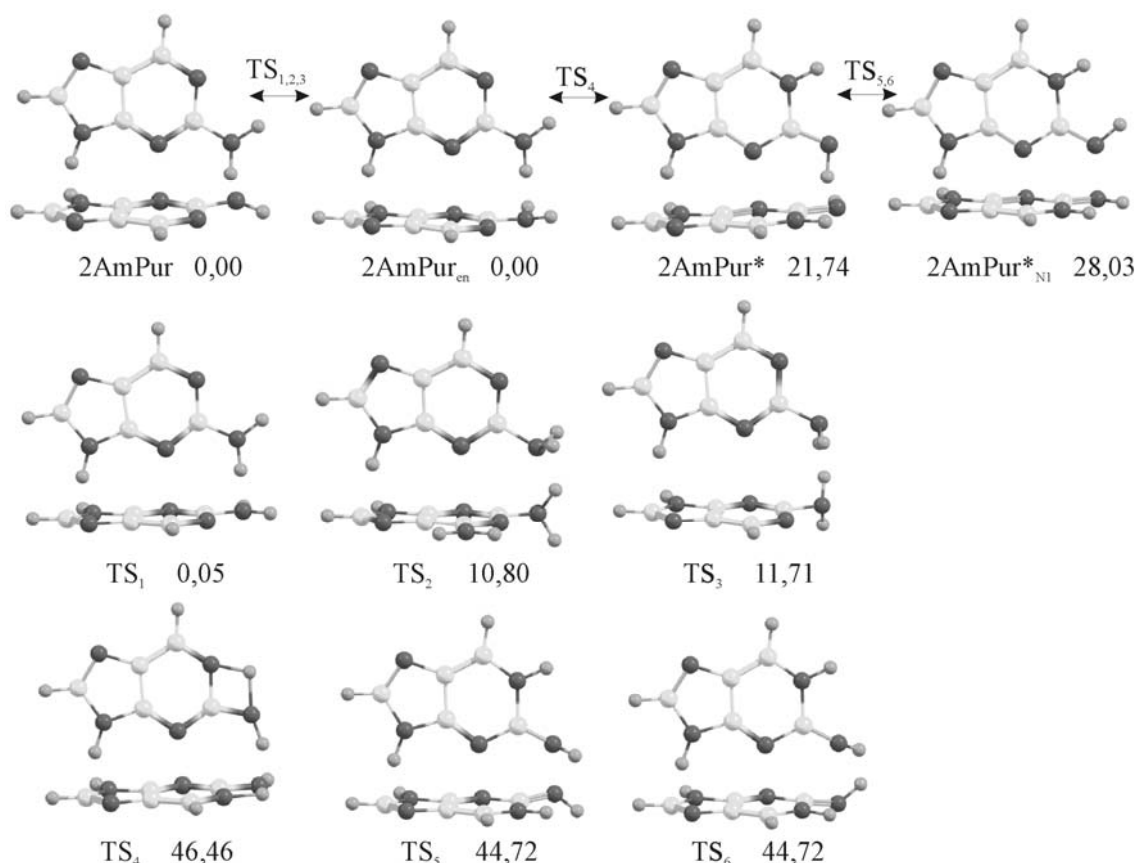


Рис. 4. Інтерконверсія 2AmPur у основній та мутагенній таутомерних формах, внутрішньомолекулярна таутомеризація та конформаційні перетворення його мутагенного таутомера.

Особливістю просторової будови **2AmPur** (рис.4) є наявність двох дзеркально-симетричних ізомерів (симетрія C_1), причиною яких є неплосинна будова амінного фрагмента $\geq C_2N_2H_2$ ($N1C_2N_2H_1 = \pm 15,1^\circ$; $N1C_2N_2H_2 = \pm 165,7^\circ$). Розрахунок показує, що їхня інтерконверсія відбувається за механізмом площинної інверсії через планарний (симетрія C_s), перехідний стан TS_1 з енергією активації Гіббса 0,05 ккал/моль, а також через два непланарні перехідні стани $TS_{2,3}$ з енергіями 10,80 та 11,71 ккал/моль. Однак, оскільки в потенціальних ямах дзеркально-симетричного потенціалу не може розміститися бодай один (нульовий) коливальний рівень компетентного коливання при $354,8 \text{ см}^{-1}$, частота якого стає уявною (і $251,4 \text{ см}^{-1}$) у перехідному стані TS_1 , то ця молекула є ефективно [33, 34] планарною.

Доведено, що її внутрішньомолекулярна таутомеризація з утворенням мутагенного таутомера, який може помилково спарюватися з СуТ (див. наступні наші публікації), відбувається у два етапа, причому перший етап власне перенесення протону є лімітуючим. Спочатку відбувається перенесення одного із протонів аміногрупи, який "дивиться" в бік атома азота N1, на останній через площинний перехідний стан TS_4 з енергією активації Гіббса 46,46 ккал/моль у високо-

енергетичний таутомер з відносною енергією 21,74 ккал/моль.

Потім повертанням аміногрупи $=N_2H$ навколо подвійного зв'язку $C_2=N_2$ двома дзеркально-симетричними шляхами (над і під) площиною пуринового кільця через ізоенергетичні, неплосинні ($C_6N_1C_2N_2 = \pm 170,1^\circ$, $N_1C_2N_2H = \pm 86,6^\circ$, $C_5C_6N_1C_2 = \pm 2,4^\circ$), дзеркально-симетричні перехідні стани $TS_{5,6}$, у яких аміногрупа лежить у площині, ортогональній до площини пуринового кільця, з енергією активації Гіббса 22,98 ккал/моль у кінцевий мутагенний таутомер з відносною енергією 28,03 ккал/моль. Оскільки енергія таутомеризації 2AmPur (28,03 ккал/моль) перевищує аналогічну енергію для Ade (14,00 ккал/моль) більше, ніж удвічі (стала таутомерної рівноваги складає при цьому $1,14 \cdot 10^{-14}$, що на 2-5 порядків менше, ніж частота спонтанних точкових мутацій [12]), то це означає, що треба шукати інший, аніж стандартний таутомерний механізм мутагенної дії 2AmPur. Цьому надзвичайно важливому з біологічної точки зору питанню буде присвячено одну із наших наступних праць.

2,6-DamPur. Обидва амініні фрагменти цієї молекули у 2-му і 6-му положеннях є пірамідальними ($N1C_6N_6H_1 = \pm 10,1^\circ$; $N1C_6N_6H_2 = \pm 171,3^\circ$; $N1C_2N_2H_1 = \pm 17,8^\circ$; $N1C_2N_2H_2 = \pm 164,4^\circ$) і

зорієнтовані відносно площини пуринового кільця у різні боки від нього (рис. 5). В результаті цього її рівноважна структура **2**, що відповідає глобальному

мінімуму на гіперповерхні потенціальної (електронної) енергії, є непланарною (симетрія C_1) і має два дзеркально-симетричних ізомери.

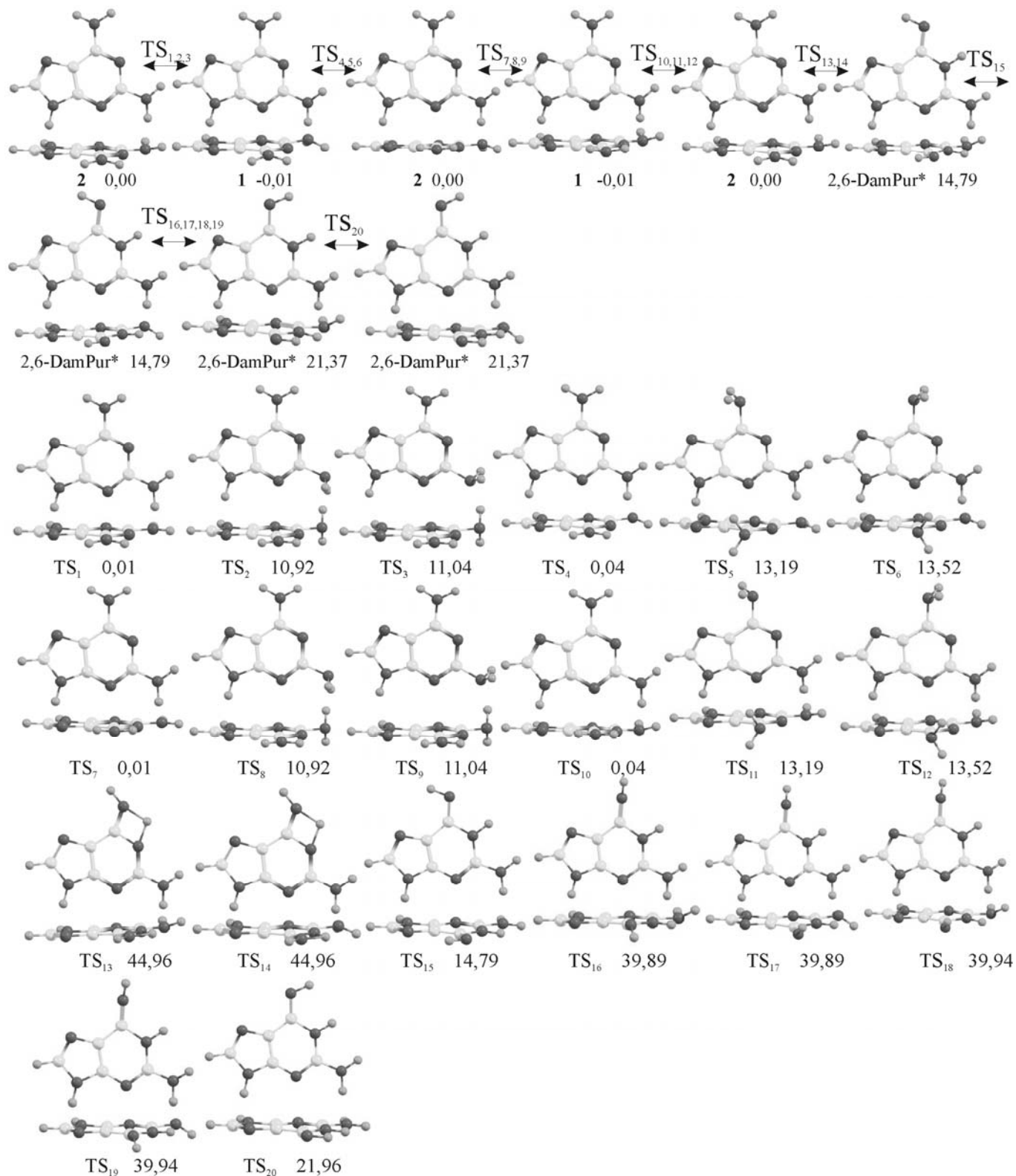


Рис. 5. Інтерконверсія 2,6-DamPur у основній та мутагенній таутомерних формах, внутрішньомолекулярна таутомеризація та конформаційні перетворення його мутагенного таутомера.

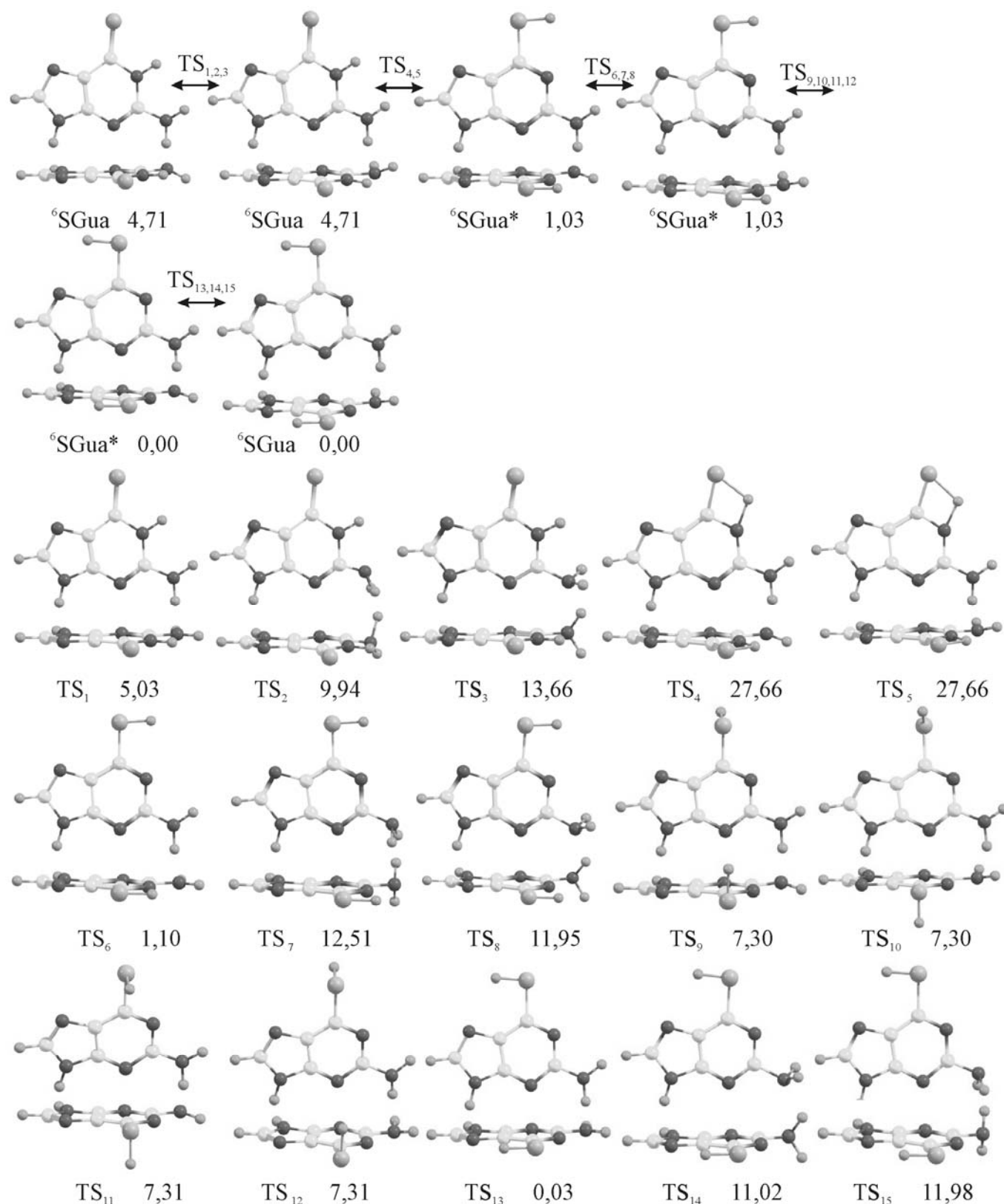


Рис. 6. Інтерконверсія ${}^6\text{SGua}$ у основній та мутагенній таутомерних формах, внутрішньомолекулярна таутомеризація та конформаційні перетворення його мутагенного таутомера.

Їхня інтерконверсія відбувається у два етапи, кожному з яких відповідає локальна площинна інверсія амінного фрагмента (розрахунок на рівні теорії MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/cc-pVDZ). Спочатку інверсує один із амічних фрагментів через

локально сплющений перехідний стан $\text{TS}_{1,2,3}$ (інший амічний фрагмент при цьому практично не змінює своєї пірамідальної будови) – утворюється структура з майже однаковою енергією **1**, амічні фрагменти якої “дивляться” відносно площини пуринового кільця в

