# ТЕОРЕТИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА ИЗОМЕРНИТЕ ПРЕВРЪЩАНИЯ НА УРАЦИЛ В ГАЗОВА ФАЗА

Иван Г. Щерев<sup>1</sup> и Васил Б. Делчев<sup>2\*</sup> <sup>1</sup>Кат. Физикохимия и неорганична химия, УХТ, Пловдив <sup>2</sup>Кат. Физикохимия, ПУ "Паисий Хилендарски"

# ABSTRACT

Nine isomers (tautomers and conformers) of uracil were studied at the B3LYP and MP2 theoretical levels, using the basis set 6-311++G(d,p). The transition states of the isomerizations were found, each as a first order saddle point on the reaction energy hypersurface. The crystal structure of uracil was investigated experimentally (X-ray powder analysis) and theoretically using a molecular mechanics force field. A cluster of four uracil molecules, resembling a part from its crystal lattice, was minimized by means of the PCMODEL program. The experimental and theoretical spacing between the crystal lattice planes are correspondingly d=3.135 Å and d=3.180 Å.

Keywords: density functional theory, X-ray powder analysis, uracil.

# въведение

Урацилът е една от най-важните пиримидинови бази, която влиза в състава на нуклеиновите киселини [1]. Тавтомерните му форми са изучени теоретично на различни нива на теорията [2-6]. Установено е, че кетоформата е найстабилна [1]. Именно тя участва в състава на нуклеиновите киселини. Получаването на друг тавтомер би довело до мутации [7,8]. Ето защо изучаването на стабилността на различните тавтомерни форми е от съществено значение. Съществуват два принципно различни метода за протонен пренос в междумолекулен трансфер бази: протонен [9-11] азотните И вътрешномолекулен протонен трансфер [11,12]. За съжаление последният не е изучен за урацила, за това ние си поставихме за цел да изчислим преходните състояния на тавтомерните превръщания и техните енергетични бариери.

<sup>\*</sup>vdelchev@pu.acad.bg.

### РЕЗУЛТАТИ

Кристалната структура на урацила беше доказана с помощта на рентгенофазов анализ (рентгенов апарат TÜR-MA-62, Германия, работно напрежение 32 kV, Си-тръба,  $\lambda_{\alpha 1} = 1.5405 \stackrel{o}{A}$ ,  $\lambda_{\alpha 2} = 1.5443 \stackrel{o}{A}$ ,  $\lambda_{cp} = 1.5424 \stackrel{o}{A}$ ). Рентгенограмата е представена на фиг. 1.



Фигура 1. Рентгенограма на урацила

Основният максимум е при  $2\theta = 28.48^{\circ}$  ( $\theta = 14.24^{\circ}$ ), от където по закона на Вулф и Брег [13],  $n\lambda = 2.d.\sin\theta$ , междуплоскостното разстояние d, при n=1, е 3.135 Å. От рентгенограмата става ясно, че в кристалната решетка на урацила има дефекти, което се вижда от множеството, слабо интензивни максимуми.



Фигура 2. Минимизирана структура на тетрамер на урацила

С цел да обясним кристалната структура на урацила проведохме предварителни изчисления, с методите на молекулната механика, на четири молекули от съединението (тетрамер). Оказа се, че най-изгоден тетрамер се образува, когато по двойки молекулите на урацила лежат в две копланарни равнини – фиг. 2. В значителна степен тетрамерът от фиг. 2 наподобява част от кристалната решетка на съединението. Това се доказва от изчислените разстояния между азотните атоми от двете равнини, които са 3.220 Å, 3.180 Å, 4.110 Å и 4.070 Å. Както се вижда тези стойности са доста близки до намереното междуплоскостно разстояние от рентгенофазовия анализ (d=3.135 Å). Изчисленият диполен момент на тетрамера е  $\mu$ =3.90 D, а топлината на образуване е  $\Delta H_{f}$ =-404.39 kcal.mol<sup>-1</sup>, E=-36.52 kcal.mol<sup>-1</sup>, E<sub>s</sub>=-10.12 kcal.mol<sup>-1</sup>.

Оптимизирани бяха (GAUSSIAN 03 [14]) девет изомера (конформерни и тавтомерни форми) на урацила с методите MP2 [15-17] и B3LYP [18] и базисни функции 6-31++G(d,p) и 6-31+G(d) в комбинация с трипараметричния функционал на Беке. Те са представени на схема 1.



Схема 1

Изчислените енергии на изомерите на урацила са дадени в таблица 1.

Изомер	B3LYP/6-31+G(d)	B3LYP/6-31++G(d,p)	MP2/6-31++G(d,p)
А	-414.837659	-414.847487	-413.694927
В	-414.816343	-414.828472	-413.676031
С	-414.804647	-414.816994	-413.664156
D	-414.817858	-414.829806	-413.678150
E	-414.812864	-414.827114	-413.677497
F	-414.803857	-414.818295	-413.668349
G	-414.804344	-414.816520	-413.664273
Н	-414.810937	-414.825210	-413.675547
Ι	-414.803804	-414.818227	-413.668327

Таблица	1.	Ене	ргии	на	изоме	pume	на	vpa	ацила
								~ •	,

Данните от таблицата показват, че най-стабилен е изомерът A, който съдържа две карбонилни групи в структурата си. Изчисленията с базисния набор 6-31++G(d,p) показаха, че най-нестабилен е изомерът G. Той е с 81 kJ.mol<sup>-1</sup> побогат на енергия от изомер A. Изключването на дифузните функции за водородните атоми и p-поляризационните функции от базисния набор променя реда на стабилност на разглежданите изомери. В този случай с най-висока енергия е изомер I ( 89 kJ.mol<sup>-1</sup> по-висока енергия от изомер A). Относителните енергии ( $E_{rel}$ ) на останалите изомери са представени на фиг. 2.



**Фиура 2.** Относителни енергии (Erel) на изомерите на урацила

Както се вижда изомери В, D, E и H са относително стабилни, с приблизително еднакви енергии. Най-нестабилни са изомерите С, F, G и I  $(E_{rel}>70 \text{ kJ.mol}^{-1})$ . За отбелязване е, че MP2 методът дава по-високи енергии на изомерите, отколкото функционалът B3LYP.

Преходните състояния на изомерните превръщания бяха намерени като седлови точки от първи род (с една отрицателна вибрационна собствена стойност). Имагинерната честота е определена като *паралелно трептене* по

реакционната крива [19]. Изчислените енергетични бариери и термодинамични параметри на изомерните превръщания са дадени в таблица 2.

Изомерно	B3LYP/6-31++G(d,p)				MP2/6-31++G(d,p)					
превръщане	Eπ	Eo	$\Delta H$	ΔG	$T\Delta S$	Eπ	Eo	$\Delta H$	ΔG	ΤΔS
$A \stackrel{\rightarrow}{\leftarrow} B$	184	134	48.9	49.4	0.5	187	137	-3.6	-7.5	3.9
$A \stackrel{\rightarrow}{\leftarrow} D$	189	142	45.4	46.2	-0.8	192	148.0	-3.5	-4.0	0.5
$B \stackrel{\rightarrow}{\leftarrow} C$	53	23	29.2	28.3	0.9	52	21	-4.1	3.2	7.3
$B \stackrel{\rightarrow}{\leftarrow} E$	163	159	3.6	4.6	-1.0	159	162	0.8	6.9	-6.1
$C \stackrel{\rightarrow}{\leftarrow} F$	153	156	3.0	1.6	1.4	154	165	3.9	1.6	2.3
$D \stackrel{\rightarrow}{\leftarrow} E$	161	154	7.1	7.8	-0.7	163	161	0.6	3.3	-2.7
D≁G	43	8	32.5	31.9	1.6	42	5	-1.9	-5.6	3.7
E∻F	36	13	22.5	22.0	0.5	43	19	-1.0	-2.0	1.0
E←H	41	36	4.7	4.6	0.1	38	33	-0.2	0.4	0.3
$F \stackrel{\rightarrow}{\leftarrow} I$	40	40	0.1	0.1	0.0	14	14	0.2	0.2	0.0
G≁H	142	165	-21.6	-19.5	-2.1	143	173	2.4	8.5	-6.1
H✦I	41	23	17.9	17.6	0.3	38	20	-0.6	-1.4	0.8

**Таблица 2.** Енергетични бариери и термодинамични параметри на изомерните превръшания, kJ.mol<sup>-1</sup>

Както се вижда от таблица 2 всички конформационни превръщания преминават през ниски енергетични бариери: 53 - 8 kJ.mol<sup>-1</sup> за B3LYP изчисленията и 52 - 5 kJ.mol<sup>-1</sup> за MP2 изчисленията. Поради голямата нестабилност на изомер G енергетичната бариера на превръщането G $\rightarrow$ D е доста ниска.

Високи енергетични бариери са изчислени за тавтомерните превръщания, които се извършват чрез вътрешномолекулен протонен пренос по механизма "през пространството". Най-неизгодно е превръщането на тавтомер А в тавтомери В и D. Това се обяснява с голямата стабилност на изомер А. Съгласно B3LYP изчисленията изомерните превръщания са еднотермични, с изключение на превръщането G—H. Съгласно принципът на Лефлер-Хамонд [20,21], при изомерните превръщания се реализира "късно" преходно състояние. Само при превръщането G—H преходното състояние съгласно този принцип се определя като "ранно". Според MP2 изчисленията голяма част от изомерните превръщания са екзотермични.

Данните от таблица 2 показват, че B3LYP методът дава по-ниски енергетични бариери за правата и обратната реакция при тавтомерните превръщания, в сравнение с MP2 метода. Обаче за конформационните превръщания, по-ниски енергетични бариери са изчислени с MP2 метода. Причината е, че при конформационните превръщания ефектите на електронна корелация са по-ясно изразени, докато при тавтомерните превръщания разкъсването на една и образуването на друга валентна връзка води до промяна на електронната плътност на цялата молекула, което може да бъде отчетено както с B3LYP, така и с MP2 метода.

Както се вижда всички изомерни превръщания протичат със незначителни стерични изменения, което е характерно за реакциите на вътрешномолекулен протонен пренос [22].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведените експериментални (рентгенова дифракция) и теоретични изследвания (молекулна механика) на кластер от четири молекули урацил се съгласуват добре, по отношение на междуплоскостното разстояние и взаимната ориентация на молекулите в кластера една спрямо друга.

Изчислените енергии на деветте изомера на урацила (B3LYP и MP2) показаха, че изомерът с две карбонилни групи е най-стабилен. Изчислените преходни състояния и енергетични бариери на взаимните превръщания на изомерите показват, че конформационните превръщания се извършват през ниски енергетични бариери (до 53 kJ.mol<sup>-1</sup>), което е обичайно при конформационни превръщания, в които един от ротиращите фрагменти е водороден атом. От тавтомеризациите най-неизгодно е превръщането на тавтомер А в тавтомери В и D, което се обяснява с голямата стабилност на изомер А.

Всички преходни състояния (с изключение на превръщането G→H) бяха отнесени като "късни", съгласно принципът на Лефлер-Хамонд [20,21]. Това следва от факта, че правите реакции на изомерните превръщания са ендотермични процеси.

**Благодарности.** Изказваме благодарност на ФНИ към МОН за финансовата подкрепа (МУХ – 1504 / 2005).

### ЛИТЕРАТУРА

- 1. A. Lehninger (2004) Principles of Biochemistry, 4 ed., Freeman, pp 608.
- 2. P. Ü. Civcir, J. Mol. Str. (THEOCHEM) (2000) 532, 157.
- 3. A. K. Chandra, T. Uchimaru, Th. Zeegers-Huyskens, J. Mol. Str. (2002) 605, 213.
- 4. B. Blicharska, T. Kupka, J. Mol. Str. (2002) 613, 153.
- 5. S. X. Tian, C. F. Zhang, Z. J. Zhang, X. J. Chen, K. Z. Xu, Chem. Phys. (1999) 242, 217.
- 6. I. R. Gould, N. A. Burton, R. J. Hall, I. H. Hiller, J. Mol. Str. (THEOCHEM) (1995) 331, 147.
- 7. R. Knippers, Molekulare Genetik (1997) Thieme, Stuttgart.
- 8. E. S. Kryachko, Int. J. Quantum Chem. (2002) 90, 910.
- 9. N. Markova, V. Enchev, I. Timtchev, J. Phys. Chem. A (2005) 109, 1981.

- 10. O. V. Shishkin, O. S. Sukhanov, L. Gorb, J. Leszczynski, Phys. Chem. Chem. Phys. (2002) 4, 5359.
- 11. L. Gorb, J. Leszczynski, J. Am. Chem. Soc. (1998) 120, 5024.
- 12. M. Mons, I. Dimicoli, F. Piuzzi, B. Tardivel, M. Elhanine, J. Phys. Chem. A (2002) 106, 5088.
- 13. Т. Трофимова, Курс по физика, Университетско издателство "Св. Климент Охридски", София, 1994.
- 14. <u>Gaussian 03</u>, Revision D.01, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, et al. Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
- 15. M. Head-Gordon, J. A. Pople, M. J. Frisch, Chem. Phys. Lett. (1988) 153, 503.
- 16. M. Head-Gordon, J. A. Pople, M. J. Frisch, Chem. Phys. Lett. (1990) 166, 275.
- 17. M. Head-Gordon, J. A. Pople, M. J. Frisch, Chem. Phys. Lett. (1990) 166, 281.
- 18. A. D. Becke, J. Chem. Phys. (1993) 98, 5648.
- 19. S. S. Shaik, H. B. Schlegel, S. Wolfe, Theoretical aspects of physical organic chemistry, JOHN WILEY & SONS, Inc.
- 20. G. S. Hammond, J. Am. Chem. Soc. (1955) 77, 334.
- 21. J. E. Leffler, Science (1953) 117, 340.
- 22. В. Б. Делчев, Х. Микош, Съюз на учените в България Пловдив, серия Б. Естествени и хуманитарни науки (2005) V, 7.