

# Proučavanje strukture i vibracionih svojstava ciklobutan pirimidin dimera

Milena M. Petković, Mihajlo R. Etinski, Miroslav M. Ristić

Univerzitet u Beogradu, Fakultet za fizičku hemiju, Beograd, Srbija

## Izvod

U radu je predstavljena teorijska analiza strukture i vibracionih osobina ciklobutan pirimidin dimera (CPD) koji je glavni fotohemijski proizvod dva molekula 1-metiltimina. Proračuni su izvedeni koristeći B3LYP/cc-pVTZ metod. Molekulske geometrije su optimizovane bez simetrijskih ograničenja u vakuumu i u D<sub>2</sub>O. Utvrđeno je da postoje dva stabilna izomera CPD(cis-syn) i CPD(trans-syn). CPD(trans-syn) jeste stabilniji i u vakuumu i u D<sub>2</sub>O. Rastvaranjem u D<sub>2</sub>O obe strukture postaju stabilnije, s tim što je stabilizacija izraženija za manje stabilniji izomer zbog njegovog velikog dipolnog momenta. U harmonijskoj aproksimaciji, vibracioni spektri izomera se malo razlikuju u regionu istežućih C=O i C–H vibracija. U regionu istežućih N–H vibracija razlika u spektrima je izraženija: u CPD(cis-syn) izomeru dva N–H moda vibriraju odvojeno dok u CPD(trans-syn) izomeru modovi se sprežu rezultirajući u simetričnom i asimetričnom N–H istezanju.

**Ključne reči:** teorija funkcionala gustine, fotohemija.

Dostupno na Internetu sa adrese časopisa: <http://www.ache.org.rs/HI/>

NAUČNI RAD

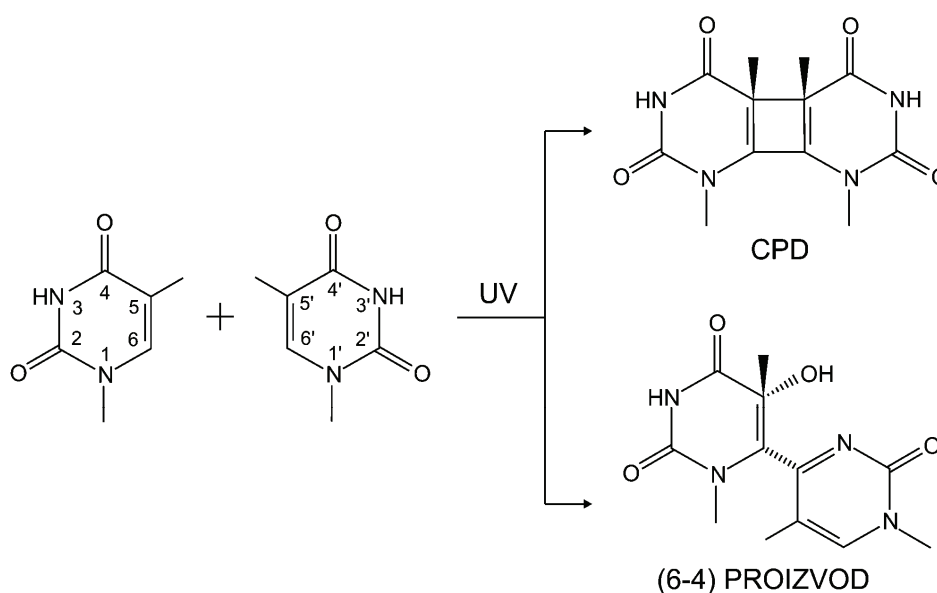
UDK 544.52:547:544.021

Hem. Ind. 67 (2) 203–207 (2013)

doi: 10.2298/HEMIND120528080P

Glavne hromofore za apsorpciju ultraljubičastog A i B zračenja, koje propušta ozonski omotač, u nukleinskim kiselinama su baze nukleinskih kiselina [1]. Najčešća fotohemijska reakcija koja je prouzrokovana apsorpcijom ultra ljubičastog zračenja je dimerizacija susednih pirimidinskih baza u nukleinskim kiselinama [2]. Pirimi-

dizacija dovodi do stvaranja fotolezija, molekula koji sadrže kovaletnu vezu između baza. Najčešći proizvod dimerizacije je ciklobutan dimer pirimidin (CPD). Takođe pored CPD-a, reakcioni proizvod u manjem prinosu je pirimidin (6-4) pirimidon adukt ((6-4)PP), slika 1. CPD nastaje [2+2] cikloadicijom susednih pirimidin-



Slika 1. Strukturne formule i oznake atoma u 1-metiltimin fotoproizvodima: ciklobutan pirimidin dimera (CPD(cis-syn)) i pirimidin (6-4) pirimidon adukta.

Figure 1. Chemical structures and atom labels of the 1-methylthymine photoproducts: cyclobutane pyrimidine dimer (CPD(cis-syn)) and pyrimidine (6-4) pyrimidone adduct.

Preписка: M.M. Ristić, Fakultet za fizičku hemiju, Univerzitet u Beogradu, Studentski trg 12–16, p. pr. 47, 11158 Beograd, Srbija.

E-pošta: ristic@ffh.bg.ac.rs

Rad primljen: 28. maj, 2012

Rad prihvaćen: 26. jun, 2012

skih baza, dok (6-4)PP nastaje Paterno-Buhi cikloadicijom praćenom termalnim otvaranjem prstena okseanskog intermedijera.

Od velikog je značaja proučavati mehanizam sinteze i strukturu fotolezija, jer su one uzroci pojave mutacija.

Efekat tih fotolezija je da inhibiraju replikaciju i transkripciju nukleinskih kiselina. Da bi se fotolezija na nukleinskim kiselinama prepoznala i popravila, organizmi koriste nekoliko različitih enzimskih mehanizama. Uspešnost popravke zavisi od vrste i prirode fotolezije.

Mehanizam fotoreakcije dimerizacije može teći u pobuđenom singletnom ili tripletnom elektronskom stanju. Nedavno su izneti dokazi da je reakcija formiranja CPD-a ultrabrzna reakcija koja se odvija na pobuđenoj singletnoj potencijalnoj površi [3]. Ipak, ti rezultati ne isključuju postojanje tripletnog mehanizma [4–7], posebno ako se ima u vidu da se izolovane pirimidinske baze mogu relaksirati u osnovno elektronsko stanje preko najnižeg tripletnog stanja [8–16].

U našem prethodnom radu proučavali smo strukturu i vibracioni spektar (6-4)PP proizvoda [17]. Nađeno je da postoje tri konformera, čija relativna stabilnost zavisi od rastvarača. U ovom radu nastavljamo proučavanje struktura fotolezija pirimidinskih baza. Koristeći kvantno-hemijske metode, proučavan je CPD stvoren fotohemijskom reakcijom dva molekula 1-metiltimina. Timin je izabran jer je pirimidinska baza koja ima najveći prinos dimerizacije. Metilacija u poziciji jedan zamenjuje šećer koji bi bio vezan u nukleinskim kiselinama. Postoje nekoliko izomera CPD-a od kojih se najčešće javljaju *cis-syn* i *trans-syn*. Stoga su optimizovane molekulske geometrije oba izomera u osnovnom elektronskom stanju u vakuumu i teškoj vodi ( $D_2O$  je rastvarač u kome je moguće snimiti infracrveni spektar CPD bez poklapanja vibracionih traka molekula rastvoraka i rastvarača). Takođe, vibracioni spektar oba izomera u vakuumu i teškoj vodi je izračunat i asigniran.

## TEORIJSKE METODE

Svi proračuni su izvršeni sa programskim paketom Gaussian [18]. Za rešavanje elektronske Šredingerove jednačine korišćena je teorija funkcionala elektronske gustine sa B3-LYP funkcionalom [19]. Sve optimizacije molekulskih geometrija izvršene su bez simetrijskih ograničenja. Izabrani su strožiji uslovi konvergencije za optimizaciju. To je bilo potrebno jer rotacija metil grupa otežava optimizaciju. U radu je korišćen Daningov cc-pVTZ (C, N, O, 10s5p2d1f/4s3p2d1f; H, 5s2p1d/3s2p1d) bazni skup [20].

Da bi se modelovao elektrostatički uticaj rastvarača ( $D_2O$ ), korišćen je Onzagerov model koji je implementiran u programski paket Gaussian. U tom modelu, rastvorak je smešten u sfernu šupljinu, čija je okolina određena dielektričnom konstantom. Dielektrična konstanta za  $D_2O$  je  $\epsilon = 78,06$ .

Sve vibracione frekvencije izračunate su u harmonijskoj aproksimaciji.

## REZULTATI I DISKUSIJA

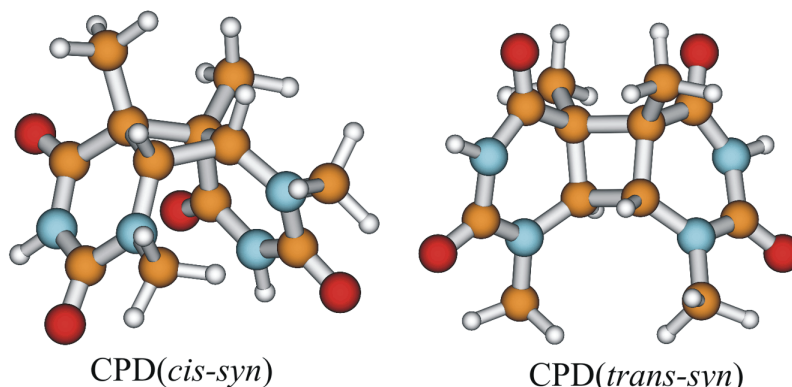
Optimizovane su molekulske geometrije osnovnog elektronskog stanja izomera CPD(*cis-syn*) i CPD(*trans-syn*). Dužine njihovih veza date su u tabeli 1 a njihove geometrije na slici 2. Dužine veza dva izomera razlikuju se najviše do na 0,01 Å. Jedino se  $C_6-C_6'$  veza razlikuje za 0,02 Å. Poredeći dužine veza 1-metiltimin monomera koje su dobili Etinski i saradnici [13] koristeći B3-LYP/DFT/TZVP metod nalazimo da se najviše razlikuje  $C_5-C_6$  veza i to za 0,08 Å.  $C_5-C_6$  veza menja svoj karakter iz dvostruke u monomeru u jednostruku u dimeru. Ostale veze se razlikuju u proseku za 0,03 Å. Iz toga zaključujemo da pirimidinski prstenovi u najvećem delu zadržavaju svoju elektronsku strukturu. Posledica sterne interakcije dva pirimidinska prstena u dimeru je blago krivljenje prstenova. U oba CPD izomera pirimidinski prstenovi nisu planarni. Diedralni uglovi  $C_4C_5C_6N_1$  i  $C_4C_5C_6N_1'$  u CPD(*cis-syn*) izomeru imaju vrednosti 19 i 31°, a u CPD(*trans-syn*) izomeru 29 i 29°. Pirimidinski prstenovi u dimeru ne leže u ravni nego su nagnuti pod određenim uglom. Diedralni uglovi  $C_5C_6C_6'C_5'$ ,  $C_5C_6C_6N_1'$  i  $N_1C_6C_6N_1'$  između pirimidinskih prstena iznose 19°, 142 i 25° u CPD(*cis-syn*) a 17, 139 i 98° u CPD(*trans-syn*) izomeru.

Tabela 1. Dužine izabranih veza u CPD(*cis-syn*) i CPD(*trans-syn*) u Å

Table 1. Selected CPD(*cis-syn*) i CPD(*trans-syn*) bond lengths in Å

Veza	CPD( <i>cis-syn</i> )	CPD( <i>trans-syn</i> )
$N_1-C_2$	1,37	1,36
$C_2-N_3$	1,40	1,41
$N_3-C_4$	1,37	1,38
$C_4-C_5$	1,52	1,52
$C_5-C_6$	1,56	1,55
$C_6-N_1$	1,45	1,44
$C_2-O_2$	1,22	1,21
$C_4-O_4$	1,21	1,21
$C_5-C_5'$	1,59	1,60
$C_6-C_6'$	1,58	1,56
$N_1-C_2'$	1,37	1,36
$C_2-N_3'$	1,40	1,41
$N_3-C_4'$	1,38	1,38
$C_4-C_5'$	1,53	1,52
$C_5-C_6'$	1,54	1,55
$C_6-N_1'$	1,44	1,44
$C_2-O_2'$	1,21	1,21
$C_4-O_4'$	1,21	1,21

Elektronske energije, zbir elektronske energije i energije osnovnog vibracionog nivoa i dipolni momenti CPD izomera u vakuumu i  $D_2O$  su dati u tabeli 2. CPD(*trans-syn*) izomer je stabilniji od CPD(*cis-syn*) izomera za  $1605 \text{ cm}^{-1}$ . To je  $19,2 \text{ kJ mol}^{-1}$  što je dovoljna



Slika 2. Optimizovana molekulska geometrija CPD(*cis-syn*) i CPD(*trans-cyn*) izomera.  
Figure 2. The optimized molecular geometry of CPD(*cis-syn*) and CPD(*trans-cyn*) isomers.

energija da spreči spontanu *cis*–*trans* izomerizaciju. Energije osnovnog vibracionog nivoa za CPD(*cis-syn*) i CPD(*trans-syn*) isomer su 63417 i 63355  $\text{cm}^{-1}$ .

Tabela 2. Elektronske energije, zbir elektronske energije i energije osnovnog vibracionog nivoa i dipolni momenti CPD izomera u vakuumu i  $\text{D}_2\text{O}$

Tabela 2. Electronic energy, sum of electronic and zero-point vibrational energy and dipole moments of CPD isomers in vacuum and in  $\text{D}_2\text{O}$

Parametar	CPD( <i>cis-syn</i> )	CPD( <i>trans-syn</i> )
$E_{\text{el}} / \text{cm}^{-1}$	1790	185
$E_{\text{el+zpv}} / \text{cm}^{-1}$	65207	63540
$\mu / \text{D}$	6,78	2,50
$E_{\text{el,D}_2\text{O}} / \text{cm}^{-1}$	803	0
$E_{\text{el+zpv,D}_2\text{O}} / \text{cm}^{-1}$	64228	63341
$\mu_{\text{D}_2\text{O}} / \text{D}$	8.43	3,55

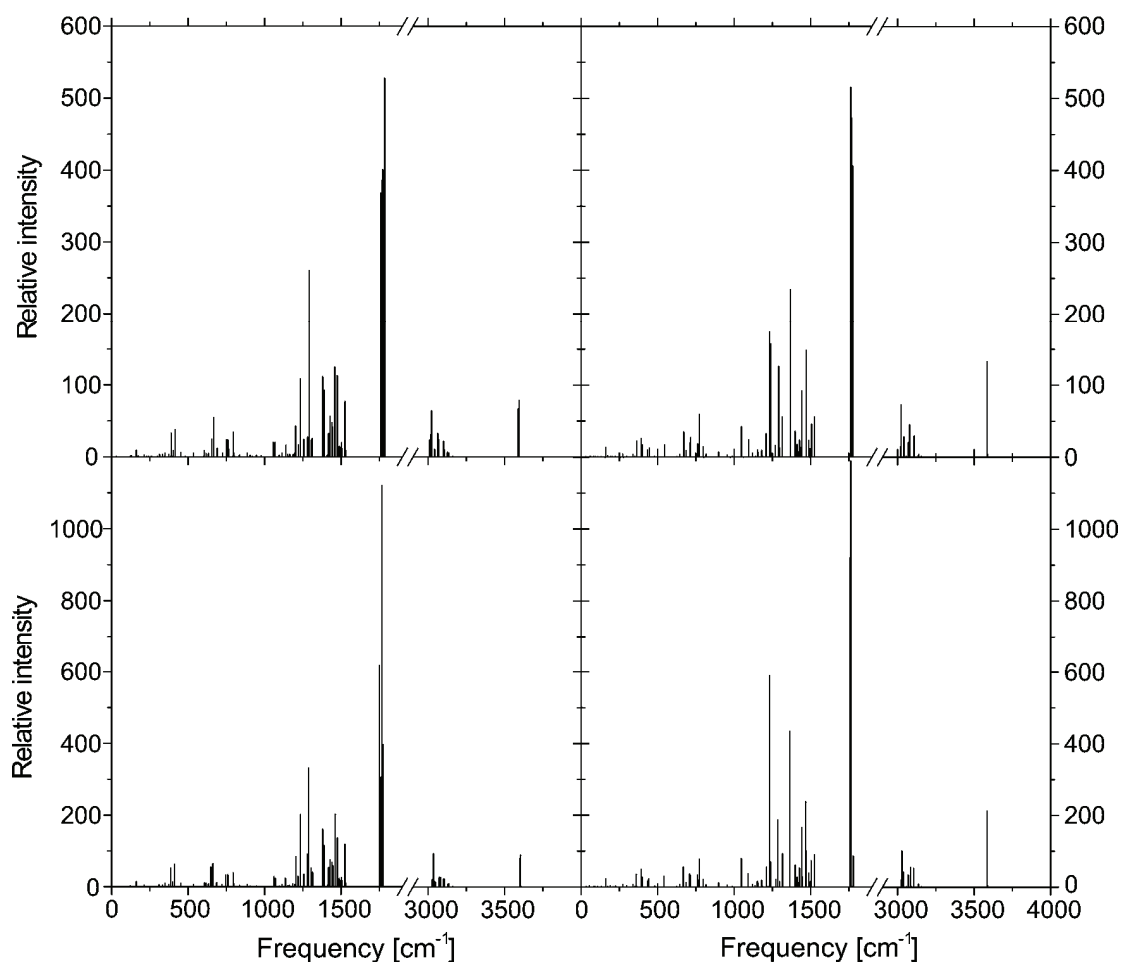
Interesantno je utvrditi da li će se redosled stabilnosti izomera promeniti u prisustvu rastvarača  $\text{D}_2\text{O}$ . Dipolni moment CPD(*cis-syn*) izomera u vakuumu je znatno veći od CPD(*trans-syn*) izomera stoga možemo pretpostaviti da će CPD(*cis-syn*) isomer biti podložniji uticaju rastvarača. Promena elektronske energije usled interakcije sa  $\text{D}_2\text{O}$  rastvaračem je 987 i 185  $\text{cm}^{-1}$  za CPD(*cis-syn*) i CPD(*trans-syn*) izomer. Tolika promena elektronske energije nije dovoljna da promeni redosled stabilnosti izomera. U  $\text{D}_2\text{O}$ , CPD(*trans-syn*) izomer je stabilniji za 803  $\text{cm}^{-1}$ .

Izračunati vibracioni spektri CPD izomera u vakuumu i  $\text{D}_2\text{O}$  predstavljeni su na slici 3.

Kada su u pitanju C=O istežuće vibracije, vrednosti frekvencija su veoma bliske. Za CPD(*cis-syn*) i CPD(*trans-syn*) izomer one se kreću u granicama 1761 do 1786  $\text{cm}^{-1}$ , odnosno 1765 do 1777  $\text{cm}^{-1}$ . Rastvaranjem u  $\text{D}_2\text{O}$  dolazi do blagog pomeranja na oblasti 1750–1778, odnosno 1756–1779  $\text{cm}^{-1}$ . Ovo su ujedno linije najvećeg intenziteta, jer pri istezanju C=O veze dolazi do značajne promene dipolnog momenta.

Molekul CPD sadži 12 CH veza, pa se u vibracionom spektru javlja 12 linija koji odgovaraju C–H istežućim vibracijama. Kod (*cis-syn*) i (*trans-syn*) izomera u vakuumu, izračunato je da se one nalaze u oblastima 3008–3162  $\text{cm}^{-1}$  i 3019–3155  $\text{cm}^{-1}$ , redom. U kondenzovanom stanju (kao rastvarač se koristi  $\text{D}_2\text{O}$ ), izračunato je da se odgovarajuće oblasti C–H istežućih vibracija nalaze u oblastima 3026–3162  $\text{cm}^{-1}$  i 3025–3158  $\text{cm}^{-1}$ . Spektar koji smo izračunali odnosi se na harmonijsku aproksimaciju, ali kada bi anharmoničnost bila uzeta u obzir, zbog interakcija između vibracionih stepeni slobode došlo bi do pomeranja linija ka crvenom ili plavom delu spektra. Dodatno, ukoliko je jaka sprega sa niskofrekventnim modovima, kao što je rotacija metil grupe, očekuje se pojavljivanje kombinovanih prelaza koji uključuju istovremeno C–H istezanje i rotacije  $\text{CH}_3$  grupa, što dovodi do progresije koja podseća na Frank-Kondonove prelaze u vibronskim spektrima. Time se veliki broj bliskih linija spaja u široku traku.

Obe optimizovane strukture pripadaju grupi tačke  $C_1$ . Kod manje stabilnog izomera, CPD(*cis-syn*), okruženja imino grupa nisu identična, tako da se neznatno razlikuju i odgovarajuće frekvencije N–H istežućih vibracija, 3595 i 3590  $\text{cm}^{-1}$ . Javlja se i mala razlika u intenzitetima linija, pri čemu je intenzitet linije koja odgovara vibraciji veće frekvencije nešto veća. Kod stabilnijeg izomera, CPD(*trans-syn*), okruženja imino grupa su identična, tako da dolazi do slaganja ovih dveju vibracija i obrazovanja simetričnog i asimetričnog N–H istezanja. Zanimljivo je da dolazi do preklapanja ovih dveju linija, tj. njihove frekvencije u harmonijskoj aproksimaciji su identične i iznose 3584  $\text{cm}^{-1}$ . Razlika se javlja u intenzitetu, intenzitet linije koja odgovara simetričnom/asimetričnom istezanju iznosi 5/133 jedinica. Kada se molekul CPD(*cis-syn*) stavi u rastvarač ( $\text{D}_2\text{O}$ ) dolazi do blagog pomeranja linija koje odgovaraju N–H istezanju ka plavom delu spektra, 3604 i 3597  $\text{cm}^{-1}$ . Rastvaranjem CPD(*trans-syn*) u  $\text{D}_2\text{O}$  dolazi do neznatnog razdvajanja položaja ovih dveju vibracija (3584 i 3585  $\text{cm}^{-1}$  za asimetrično i simetrično istezanje, redom).



Slika 3. Vibracioni spektar CPD(*cis-syn*) (levo) i CPD(*trans-syn*) (desno) u vakuumu (gore) i D<sub>2</sub>O (dole). Postoji prekid na osi frekvencija od 1900 to 2900 cm<sup>-1</sup>.

Figure 3. Vibrational spectrum of CPD(*cis-syn*) (left) i CPD(*trans-syn*) (right) in vacuum (up) and D<sub>2</sub>O (down). There is a break in the frequency axis from 1900 to 2900 cm<sup>-1</sup>.

## ZAKLJUČAK

U ovom radu analizirani su struktura i vibraciona svojstva ciklobutan pirimidin dimera, koji je dominantan proizvod fotohemijske reakcije u kojoj učestvuju dva molekula metil timina. Pokazano je da postoje dva stabilna izomera, CPD(*cis-syn*) i CPD(*trans-syn*), od kojih je CPD(*trans-syn*) u vakuumu stabilnija. Rastvaranjem ovih molekula u rastvaraču D<sub>2</sub>O dolazi do stabilizacije obe strukture, pri čemu je stabilizacija izraženija kod manje stabilnog oblika, tako da je razlika u stabilnosti u kondenzovanom stanju gotovo prepolovljena. Zbog sličnosti u strukturi dva izomera, mala je razlika u izgledu njihovih vibracionih spektara. U harmonijskoj aproksimaciji se javlja veoma mala razlika u oblasti C=O i C–H istežućih vibracija. Izraženija je razlika u oblasti N–H istežućih vibracija: u molekulu CPD(*cis-syn*) odvojene su vibracije dveju veza, dok u CPD(*trans-syn*) izomeru dolazi do interakcija između ovih vibracija i pojave simetričnog i asimetričnog N–H istežanja.

## Zahvalnica

Autori se zahvaljuju Ministarstvu prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije za finansijsku podršku (Ugovor broj 172040)

## LITERATURA

- [1] C.E. Crespo-Hernandez, B. Cohen, P.M. Hare, B. Kohler, Ultrafast excited-state dynamics in nucleic acids, *Chem. Rev.* **104** (2004) 1977–2020.
- [2] C.T. Middleton, K. de La Harpe, C. Su, Y. K. Law, C. E. Crespo-Hernández, B. Kohler, DNA excited-state dynamics: from single bases to the double helix, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **60** (2009) 217–239.
- [3] W.J. Schreier, T.E. Schrader, F.O. Koller, P. Gilch, C.E. Crespo-Hernández, V.N. Swaminathan, T. Carell, W. Zinth, B. Kohler, Thymine dimerization in DNA is an ultrafast photoreaction, *Science* **315** (2007) 625–629.
- [4] W.-M. Kwok, C. Ma, D. L. Phillips, A Doorway State leads to photostability or triplet photodamage in thymine DNA, *J. Am. Chem. Soc.* **130** (2008) 5131–5139.

- [5] Y.-J. Ai, R.-Z. Liao, S.-F. Chen, Y. Luo, W.-H. Fang, Theoretical studies on photoisomerizations of (6–4) and dewar photolesions in DNA, *J. Phys. Chem., B* **114** (2010) 14096–14102.
- [6] R.B. Zhang, L.A. Eriksson, A Triplet Mechanism for the formation of cyclobutane pyrimidine dimers in UV-irradiated DNA, *J. Phys. Chem., B* **110** (2006) 7556–7562.
- [7] Z.B. Yang, R.B. Zhang, L.A. Eriksson, A triplet mechanism for the formation of thymine–thymine (6-4) dimers in UV-irradiated DNA, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **13** (2011) 8961–8966.
- [8] Y. He, C. Wu, W. Kong, Decay pathways of thymine and methyl-substituted uracil and thymine in the gas phase, *J. Phys. Chem., A* **107** (2003) 5145–5148.
- [9] Y. He, C. Wu, W. Kong, Photophysics of methyl-substituted uracils and thymines and their water complexes in the gas phase, *J. Phys. Chem., A* **108** (2004) 943–949.
- [10] M. Busker, M. Nispel, T. Häber, K. Kleinermanns, M. Etinski, T. Fleig, Electronic and vibrational spectroscopy of 1-methylthymine and its water clusters: The dark state survives hydration, *Chem. Phys. Chem.* **9** (2008) 1570–1577.
- [11] J. González-Vázquez, L. González, E. Samoylova, T. Schultz, Thymine relaxation after UV irradiation: the role of tautomerization and pi sigma\* states, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **11** (2009) 3927–3934.
- [12] M. Kunitski, Y. Nosenko, B. Brutschy, On the nature of the long-lived “dark” state of isolated 1-methylthymine, *Chem. Phys. Chem.* **12** (2011) 2024–2030.
- [13] M. Etinski, T. Fleig, C. M. Marian, Intersystem crossing and characterization of dark states in the pyrimidine nucleobases uracil, thymine, and 1-methylthymine, *J. Phys. Chem., A* **113** (2009) 11809–11816.
- [14] M. Etinski, J. Tatchen, C. M. Marian, Time-dependent approaches for the calculation of intersystem crossing rates, *J. Chem. Phys.* **134** (2011) 154105–154105-9.
- [15] M. Etinski, The role of Duschinsky rotation in intersystem crossing: a case study of uracil, *J. Serb. Chem. Soc.* **76** (2011) 1649–1660.
- [16] M. Etinski, Investigation of the spin-forbidden process in thymine, *Hem. Ind.* **66** (2012) 165–170.
- [17] M. M. Ristić, M. Petković, M. Etinski, Quantum-chemical investigation of the 1-methylthymine dimer photoproduct: pyrimidine-(6-4)-pyrimidone adduct, **77** (2012) 1037–1045.
- [18] Gaussian 09, Revision A.02, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.
- [19] A.D. Becke, Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange, *J. Chem. Phys.* **98** (1993) 5648–5653.
- [20] T.H. Dunning, Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. I. The atoms boron through neon and hydrogen, *J. Chem. Phys.* **90** (1989) 1007–1024.

## SUMMARY

### INVESTIGATION OF STRUCTURE AND VIBRATIONAL PROPERTIES OF CYCLOBUTANE PIRIMIDINE DIMER

Milena M. Petković, Mihajlo R. Etinski, Miroslav M. Ristić

*University of Belgrade, Faculty of Physical Chemistry, Belgrade, Serbia*

(Scientific paper)

We performed a theoretical analysis of the structure and vibrational properties of cyclobutane pyrimidine dimer, which is the main product in a photochemical reaction involving two molecules of 1-methylthymine. Thymine is a pyrimidine base that has the highest yield of the dimerization photoproducts. Methylation in position one was chosen, because in this position, thymine is linked to sugar in DNA. The calculations were performed at the B3LYP/cc-pVTZ level with the Gaussian program package. All molecular geometries were optimized without symmetry constraints in vacuum and D<sub>2</sub>O. Vibrational frequencies were calculated in the harmonic approximation. It was shown that there are two stable isomers, CPD(*cis-syn*) and CPD(*trans-syn*). CPD(*trans-syn*) is more stable both in vacuum and in D<sub>2</sub>O. By dissolving these molecules in D<sub>2</sub>O, both structures become more stable, although the stabilization of the less stable isomer is more pronounced due to its larger dipole moment. Thus, the difference in stability of the two isomers in D<sub>2</sub>O is almost two times lower than in vacuum. Because of the similarity of the two isomers' structures, the difference in their vibrational spectra is not pronounced. Within the harmonic approximation, there is only a slight difference in the C=O and C–H stretching region. The difference in the N–H stretching region is more pronounced: in the CPD(*cis-syn*) molecule the two bonds vibrate separately, whereas in the CPD(*trans-syn*) the two modes couple, and this coupling results in symmetric and asymmetric N–H stretching. The observation shows that a slight difference in geometry can be reflected in the shape of the infrared spectra. A more detailed analysis of the vibrational properties would involve computation of anharmonic coupling terms, which would enable a more precise determination of the peak positions.

**Keywords:** Density functional theory • Photochemistry