Доклады Академии наук СССР
1972. Том 205, № 2

УДК 543.42+543.257.1

БИОФИЗИКА

В. Л. АНТОНОВСКИЙ, А. С. ГУКОВСКАЯ, Т. М. ПРОКОПЬЕВА,
Б. И. СУХОРУКОВ

ПРОТОНИРОВАНИЕ ТИМИНА, УРАЦИЛА И ЕГО 5-ГАЛОИДПРОИЗВОДНЫХ

(Представлено академиком И. М. Эмануэлем 27 IX 1971)

Для выяснения механизма функционирования нуклеиновых кислот и их предшественников во многих работах исследуются изменения их функций при замене тимина и урацила на галоидпроизводные. Эти изменения, а также механизм биологического действия 5-галоидурацилов в ряде работ связывают с отличиями их кислотно-основных свойств от тимина и урацила ([1]).

В настоящей работе определены pK, ΔF, ΔH, ΔS процессов протонирования тимина, урацила и его 5-галоидпроизводных на основании исследований у.-ф. спектров растворов этих соединений при 20—60° в широком интервале значений кислотности среды.

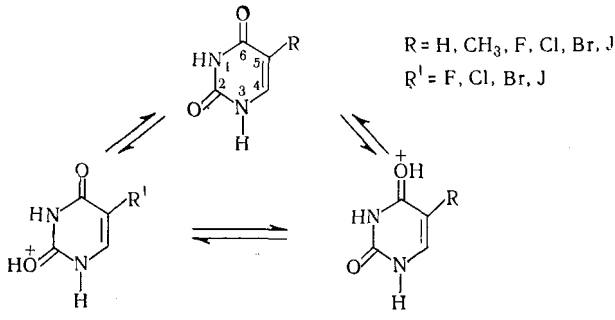
Спектрофотометрические исследования выполнены в термостатированной кювете на спектрофотометрах «Unicum SP-800» и «Optica Milano CF-4».

Спектры молекулярных форм получены в водных растворах в ацетатном и трис-буферах с добавлением NaCl для поддержания ионной силы равной 0,1. Урацил и его 5-метил- и -галоидпроизводные — слабые основания, поэтому протонирование этих соединений исследовали в растворах концентрированной серной кислоты. На рис. 1 представлены у.-ф. спектры молекулярной и катионной форм урацила, 5-бром, 5-фтор-, 5-хлор-, 5-иодурацила. Спектры поглощения молекулярных форм совпадают с имеющимися в литературе ([2]). Спектры катионных форм урацила и тимина представляют собой одну симметричную полосу, смещенную в длинноволновую область относительно молекулярной формы.

Найденная нами pK протонирования 1,3-диметилурацила совпадает с pK урацила, что свидетельствует о том, что протонирование урацила идет в основном по кислородному атому. В спектрах катионов 5-галоидзамещенных урацила наблюдается наложение двух полос поглощения. Величина смещения одной из этих полос относительно молекулярной формы близка к аналогичному смещению для урацила и тимина. Максимум второй полосы лишь незначительно смещен относительно максимума молекулярной формы.

Две полосы поглощения в у.-ф. спектрах 5-галоидпроизводных урацила интерпретируются нами как относящиеся к двум таутомерным катионным формам с присоединением протона по 0-2 и по 0-6. Введение галоида вместо водорода у С-5 уменьшает основность 0-6 атома урацила настолько, что концентрации катионных форм 5-галоидпроизводных, протонированных по 0-2 и по 0-6, становятся соизмеримыми. Урацил и тимин протонируются преимущественно по 0-6 (см. схему).

Нами был сопоставлен ряд методов расчета pK протонирования. Для всех изученных соединений зависимость логарифма отношения концентраций протонированной и молекулярной форм $\lg[BH^+]/[B]$ от функции кислотности H_0 — прямая с тангенсом угла наклона n_{H_0} существенно отличным



от единицы (табл. 1). Это указывает на неприменимость уравнения Гаммета ([3]) к данным соединениям. Значения n_{H_0} и H_0 полуионизации для 5-бромурацила и урацила согласуются с полученными ранее в работе ([4]). Зависимость $\lg[BH^+]/[B]$ от H_A — функции кислотности, введенной для амидов ([5, 6]), у всех исследованных соединений представляет собой прямую с тангенсом угла наклона n_{HA} близким к единице (табл. 1). Уравнение

$$H_0 + \lg[BH^+]/[B] = pK + \varphi(H_0 + \lg[H^+]), \qquad (1)$$

полученное ранее ([7]) на основе принципа линейности свободных энергий дает возможность рассчитать pK протонизации соединений, не подчиняющихся уравнению Гаммета, с помощью H_0. Наши экспериментальные данные хорошо описываются уравнением (1). Рассчитанные по уравнению (1) pK и φ приведены в табл. 1. pK протонирования, рассчитанные по методу ([7]) и с помощью функции H_A, близки между собой. Таким образом, протонирование урацила и его 5-замещенных лучше описывается функцией кислотности H_A, чем H_0, а рассчитанные с помощью H_A значения pK_{H_I} ближе к термодинамическим pK.

В табл. 2 приведены термодинамические характеристики процесса протонирования. При расчете ΔH, ΔF, ΔS протонирования использованы значения pK, определенные по уравнению (1), и температурная зависимость H_0 растворов H_2SO_4 ([8]). Как видно из табл. 2, изменения энтальпии в процессе протонирования для исследованных соединений отрицательны. Это можно объяснить тем, что урацил и его производные — более слабые основания, чем вода.

Таблица 1

Константы протонирования урацила и его производных при 25°, рассчитанные с использованием функций кислотности Гаммета H_0, Катрицкого H_A и по методу Баннета ([7])

Соединение	H_0 полуионизации	n_{H_0}	pK_{H_A}	n_{H_A}	pK	φ
Тимин	—2,50	0,47	—1,90	0,70	—1,60	0,54
Урацил	—3,50	0,52	—2,20	0,72	—2,07	0,54
	—3,38 ([4])	0,53([4])				
5-Фторурацил	—7,58	0,58	—4,78	0,75	—4,55	0,50
5-Хлорурацил	—7,40	0,45	—4,63	0,78	—4,13	0,47
5-Бромурацил	—7,25	0,50	—4,40	0,72	—4,10	0,55
	—7,25([4])	0,49([4])				
5-Иодурацил	—7,10	0,44	—4,20	0,67	—4,06	0,51

Примечание. Средняя квадратичная ошибка определения H_0 полуионизации, pK_{H_A} и pK не превышает ±0,10; ошибка определения тангенсов n_{H_0}, n_{H_A} и φ ±0,05.

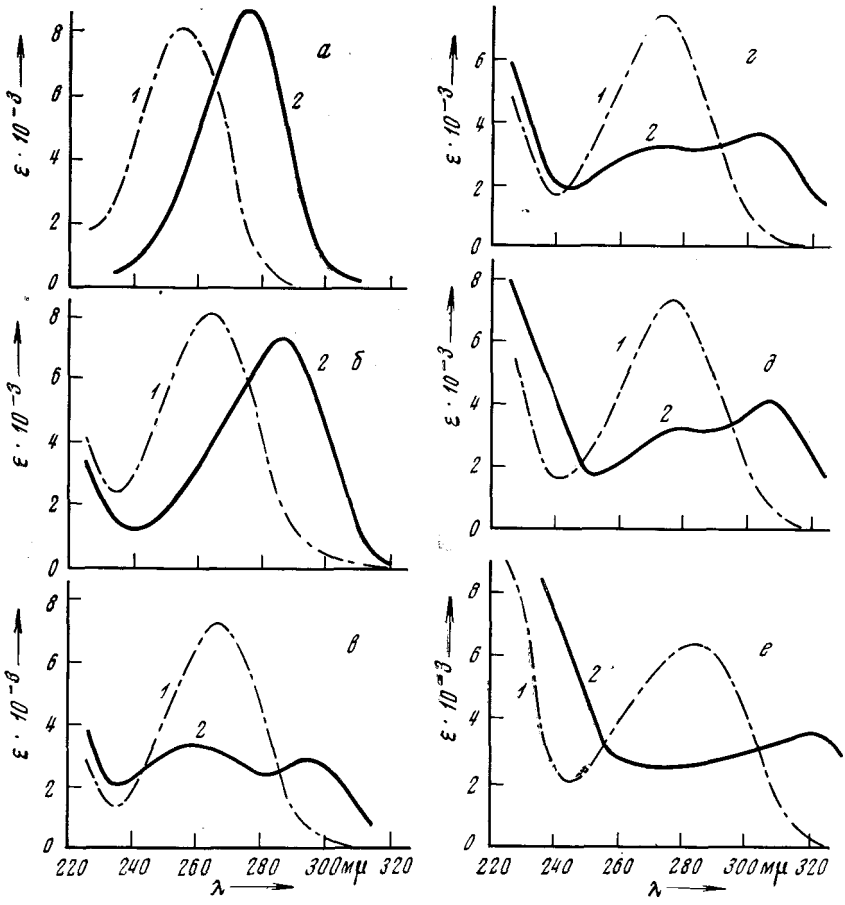


Рис. 1. У.-ф. спектры поглощения молекулярной (*1*) и катионной (*2*) форм тимина, урацила и его 5-галоидпроизводных в водных растворах при различной кислотности среды при температуре 20°. *а* — урацил (*1* — pH 7,10; *2* — 74% H_2SO_4). *б* — тимин (*1* — pH 7,62; *2* — 80% H_2SO_4), *в* — 5-фторурацил (*1* — pH 5,44; *2* — 97% H_2SO_4), *г* — 5-хлорурацил (*1* — pH 5,60; *2* — 97% H_2SO_4), *д* — 5-бромурацил (*1* — pH 5,95; *2* — 97% H_2SO_4), *е* — 5-иодурацил (*1* — pH 6,12; *2* — 97% H_2SO_4)

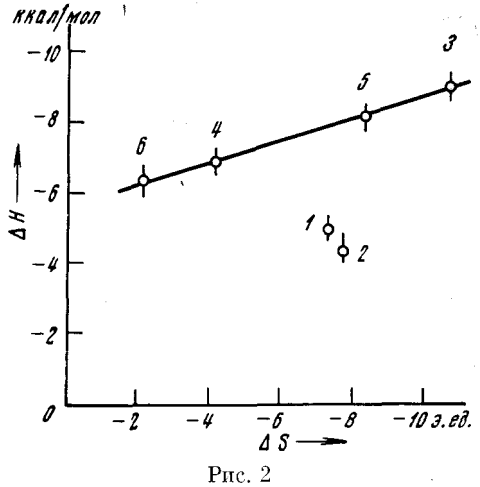


Рис. 2

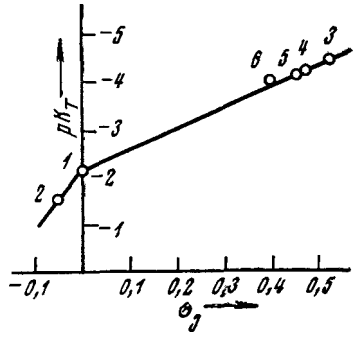


Рис. 3

Рис. 2. Зависимость ΔH от ΔS (протонирование). *1* — урацил, *2* — тимин, *3* — 5-фторурацил, *4* — 5-хлорурацил, *5* — 5-бромурацил, *6* — 5-иодурацил

Рис. 3. Зависимость pK протонирования от σ_I-констант заместителей. *1* — урацил, *2* — тимин; *3* — 5-фторурацил, *4* — 5-хлорурацил, *5* — 5-бромурацил, *6* — 5-иодурацил

Для 5-галоидзамещенных урацила имеет место компенсационная зависимость между ΔH и ΔS протонирования (рис. 3). Точки, относящиеся к тимину и урацилу, не укладываются на эту прямую.

Зависимость pK протонирования от величины σ_I — ароматических индукционных констант заместителей по Тафту описывается кривой с изломом на незамещенном соединении. Следует ожидать, что при дополнении наших данных значениями pK 5-замещенных урацилов с большими, чем у

Таблица 2

Термодинамические характеристики протонирования тимина, урацила и его 5-галоидпроизводных (25°)

Соединение	ΔF, ккал/моль	ΔH, ккал/моль	ΔS, э. ед.
Тимин	—2,16	—4,41	—7,61
Урацил	—2,85	—5,00	—7,25
5-Фторурацил	—6,24	—9,40	—10,60
5-Хлорурацил	—5,62	—6,88	—4,10
5-Бромурацил	—5,66	—8,10	—8,32
5-Иодурацил	—5,56	—6,26	—2,01

Примечание. Погрешность определения ΔH и ΔF равна ±0,5 ккал/моль, ΔS ±1,5 э. ед.

галоидов, совокупность точек опишется кривой с двумя асимптотами в соответствии с теорией М. И. Кабачника ([9]) для таутомерного равновесия прототропных веществ с двумя реакционными центрами.

Характер зависимостей для процесса протонирования ΔH от ΔS и pK от σ_I-констант заместителей находится в соответствии с выводами, следующими из у.-ф. спектров, о том, что урацил и тимин протонируются по 0-6, тогда, как 5-галоидпроизводные урацила под влиянием электроноакцепторных заместителей протонируются как по 0-6, так и по 0-2.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов
Академии наук СССР
Москва

Институт биофизики
Академии наук СССР
Пущино-на-Оке

Поступило
17 IX 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] Н. К. Кочетков, Э. И. Будовский и др., Органическая химия нуклеиновых кислот, М., 1970; А. Лавлес, Генетические эффекты алкилирующих соединений, М., 1970. [2] K. Berens, D. Shugar, Acta biochim. polon., **10**, 25 (1963). [3] L. Hammett, A. Deyrup, J. Am. Chem. Soc., **54**, 4239 (1932). [4] Katritzky, A. Waring, J. Chem. Soc., **1962**, 1540. [5] K. Yates, J. Stevens, A. Katritzky, Canad. J. Chem., **42**, 1597 (1964). [6] C. Johnson, A. Katritzky, N. Shakir, J. Chem. Soc., **1967**, 1237. [7] J. Bunnet, F. Olsen, Canad. J. Chem., **44**, 1899 (1966). [8] A. Katritzky, C. Johnson, S. Shapiro, J. Am. Chem. Soc., **91**, 6654 (1969). [9] М. И. Кабачник, Журн. Всесоюзн. хим. общ. им. Д. И. Менделеева, **7**, 263 (1962).