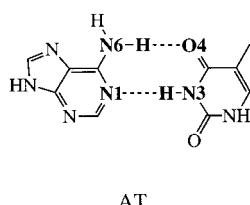


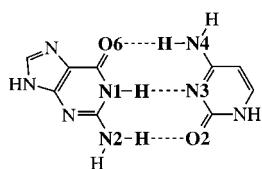
Ladungstransfer und molekulare Umgebung sind verantwortlich für Eigenschaften von Wasserstoffbrücken in DNA-Basenpaaren**

Célia Fonseca Guerra und F. Matthias Bickelhaupt*

Obwohl Wasserstoffbrücken zu den schwächsten chemischen Wechselwirkungen zählen, nehmen sie in der Biochemie eine Schlüsselstellung ein, indem sie beispielsweise an verschiedenen Prozessen der Selbstorganisation und der molekularen Erkennung beteiligt sind. Als herausragendes Beispiel sind die Wasserstoffbrücken in den Watson-Crick-Basenpaaren Adenin-Thymin (AT) und Guanin-Cytosin (GC) zu nennen, die die beiden helicalen Nucleotidstränge der DNA zusammenhalten und die Grundlage des genetischen Codes bilden. Diese Bindungen werden allgemein als



AT



GC

überwiegend elektrostatische Wechselwirkungen angesehen, die nach Gilli et al. erheblich durch Resonanz im π -Elektronensystem verstärkt werden, wobei die negative Ladung am Protonenacceptoratom und die positive Ladung am Protonendonatoratom erhöht werden. Dieses Phänomen wird als resonanzunterstützte Wasserstoffbrücke (resonance-assisted hydrogen bonding, RAHB) bezeichnet.^[1]

Wir stellen hier quantenchemische Untersuchungen vor, die diese Ansicht in Frage stellen und die Bedeutung des Beitrags von Ladungstransfer zu den sowie den Einfluß der molekularen Umgebung auf die Wasserstoffbrücken in DNA-Basenpaaren belegen. Wir können nun einen signifikanten, bisher nicht aufgelösten Widerspruch zwischen den experimentellen^[2] und theoretischen Werten^[3] für die Abstände zwischen den Protonendonor- und den Protonenacceptoratomen in den Basenpaaren AT und GC erklären. Unsere Beweise basieren auf einer eingehenden nichtlokalen Dichtefunktionaltheorie(DFT)-Studie an verschiedenen AT- und GC-Modellen unter Verwendung des Programms ADF (auf dem BP86/TZ2P-Niveau).^[4, 5]

Während unsere berechneten Basenpaarungsenthalpien (298 K, BSSE-Korrektur) von -11.8 und $-23.8 \text{ kcal mol}^{-1}$ für AT bzw. GC sehr gut mit den experimentellen Werten

(-12.1 bzw. $-21.0 \text{ kcal mol}^{-1}$) aus Gasphasenuntersuchungen übereinstimmen,^[6] erhalten wir im Vergleich mit Daten aus Röntgenstrukturanalysen^[2] eine erhebliche Diskrepanz, wie sie auch zuvor bei konventionellen ab-initio- (HF) und Hybrid-DFT-Studien (B3LYP) aufgetreten war.^[3] Wie in Abbildung 1 zu sehen ist, betragen die Längen der Wasserstoffbrücken zwischen N6 und O4 sowie zwischen N1 und N3

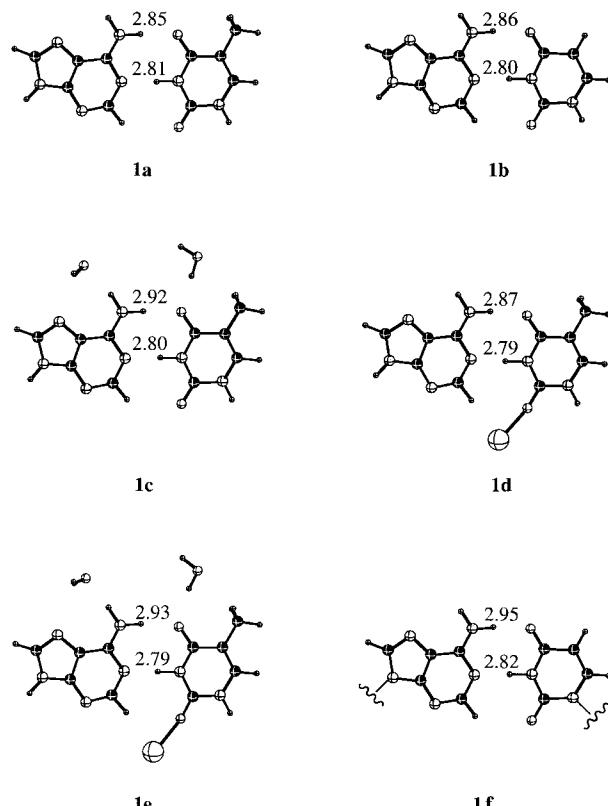


Abbildung 1. Durch BP86/TZ2P-Rechnungen ermittelte N6-O4- und N1-N3-Abstände [Å] in Adenin-Thymin **1a**, Adenin-Uracil **1b** und den AT-Modellen **1c–e**, die Wassermoleküle und/oder ein Natriumion enthalten, sowie die entsprechenden, durch Röntgenstrukturanalyse bestimmten Abstände im Kristall des Natriumsalzes von Adenylyl-3',5'-uridin-hexahydrat **1f**.^[2b]

in AT **1a** 2.85 bzw. 2.81 Å und ähneln denen in Adenin-Uracil (AU) **1b**. Demgegenüber stehen die experimentell bestimmten Abstände von 2.95 bzw. 2.82 Å in **1f**. Noch gravierender ist der Unterschied bei den drei Wasserstoffbrücken in GC (Abbildung 2): Nach unseren Rechnungen sind die O6-N4-, N1-N3- und N2-O2-Abstände mit der Reihenfolge kurz-lang-lang (2.73, 2.88 bzw. 2.87 Å, **2a**) zu beschreiben, während nach den experimentellen Daten die Reihenfolge lang-lang-kurz (2.91, 2.95 bzw. 2.86 Å, **2f**) vorliegt. Wir haben überprüft, daß diese Unterschiede nicht darauf zurückzuführen sind, daß wir die glycosidische N-C-Bindung nicht berücksichtigt haben. Denn die Methylierung der Basen an N9 (A oder G) oder N1 (T oder C) – eine Methode, die glycosidische N-C-Bindung zu imitieren, – hat im Grunde keinen Einfluß auf die Wasserstoffbrücken der AT- und GC-Basenpaare: Die Bindungsenergien (0 K, keine BSSE-Korrektur) unterscheiden sich nicht bzw. nur durch $0.3 \text{ kcal mol}^{-1}$, und die Längen der Wasserstoffbrücken weichen um höchstens 0.01 Å (BP86/TZ2P) ab (nicht in Abbildung 1 und 2 dargestellt). Auch die

[*] Dr. F. M. Bickelhaupt
Fachbereich Chemie
Philipps-Universität Marburg
Hans-Meerwein-Straße, D-35032 Marburg
Fax: (+49) 6421-28-28917
E-mail: bickel@chemie.uni-marburg.de

Drs. C. Fonseca Guerra
Afdeling Theoretische Chemie
Scheikundig Laboratorium der Vrije Universiteit
De Boelelaan 1083, NL-1081 HV Amsterdam (Niederlande)

[**] Diese Arbeit wurde vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert.
F.M.B. dankt der Deutschen Forschungsgemeinschaft für ein Habilitationsstipendium.

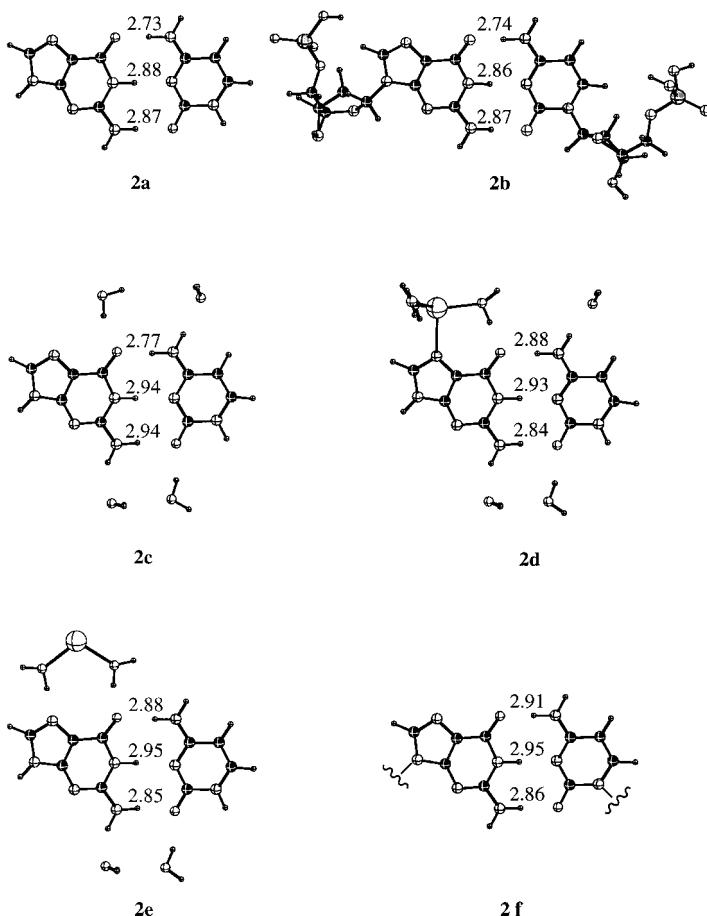


Abbildung 2. Durch BP86/TZ2P- (**2a**, **2c–e**) und BP86/DZP-Rechnungen (**2b**) ermittelte O6-N4-, N1-N3- und N2-O2-Abstände [Å] in Guanin-Cytosin **2a**, im Nucleotidpaar dGMP-dCMP **2b** unter Berücksichtigung des Rückgrats und in den GC-Modellen **2c–e**, die Wassermoleküle und/oder ein Natriumion enthalten, sowie die entsprechenden, durch Röntgenstrukturanalyse bestimmten Abstände im Kristall des Natriumsalzes von Guanylyl-3',5'-cytidin-nonahydrat **2f**.^[2c]

Längen der H-Brücken im Nucleotidpaar **2b** unterscheiden sich nur um maximal 0.02 Å (BP86/DZP) von denen im Basenpaar **2a**.

Um den Grund für diese Diskrepanz zwischen Theorie und Experiment zu finden, haben wir die Wechselwirkungen in C_s -symmetrischen AT- und GC-Basenpaaren, deren H-Brückenlängen und -Energien um weniger als 0.005 Å bzw. 0.1 kcal mol⁻¹ von denen der C_1 -symmetrischen Paare **1a** und **2a** abweichen, auf der Grundlage des Kohn-Sham-Molekülorbital(KS-MO)-Modells untersucht. Hierzu haben wir die eigentliche Wechselwirkungsenergie (ΔE_{int}) in die klassische elektrostatische Wechselwirkung (ΔV_{elst}), bindende Orbitalwechselwirkungen (ΔE_{oi}) – die Ladungstransfer und Polarisation einschließen – und in die Pauli-Abstoßung zwischen abgeschlossenen Schalen (ΔE_{Pauli}) zerlegt.^[5] Wie sich herausstellt, tragen die bindenden Orbitalwechselwirkungen sowohl in AT als auch in GC in der gleichen Größenordnung wie die elektrostatische Anziehung zu den Wasserstoffbrücken bei (ΔE_{oi} und ΔV_{elst} betragen für AT –22.4 bzw. –32.1 kcal mol⁻¹, für GC –34.1 bzw. –48.6 kcal mol⁻¹). Eine genauere Untersuchung von ΔE_{oi} und den damit verbundenen Änderungen der Wellenfunktion

(Orbitalmischung) zeigt, daß die Orbitalwechselwirkungen überwiegend auf den Ladungstransfer im σ -Elektronensystem zwischen einem freien Elektronenpaar eines Stickstoff- oder Sauerstoffatoms der einen Base und den N-H- σ^* -Acceptororbitalen der anderen Base zurückgehen. In Abbildung 3 sind die nach der KS-MO-Methode ermittelten Wechselwirkungen der Grenzorbitale in AT wiedergegeben. Die Analyse von GC ergibt ein ähnliches Diagramm. In der Tat können wir Orbitalwechselwirkungen im π -Elektronensystem (nicht in Abbildung 3 dargestellt) identifizieren, die an das RAHB-Modell erinnern: Durch Polarisierung der π -Ladungsverteilung innerhalb einer Base kompensieren diese Wechselwir-

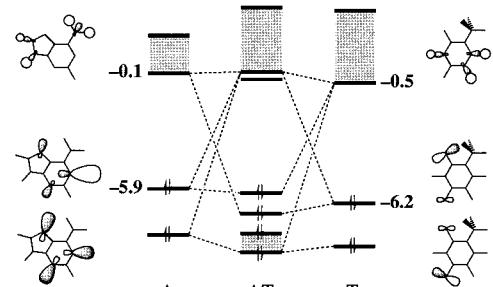


Abbildung 3. Grenzorbitalwechselwirkungen zwischen Adenin und Thymin in **1a** nach BP86/TZ2P-Kohn-Sham-DFT-Analysen. (Die HOMO- und LUMO-Energien der σ -Elektronen der Basen sind in eV angegeben, die Gruppe der beteiligten niedrigsten unbesetzten Orbitale ist als Block gekennzeichnet.)

kungen die durch den Ladungstransfer im σ -Elektronensystem aufgebaute Ladung. Der entsprechende Beitrag der π -Wechselwirkungen zu den Wasserstoffbrücken in AT und GC beträgt –1.7 bzw. –4.8 kcal mol⁻¹; das entspricht nur 3 bzw. 6 % der gesamten bindenden Wechselwirkungen $\Delta E_{\text{oi}} + \Delta V_{\text{elst}}$. Somit kommt dem π -Beitrag eine geringe Bedeutung zu. Aber andererseits machen die π -Wechselwirkungen 14–20 % der Nettobindungsenthalpien aus, und auf der sehr flachen Potentialenergiefläche können sie eine Verkürzung der Wasserstoffbrücken um ungefähr 0.1 Å bewirken. Unter diesem Gesichtspunkt kann man von einer gewissen π -Unterstützung sprechen, obwohl dieser Term im Vergleich zum Ladungstransfer und der elektrostatischen Anziehung ziemlich gering ist.

Einen weiteren Beweis für Ladungstransfer liefert die Analyse der Deformationsdichte $\rho_{\text{Paar}}(r) - \rho_{\text{Base1}}(r) - \rho_{\text{Base2}}(r)$, d. h. der Umverteilung der Ladungsdichte nach der Bildung des Basenpaares aus den entsprechenden Einzelbasen. Diese kann mit Hilfe der erweiterten Voronoi-Deformationsdichte-Methode (VDD) quantifiziert werden.^[7] Mit dieser Methode können die mit der Basenpaarung verbundenen Änderungen der Atomladungen ΔQ_A bestimmt und nach Gleichung (1) zur Deformationsdichte in Beziehung gesetzt werden (VVA = Volumen der Voronoi-Zelle von Atom A im Basenpaar).

$$\Delta Q_A^{\text{VDD}} = - \int_{\text{VVA}} [\rho_{\text{Paar}}(r) - \rho_{\text{Base1}}(r) - \rho_{\text{Base2}}(r)] \text{d}r \quad (1)$$

Die Interpretation der mit VDD berechneten Atomladungen ist ziemlich einfach. Anstelle der Berechnung der Ladung

eines einzelnen Atoms A wird der aus den Wechselwirkungen zwischen den DNA-Basen resultierende Ladungsfluß aus ($\Delta Q_A > 0$) oder in die Voronoi-Zelle des Atoms A ($\Delta Q_A < 0$) bestimmt. Die Voronoi-Zelle des Atoms A entspricht dem Raumsegment, das dem Kern A näher ist als jedem anderen Kern. Wir haben sichergestellt, daß alle VDD-Werte stabil gegenüber Variationen in den verwendeten Basissätzen sind, indem wir die VDD-Ladungen nach BP86 mit drei verschiedenen Basissätzen vom Slater-Typ, DZ (nichtpolarisiert, doppel- ζ), DZP (einfach polarisiert, doppel- ζ) und TZ2P (zweifach polarisiert, tripel- ζ), berechneten: Die maximale Abweichung beträgt 0.01 Elektronen. Dies beeinflußt weder das physikalische Bild noch unsere Schlußfolgerungen. Einzelheiten unserer Analysen werden an anderer Stelle veröffentlicht werden.

Die Donor-Acceptor-Wechselwirkung in der Wasserstoffbrücke N1 \cdots H-N3 in AT, an der zwei Adenin-Donororbitale mit dem Charakter eines freien Elektronenpaares an N1 beteiligt sind, bewirkt einen Nettotransfer von 0.05 Elektronen von A auf T (berechnet nur mit virtuellen σ -Orbitalen an T, alle anderen virtuellen Orbitale wurden entfernt). Andererseits erfolgt eine Übertragung von 0.04 Elektronen von T zurück auf A infolge der Wechselwirkungen in der N6-H \cdots O4-Wasserstoffbrücke unter Beteiligung eines Thymin-Donororbitals mit dem Charakter eines freien Elektronenpaares an O4. Daraus resultiert insgesamt eine geringe negative Ladung im Thymin. Im Basenpaar GC werden 0.05 Elektronen von G (freies Elektronenpaar an O6) in der O6 \cdots H-N4-Wasserstoffbrücke auf C übertragen, während 0.07 Elektronen von C (zwei Donoratome, N3 und O2) zurück auf G in den beiden Wasserstoffbrücken N1-H \cdots N3 und N2-H \cdots O2 transferiert werden. Dies führt zu einer negativen Ladung im Guanin.

Das gleichzeitige Vorkommen von Wasserstoffbrücken, die Ladungen in entgegengesetzte Richtungen übertragen, verhindert den Aufbau hoher Gesamtladungen in den DNA-Basen, und man sollte deshalb erwarten, daß diese Wasserstoffbrücken sich gegenseitig verstärken. Aber die Analyse der Bindungsenergie weist auf keinen Synergieeffekt hin. Anhand von (hier nicht gezeigten) Untersuchungen der Deformationsdichte ist dies darauf zurückzuführen, daß jede Wasserstoffbrücke eine separate lokale Ladungstrennung hervorruft, die durch eine andere Wasserstoffbrücke nicht beeinflußt wird.

Eine Zerlegung der VDD-Ladungen in die Beiträge des σ - und π -Elektronensystems ($\Delta Q_A = \Delta Q_A^\sigma + \Delta Q_A^\pi$) ergibt, daß nahezu der gesamte Ladungstransfer auf σ -Elektronentransfer beruht. Die ΔQ_A^π -Werte zeigen, daß das π -Elektronensystem jeder einzelnen DNA-Base so polarisiert wird, daß dem Aufbau positiver oder negativer Ladungen an den Donor- und Acceptoratomen, hervorgerufen durch Ladungstransfer im σ -Elektronensystem, entgegengewirkt wird und diese Ladungen teilweise abgeschwächt werden. Wir konnten jedoch keinen Synergieeffekt zwischen ΔE_σ und ΔE_π feststellen, d.h., ΔE_σ wird durch die Polarisierung der π -Elektronen nicht erhöht.

Die äußerst flachen Potentialenergieflächen, die wir für die Wasserstoffbrücken in den Basenpaaren finden, lassen es plausibel erscheinen, daß die Strukturen von AT und GC im

Kristall und unter physiologischen Bedingungen deutlich von Wechselwirkungen mit der molekularen Umgebung, wie Hydratation, Koordination von Alkalimetallionen (Na^+) und Wasserstoffbrücken zu Hydroxygruppen des Zuckerrests, beeinflußt werden. Um dies nachzuweisen, haben wir versucht, die wichtigsten Umgebungseffekte, die in den röntgenographisch untersuchten Kristallen der Natriumsalze von Adenylyl-3',5'-uridin-hexahydrat (ApU-Hexahydrat) **1f**^[2b] und Guanylyl-3',5'-cytidin-nonahydrat (GpC-Nonahydrat) **2f**^[2c] vorkommen, zu simulieren. Tatsächlich machen die Strukturen der Verbindungen **1a–e** und **2a–e** in den Abbildungen 1 bzw. 2 deutlich, wie sich die mit DFT-Rechnungen bestimmten Geometrien von AT und GC durch den Einbau von Wassermolekülen, die teilweise den Hydratationseffekt und die Wasserstoffbrücken zu den Ribose-Hydroxygruppen simulieren, und durch die Einführung eines Natriumions den experimentell ermittelten angleichen (Abstände [\AA]: **1e**: N6-O4 = 2.93, N1-N3 = 2.79; **2e**: O6-N4 = 2.88, N1-N3 = 2.95, N2-O2 = 2.85). Unsere Ergebnisse zeigen, daß moderne DFT-Verfahren bereits heute in der Lage sind, die Wasserstoffbrücken in DNA-Basenpaaren nicht nur sehr effizient, sondern – sofern hierfür geeignete Modelle verwendet werden – auch genau zu beschreiben und zu verstehen.

Eingegangen am 26. März,
veränderte Fassung am 2. Juni 1999 [Z 13216]
International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2942–2945

Stichwörter: Dichtefunktionalrechnungen • DNA-Strukturen • Ladungstransfer • Resonanzunterstützung • Wasserstoffbrücken

- [1] a) G. Gilli, F. Bellucci, V. Ferretti, V. Bertolasi, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 1023; b) H. Umeyama, K. Morokuma, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 1316. Siehe auch: c) G. A. Jeffrey, W. Saenger, *Hydrogen Bonding in Biological Structures*, Springer, Berlin, **1991**, S. 37; d) G. A. Jeffrey, *An Introduction to Hydrogen Bonding*, Oxford University Press, New York, **1997**, S. 103.
[2] a) W. Saenger, *Principles of Nucleic Acid Structure*, Springer, New York, **1984**; b) N. C. Seeman, J. M. Rosenberg, F. L. Suddath, J. J. P. Kim, A. Rich, *J. Mol. Biol.* **1976**, *104*, 109; c) J. M. Rosenberg, N. C. Seeman, R. O. Day, A. Rich, *J. Mol. Biol.* **1976**, *104*, 145.
[3] a) J. Sponer, J. Leszczynski, P. Hobza, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 1965; b) K. Brameld, S. Dasgupta, W. A. Goddard III, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 4851; c) J. Bertran, A. Oliva, L. Rodríguez-Santiago, M. Sodupe, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8159.
[4] a) C. Fonseca Guerra, O. Visser, J. G. Snijders, G. te Velde, E. J. Baerends in *Methods and Techniques for Computational Chemistry* (Hrsg.: E. Clementi, G. Corongiu), STEF, Cagliari, **1995**, S. 305; b) A. Becke, *Phys. Rev. A* **1988**, *38*, 3098; c) J. P. Perdew, *Phys. Rev. B* **1986**, *33*, 8822 (Erratum: *Phys. Rev. B* **1986**, *34*, 7406).
[5] a) F. M. Bickelhaupt, N. M. M. Nibbering, E. M. van Wezenbeek, E. J. Baerends, *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 4864; b) T. Ziegler, A. Rauk, *Theor. Chim. Acta* **1977**, *46*, 1.
[6] Massenspektrometrische Daten (unter Berücksichtigung der in Lit. [3b] vorgeschlagenen Korrekturen) aus: I. K. Yanson, A. B. Teplitsky, L. F. Sukhodub, *Biopolymers* **1979**, *18*, 1149.
[7] F. M. Bickelhaupt, N. J. R. van Eikema Hommes, C. Fonseca Guerra, E. J. Baerends, *Organometallics* **1996**, *15*, 2923.