

УДК 577.3

**КОНФОРМАЦИОННАЯ ИЗОМЕРИЯ ПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОЗИДОВ ИЗОЛИРОВАННЫХ В НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫХ ИНЕРТНЫХ МАТРИЦАХ****А.Ю. Иванов, С.А. Краснокутский, Г.Г. Шеина, Ю.П. Благой***Физико-технический институт низких температур им. Б.И. Веркина НАН Украины, 61103, Харьков, пр. Ленина, 47.*

Статья поступила 29 марта 2002 г.

Конформационные структуры молекул 2-дезоксигуанидина (dU) и тимидина (T) были исследованы методом ИК-Фурье спектроскопии матричной изоляции. В диапазоне  $4000-200\text{ см}^{-1}$  получены спектры нуклеозидов, изолированных в низкотемпературных матрицах Ag. Методом HF/3-21G(p) проведены расчеты колебательных спектров, а методами HF/3-21G(p), HF/6-31G(d,p) и MP2/6-31G(d,p) проведены расчеты относительной стабильности конформационных изомеров. Определена реальная заселенность конформационных изомеров dU и T, зафиксированных в матричных образцах. Показано, что суммарная заселенность основных *анти*-конформеров: a1, a0 превышает 70%. Рибозные кольца этих *анти*-конформеров находятся в конформации C2'-эндо, а рибозные кольца слабозаселенных *анти*-конформеров: a2, a3 имеют конформацию C3'-эндо, стабилизированную внутримолекулярными водородными связями O3'-H—O5' и O5'-H—O3' соответственно. *Син*-конформеры 2-дезоксигуанидина и тимидина s2 стабилизированы внутримолекулярной водородной связью O5'-H—O2, а доминирующей конформацией рибозного кольца является C2'-эндо.

**Ключевые слова:** нуклеозиды, ИК-Фурье спектроскопия, матричная изоляция, MP2.

Существует устойчивый интерес к изучению конформационной природы структурных единиц ДНК - нуклеозидов разнообразными экспериментальными и расчетными методами [1-7]. До настоящего времени основными методами исследования структуры нуклеозидов были кристаллография и ЯМР спектроскопия. Однако на результаты исследований этими методами существенное влияние оказывают межмолекулярные взаимодействия. Так в кристаллах стабилизируется одна из возможных конформаций и на ее выбор влияет природа растворителя, из которого производилась кристаллизация [1]. ЯМР спектроскопия не позволяет получать прямые данные о внутримолекулярных водородных связях нуклеозидов в воде и органических растворителях [4] из-за конкурентного связывания с растворителем. Расчетные *ab initio* методы изучения конформационной изомерии требуют больших вычислительных затрат даже для относительно небольших базисов (типа 6-31G). Поэтому конформационная изомерия изолированных молекул нуклеозидов и присущая им структура внутримолекулярных водородных связей до сих пор остаются малоисследованными вопросами. Ранее полученные рентгеноструктурные данные [1] и полуэмпирические расчеты [3] указывали на возможность образования внутримолекулярных водородных связей O5'-H—O2 в *син*-конформациях пиримидиновых нуклеозидов, однако экспериментальные данные для изолированных молекул полностью отсутствовали. Отсутствие экспериментальной информации существенно ограничило изучаемый ряд нуклеозидных конформаций в недавних расчетных работах [5-7]. Высокая разрешающая способность, чувствительность и отсутствие сильных межмолекулярных взаимодействий в инертных низкотемпературных матрицах делает ИК-Фурье спектроскопию матричной изоляции эффективным методом для изучения внутримолекулярных водородных связей в изолированных молекулах [8]. В 1998 году нами впервые получены ИК-Фурье спектры уридина и тимидина в низкотемпературных матрицах Ag и экспериментально показано, что *син* конформации этих изолированных молекул стабилизированы внутримолекулярной водородной связью O5'-H—O2 [9,10]. В настоящей работе на усовершенствованной экспериментальной установке были впервые получены ИК-Фурье спектры 2-дезоксигуанидина в Ag матрицах, а также спектры матричных образцов тимидина, содержащие существенно больше поглощающих молекул, чем ранее [9,10]. Сравнение спектров тимидина и 2-дезоксигуанидина позволило предположить, что в матрице присутствует существенно больший ряд конформаций, чем было изучено ранее [9,10]. Рассматриваемый в данной работе ряд *анти*- , *син*- конформационных изомеров 2-дезоксигуанидина, тимидина и нумерация атомов представлены на Рис 1. Для оценки стабильности конформеров и их спектральных характеристик были использованы различные *ab initio* расчетные методы, в том числе и метод MP2, ранее для расчета энергий конформаций нуклеозидов dU и T не применявшийся.

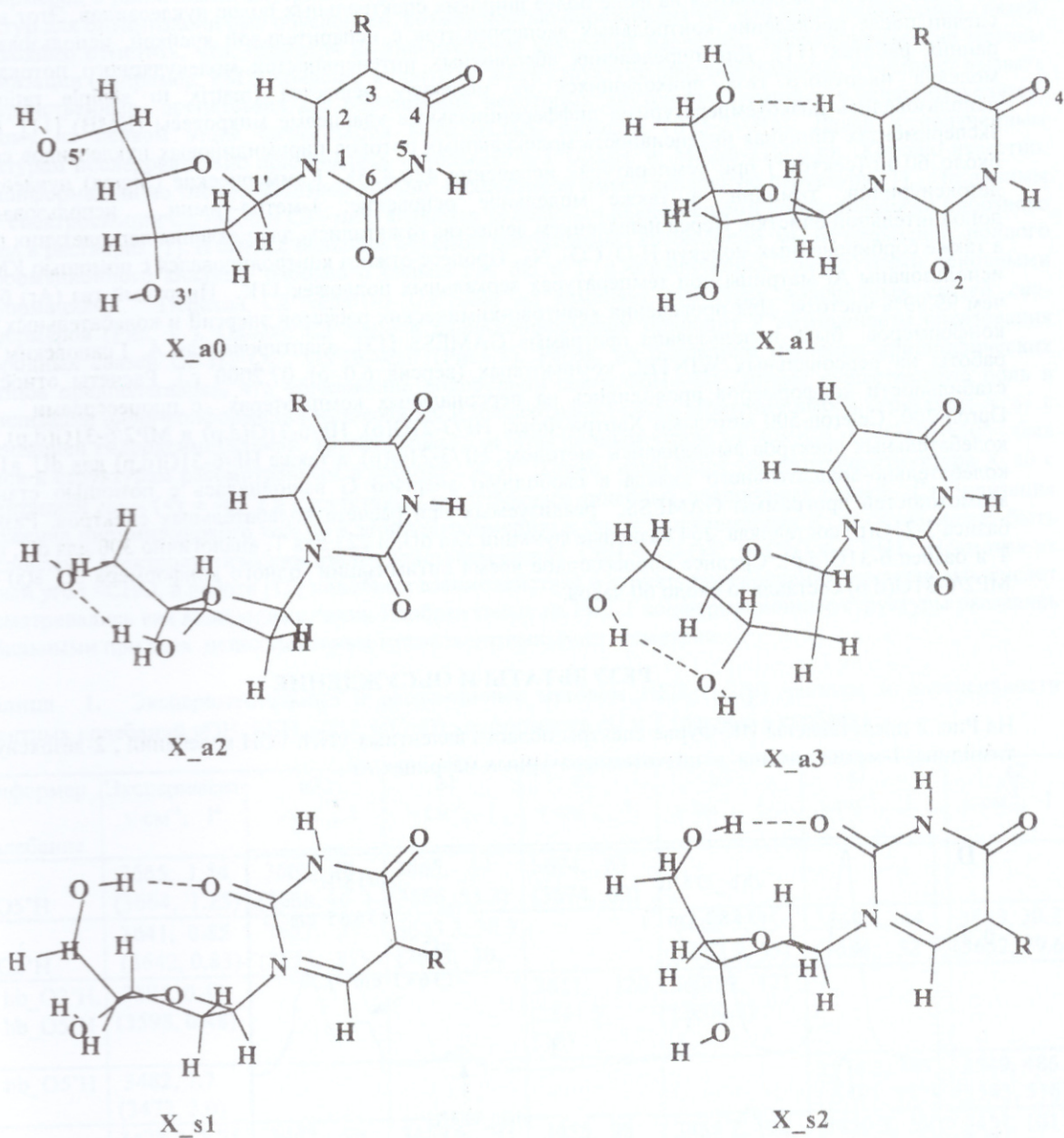


Рис. 1 Нумерация атомов и структуры анти-(X<sub>a</sub>) и син-(X<sub>s</sub>) конформационных изомеров, стабильных на различных уровнях ab initio расчетов: HF/3-21G(p), HF/6-31G(d,p), MP2/6-31G(d,p). Сокращения: X=dU, R=H для 2-дезоксиуридина, X=T, R=CH<sub>3</sub> для тимидина. Пунктиром показаны внутримолекулярные водородные связи.

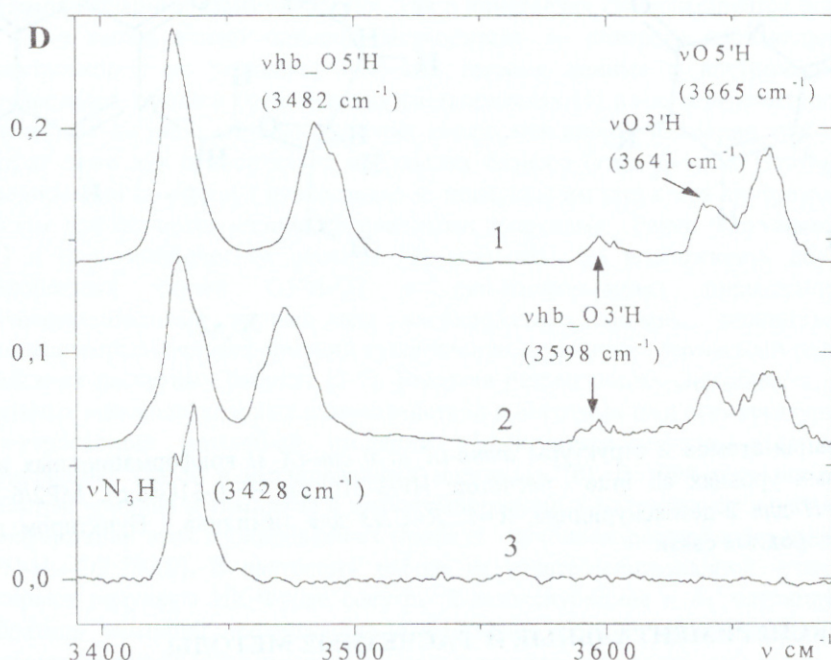
### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И РАСЧЕТНЫЕ МЕТОДЫ

Основные детали низкотемпературного эксперимента были описаны в ряде предыдущих работ [10-12]. В данной работе спектральные измерения выполнялись с аподизированным разрешением  $0.4 \text{ см}^{-1}$  в диапазонах  $450-2500 \text{ см}^{-1}$  и  $1400-4000 \text{ см}^{-1}$ . Для испарения термически нестабильных нуклеозидов была использована специальная ячейка Кнудсена с уменьшенными потерями молекулярного пучка [10]. По сравнению с испарителями, применявшимися в более ранних экспериментах [11,12], усовершенствованная ячейка позволила получать достаточно интенсивный молекулярный поток при температурах ниже точки плавления нуклеозидов и без термодеструкции. Термодеструкцию легко обнаружить по появлению интенсивных полос H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, а также характеристических полос оснований,

которые заметно выделяются на фоне более широких спектральных полос нуклеозидов. Этот вывод был сделан после проведения контрольных экспериментов с испарительной ячейкой, использовавшейся в ранних работах [11]. Для определения абсолютных интенсивностей молекулярного потока и числа молекул инертного газа приходящихся на молекулу вещества (matrix to sample ratio - M/S) использовались низкотемпературные дифференциальные кварцевые микровесы (КМВ) [11]. В данных экспериментах типичная интенсивность молекулярных потоков пиримидиновых нуклеозидов составляла около  $60 \text{ нг}/(\text{сек}\cdot\text{см}^2)$  при температурах испарения 420-425К. Коммерческие (Sigma) нуклеозиды: 2-дезоксиуридин, тимидин, а также модельное основание: 1-метил-тимин, использовались без дополнительной очистки. Перед напылением вещества отжигались, для удаления легколетучих примесей, а также сорбированных молекул  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2$ . Процесс отжига контролировался с помощью КМВ. Были использованы Ag матрицы при температурах зеркальных подложек 11К. Инертный газ (Ar) был более чем 99.99% чистоты. Для проведения квантово-химических расчетов энергий и колебательных спектров конформеров была использована программа GAMESS [13], адаптированная А. Грановским [14] для работы на персональных WINTEL компьютерах (версия 6.0 от 07.2000 г.). Расчеты относительной стабильности конформеров проводились на персональных компьютерах с процессорами PIII-600, Duron-700, Celeron-500 методами Хартри-Фока: HF/3-21G(p), HF/6-31G(d,p) и MP2/6-31G(d,p). Расчеты колебательных спектров выполнялись методом HF/3-21G(p), а также HF/6-31G(d,p) для dU\_a1. Оценка колебательно-вращательного вклада в свободную энергию G выполнялась с помощью стандартных возможностей программы GAMESS, реализуемых при расчете колебательных спектров. Размерность базиса 3-21G(p) составляла 204 базисные функции для dU, и 223 для T, аналогично 300 для dU, и 325 для T в базисе 6-31G(d,p). Среднее процессорное время оптимизации одного конформера dU\_a(s) методом MP2/6-31G(d,p) составляло около 60 часов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На Рис. 2 представлены ИК-Фурье спектры области валентных  $\nu\text{NH}$ ,  $\nu\text{OH}$  колебаний, 2-дезоксиуридина, тимидина, 1-метил-тимина в низкотемпературных матрицах Ar.



**Рис.2** Область валентных колебаний  $\nu\text{NH}$ ,  $\nu\text{OH}$ : dU (кривая 1), T (2) и 1-метил-тимина (3) в матрицах Ar. T= 12K. M/S>800:1

Как видно из Рис. 2 частота  $3428 \text{ см}^{-1}$  валентного колебания  $\nu\text{N}_3\text{H}$ , принадлежащего 1-метил-тимину практически не изменяется и в пиримидиновых нуклеозидах dU, T. Остальные 4 полосы поглощения в этом диапазоне принадлежат только двум OH группам 2'-дезоксирибозы ( $\text{O}3'\text{H}$ ,  $\text{O}5'\text{H}$ ). Очевидно, что увеличение числа полос в спектрах dU и T (Рис. 2) вызвано присутствием нескольких

## Конформационная изомерия пиримидиновых нуклеозидов ...

конформеров с различными внутримолекулярными водородными связями. Поэтому выбор начальных структур для оптимизации был обусловлен возможностью образования тех или иных водородных связей. Необходимо отметить, что, несмотря на значительное ускорение расчетов, полуэмпирические методы оптимизации (например, РМЗ) приводят к почти плоской структуре рибозного кольца, что может вызвать пространственные препятствия для образования некоторых внутримолекулярных водородных связей. Поэтому на первом этапе оптимизация выполнялась методом HF/3-21G(p). Далее к полученным структурам последовательно применялись методы HF/6-31G(d,p) и MP2/6-31G(d,p). Хорошо известно, что конформационно гибкое рибозное кольцо нуклеозидов имеет неплоскую структуру [1]. По данным ЯМР спектроскопии C2'-эндо и C3'-эндо являются основными равновесными конформациями рибозного кольца в растворах [1]. В связи с большим объемом необходимых вычислений мы не проводили полного конформационного анализа рибозного кольца для dU и T, а ограничились только этими основными конформациями. Переход C2'-эндо → C3'-эндо не изменяет структуру водородных связей син-конформеров (Рис. 1). Однако C3'-эндо в анти-конформерах приводит к возможности образования водородных связей O3'H—O5', O5'H—O3' (Рис. 1). Ранее, на основании изучения кристаллических образцов предполагалось, что образование водородной связи C6H—O5' играет существенную роль в стабилизации анти-конформаций нуклеозидов и нуклеотидов [1,4,5]. Поэтому выбор структуры X\_a1 с ориентацией гидроксиметильной группы *gosh+* и торсионным углом  $\gamma$  ( $\langle C3'-C4'-C5'O5' \rangle = +50^\circ$ ) был близок к структурам рассмотренным в работах [4,5]. Также нами была рассмотрена структура X\_a0 с ориентацией *gosh-* ( $\langle \gamma \approx -65^\circ$ ) и отсутствием классических линейных водородных связей. Стабилизация положения пиримидинового кольца в этой конформации, а также конформациях X\_a2, X\_a3 может быть обусловлена электростатическим взаимодействием между C6H  $\longleftrightarrow$  O4' и C2O  $\longleftarrow$  N1'. Несмотря на острый угол  $\langle CNO$ , в работе [15] подобные взаимодействия в структурах оснований нуклеиновых кислот рассматривались как водородные связи. Изображенные на Рис. 1 конформационные структуры оказались стабильными при всех использованных методах оптимизации геометрии.

Таблица 1. Экспериментальные и рассчитанные методом HF/3-21G(p) частоты и интенсивности валентных колебаний  $\nu_{OH}$ ,  $\nu_{NH}$ ,  $\nu_{CH}$ ,  $\nu(C=O)$  конформеров dU и T (данные в скобках)

Конформер Колебание	Эксперимент $\nu$ см <sup>-1</sup> , I <sup>a</sup>	a0 $\nu$ см <sup>-1</sup> , I	a1 $\nu$ см <sup>-1</sup> , I	a2 $\nu$ см <sup>-1</sup> , I	a3 $\nu$ см <sup>-1</sup> , I	s1 $\nu$ см <sup>-1</sup> , I	s2 $\nu$ см <sup>-1</sup> , I
$\nu_{O5'H}$	3665, 1.54 (3664, 1.25)	3667, 48 (3668, 46)	3665, 59 (3666, 55.3)	3674, 63 (3674, 62)			
$\nu_{O3'H}$	3641, 0.85 (3642, 0.83)	3651, 37 (3653, 37)	3653.3, 30.3 (3653, 30)		3663.5, 55 (3662.2, 55)	3669.4, 44 (3684, 52)	3653, 30.2 (3652, 29.6)
$\nu_{hb\_O3'H}$ , $\nu_{hb\_O5'H}$	3598, 0.44 (3598, 0.48)			3611, 120 (3611.5, 118)	3600.9, 121 (3600.3)		
$\nu_{hb\_O5'H}$	3482, 2.7 (3472, 3.0)					3578.3, 344 (3581, 353)	3549, 486 (3543, 516)
$\nu_{N3H}$	3428.2, 3.75 (3431, 3.75)	3457, 96 (3458, 97)	3459.6, 93 (3459.3, 95)	3455, 98 (3457, 99)	3455.2, 98 (3456, 100)	3450.3, 99 (3451, 100)	3451, 101 (3452, 101)
$\nu_{C5H}$	3102, 0.32	3074, 4.6	3078, 4.4	3074, 3.8	3074, 5.5	3081, 2.4	3081, 2.1
$\nu_{C6H}$	3075, 0.22 (3080, 0.37)	3100, 9.7 (3094, 15.2)	3057, 57 (3058, 56)	3105, 8.2 (3099, 13)	3100, 9.7 (3091, 15)	3048 3.5 (3046, 3.8)	3051, 3.4 (3048, 3.5)
$\nu_{C2O,C4O}$	1700-1780, 48* (22)*	1310*	1318*	1285*	1276*	1500*	1475*

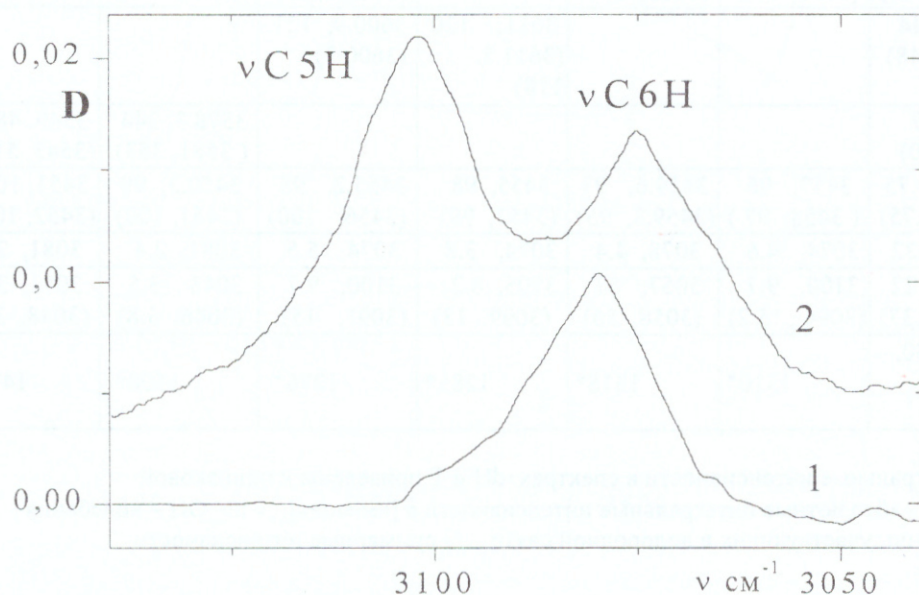
I<sup>a</sup>-относительные интегральные интенсивности в спектрах dU и T приведены к одинаковой интенсивности N3H. I - абсолютные интегральные интенсивности в [км/моль].  $\nu_{hb\_OH}$  - колебания протон-донорных групп, участвующих в водородной связи. \*- суммарные интенсивности I(C2O)+I(C4O).

Для всех показанных на Рис. 1 конформеров были выполнены квантово-химические расчеты частот и интенсивностей колебательных полос методом HF/3-21G(p). Результаты расчетов для колебаний  $\nu_{OH}$ ,  $\nu_{NH}$ ,  $\nu_{CH}$ ,  $\nu(C=O)$  показаны в таблице 1. Известно, что *ab initio* расчеты завышают частоты

валентных колебаний, что обусловлено недостаточной точностью расчетов и ангармонизмом реальных молекул. Поэтому для сравнения частот колебаний экспериментальных и расчетных спектров используют масштабирующие множители [16,17]. Для диапазона частот  $\nu_{OH}$ ,  $\nu_{NH}$ ,  $\nu_{CH}$  был использован единый множитель  $k = \nu_{O5'H_{эксп.}} / \nu_{O5'H_{расч.}} = 0.8757$ , где в качестве  $\nu_{O5'H_{расч.}}$  была взята соответствующая частота конформера  $dU_{a1}$ .

Как видно из данных таблицы 1, в диапазоне частот  $\nu_{OH}$ ,  $\nu_{NH}$  наилучшее совпадение с экспериментом наблюдается для всех типов *анти*-конформеров и для *син*-конформеров типа:  $X_{s2}$ . Согласно расчету (Таб. 1), наиболее существенным отличием спектров  $X_{s1}$  от спектров  $X_{s2}$  является высокочастотный сдвиг полосы водородно-связанного колебания  $O5'H$ . Данные этого расчета подтверждает анализ геометрии  $dU_{s1}$  и  $dU_{s2}$ . Так в конформере  $dU_{s1}$  расстояние  $O5'H \cdots O2$  равно:  $1.93 \text{ \AA}$  (HF/3-21G(p)),  $2.30 \text{ \AA}$  (HF/6-31G(d,p)),  $2.12 \text{ \AA}$  (MP2/6-31G(d,p)), а для конформера  $dU_{s2}$  соответственно  $1.80 \text{ \AA}$  (HF/3-21G(p)),  $1.99 \text{ \AA}$  (HF/6-21G(d,p)),  $1.88 \text{ \AA}$  (MP2/6-21G(d,p)). Известно, что большему расстоянию соответствует более слабая водородная связь и следовательно меньший низкочастотный сдвиг полосы водородно-связанного  $OH$  колебания [18]. Так как полоса  $3482 \text{ см}^{-1}$  практически не имеет высокочастотного плеча (Рис. 2), то присутствием конформеров  $dU_{s1}$  можно пренебречь. Водородная связь  $O5'H \cdots O2$  в конформере  $dU_{s2}$  приводит к выравниванию интенсивностей полос колебаний  $\nu_{C2O}$  ( $1734 \text{ см}^{-1}$ ) и  $\nu_{C4O}$  ( $1710 \text{ см}^{-1}$ ), вследствие низкочастотного сдвига колебания  $\nu_{C2O}$  на  $25\text{-}30 \text{ см}^{-1}$  и наложения полос  $\nu_{C2O}$ ,  $\nu_{C4O}$ . Аналогичный эффект, в сравнении со спектрами 1-метил-тимина, наблюдается для колебаний тимидина  $\nu_{C2O}$  ( $1728 \text{ см}^{-1}$ ),  $\nu_{C4O}$  ( $1714 \text{ см}^{-1}$ ).

*Анти*-конформеры  $X_{a0}$ ,  $X_{a1}$  в области спектра  $\nu_{OH}$ ,  $\nu_{NH}$  имеют близкие частоты и практически неразличимы, однако заметные различия между ними появляются в области  $\nu_{CH}$  (Таб. 1). Расчеты HF/3-31G(d,p) показывают (Таб. 1), что внутримолекулярная водородная связь  $C6H \cdots O5'$  приводит к низкочастотному сдвигу и сильному росту интенсивности колебания  $\nu_{C6H}$ , которая более чем на порядок превосходит интенсивность колебания  $\nu_{C5H}$ . Расчет методом HF/6-31G(d,p) показал, что отношение этих интенсивностей уменьшилось до 1.25, однако по-прежнему  $\nu_{C6H}$  более интенсивно, чем  $\nu_{C5H}$ . В экспериментальном спектре (Рис. 3) мы видим совершенно противоположную картину, когда интенсивность  $\nu_{C5H}$  превосходит интенсивность  $\nu_{C6H}$ . Такое соотношение интенсивностей может быть вызвано наложением полос конформеров  $X_{a0}$ ,  $X_{a2}$ ,  $X_{a3}$ , так как у этих конформеров частота и интенсивность колебания  $\nu_{C6H}$  выше, чем у колебания  $\nu_{C5H}$  (Таб. 1). Интенсивность полосы  $3598 \text{ см}^{-1}$  показывает, что конформеры  $X_{a2}$ ,  $X_{a3}$ , заселены незначительно (Таб. 1). Это позволяет нам сделать вывод о присутствии конформеров  $X_{a0}$  в матричных образцах, хотя строгость этого вывода подлежит дополнительной экспериментальной и расчетной проверке.



**Рис.3** Область валентных  $\nu_{CH}$  колебаний T (кривая 1) и  $dU$  (2). Измерения сделаны при температуре Ar матриц 12K. M/S > 800:1.

Конформеры  $X_{a2}$ ,  $X_{a3}$ , имеющие конформацию рибозного кольца  $C3'$ -эндо, являются неразличимыми во всем диапазоне частот представленных в таблице 1. Дополнительные расчеты колебательных спектров

## Конформационная изомерия пиримидиновых нуклеозидов ...

методом HF/6-31G(d,p) также не выявили спектральных различий между этими конформерами. Можно только предположить на основании расчетов относительных энергий (Табл. 2), что основной вклад в интенсивность полосы  $3598 \text{ см}^{-1}$  вносит конформер dU\_a2. Однако конформер dU\_a3 также может присутствовать в матричных образцах, что проявляется в уширении высокочастотного плеча полосы  $3598 \text{ см}^{-1}$  (Рис. 2).

**Таблица 2.** Относительные энергии (ккал/моль) *анти*- и *син*-конформеров dU и T, полученные из ab initio расчетов и эксперимента.

Тип конформера Метод расчета	a0	a1	a2	a3	s1	s2
HF/3-21G(p) <sup>A</sup>	5.0	2.0	2.4	4.4	3.1	0 (-826.5107)*
HF/3-21G(p) <sup>B</sup>	5.4	2.4	2.7	5.7	3.3	0 (-865.3451)
HF/6-31G(d,p) <sup>A</sup>	2.7	1.3	1.4	3.1	1.5	0 (-831.0667)
HF/6-31G(d,p) <sup>B</sup>	2.9	1.6	1.8	5.0	1.6	0 (-870.1091)
MP2/6-31G(d,p) <sup>A</sup>	5.6	2.8	3.6	4.8	2.7	0 (-833.4875)
$\Delta G$ (298K) <sup>A</sup> MP2/6-31G(d,p)	3.4	1.7	2.4	3.8	1.9	0
$\Delta G$ (420K) <sup>A</sup> MP2/6-31G(d,p)	2.8	1.4	2.1	3.4	1.6	0
$\Delta G$ (420K) <sup>B</sup> HF/6-31G(d,p)	0	0.1	0.3	4.3	0.6	0
$\Delta G$ (420K) <sup>A</sup> Эксперимент	0	-	1.4	-	-	1.3
$\Delta G$ (420K) <sup>B</sup> Эксперимент	-	0	1.3	-	-	1.2

\* в скобках показаны абсолютные величины энергии в а.е.

<sup>A</sup> - относительные энергии конформеров dU: dU\_a0, dU\_a1, dU\_a3, dU\_a3, dU\_s1, dU\_s2.

<sup>B</sup> - относительные энергии конформеров T: T\_a0, T\_a1, T\_a3, T\_a3, T\_s1, T\_s2.

Согласно данным табл. 2, *син*-конформеры dU\_s2, T\_s2 с внутримолекулярной водородной связью O5'H—O2 и конформацией сахарного кольца C2'-*эндо* являются наиболее выгодными на всех уровнях оптимизации. К сожалению, для больших нежестких молекул, ab initio расчеты методом Хартри-Фока (HF), даже с учетом электронной корреляции методами MP2 или MP4 и не позволяют однозначно определить наиболее выгодные конформеры. Например, как показано в работе [19], изменения относительной энергии  $\Delta E(0)$  конформеров глюкозы могут достигать 7 ккал/моль при варьировании базиса и метода расчетов. Кроме того для сравнения расчетов с экспериментом необходимо вычислять величину относительной свободной энергии Гиббса  $\Delta G(T)$  [20]:

$$\Delta G_{as}(T) = \Delta E(0) + \Delta ZPE + \int_0^T \Delta C dT - T \Delta S(T),$$

где относительные величины  $\Delta$ : ZPE - относительная энергия колебаний при 0K, C - теплоемкость, S - энтропия

Расчет  $\Delta ZPE$ , а также температурно-зависимых компонент свободной энергии  $\Delta C$ ,  $\Delta S$  в приближении: жесткий ротор - гармонические колебания - идеальный газ, также может быть источником дополнительных погрешностей. Основной вклад дают погрешности расчета частот самых низкочастотных колебаний. Поэтому надежные оценки заселенности конформеров изолированных молекул могут быть получены только на основании экспериментальных спектральных данных. Чтобы определить константу равновесия изомеров из экспериментального спектра необходимо знать коэффициенты молярного поглощения характеристических полос изомеров. Отношение молярных

экстинкций характеристических полос изомеров можно определить через перераспределение интенсивностей этих полос под влиянием температуры испарения или УФ облучения матричного образца. В отличие от некоторых простейших молекул [12], подобные измерения для нуклеозидов в данных экспериментах были затруднительны. В таком случае экспериментальная оценка константы равновесия изомеров может быть выполнена с помощью вспомогательных расчетных данных об интенсивностях полос колебательного спектра. Так в целом ряде работ для определения константы равновесия изомеров а и s было предложено использовать отношение сумм интенсивностей полос экспериментального и расчетного спектра [21,22]:

$$K_{as} = \frac{\sum I_{a(\text{эксп.})}}{\sum I_{a(\text{расчет.})}} \cdot \frac{\sum I_{s(\text{расчет.})}}{\sum I_{s(\text{эксп.})}} \quad (1)$$

Ab initio расчеты существенно завышают абсолютные инфракрасные интенсивности колебательных полос [16,23], однако отношения экспериментальных и расчетных интенсивностей совпадают значительно лучше. По нашим данным наилучшее совпадение расчетов с результатами эксперимента наблюдается для отношения интенсивностей валентных колебаний изолированной молекулы. Например, как следует из данных таблицы 1 отношение интенсивностей  $I(\Sigma\text{CO})/I(\text{N3H}) = 12.8$  для эксперимента и  $I(\Sigma\text{CO})/I(\text{N3H})=13.9 (\pm 0.8)$  для расчетов. В данной работе для упрощения расчетов мы полностью пренебрегли возможным вкладом более слабозаселенных конформеров:  $X_{a0}$ ,  $X_{a3}$ ,  $X_{s1}$  и предполагаем, что в спектре мы видим полосы только трех наиболее вероятных конформеров:  $X_{a1}$ ,  $X_{a2}$ ,  $X_{s2}$  (Рис. 1). Полоса  $\text{hb}_v\text{O5}'\text{H}$  ( $3482\text{cm}^{-1}$ ) принадлежит непосредственно конформеру  $X_{s2}$ , а полоса  $\text{hb}_v\text{O3}'\text{H}$  ( $3598\text{cm}^{-1}$ ) конформеру  $X_{a2}$  (Табл. 1). Как видно из данных таблицы 1, в спектре отсутствуют полосы принадлежащие исключительно конформеру  $X_{a1}$ . Так полоса колебания  $\nu\text{N3H}$  принадлежит одновременно всем трем конформерам, полоса колебания  $\nu\text{O5}'\text{H}$  ( $3665\text{cm}^{-1}$ ) принадлежит конформерам -  $X_{a1}$ ,  $X_{a2}$ , а полоса  $\nu\text{O3}'\text{H}$  ( $3641\text{cm}^{-1}$ ) - конформерам  $X_{a1}$ ,  $X_{s2}$  (Таб.1). Поэтому определить  $K_{as}$  непосредственно из уравнения 1 невозможно. Но, так как интенсивность каждого из этих колебаний мало меняется от изомера к изомеру то подставив в уравнение 1 теоретические и экспериментальные значения интенсивностей  $I(\text{O5}'\text{H})$ ,  $I(\text{hb}_v\text{O5}'\text{H})$  получаем промежуточный коэффициент:

$$K = N_{s2} / (N_{a0} + N_{a2}) \quad (\text{где } N_i \text{ количество молекул соответствующего изомера})$$

Например, для конформеров dU  $K=0.18$ , и с его помощью легко определить долю конформера dU<sub>s2</sub> от общего числа молекул:

$$\eta_{s2} = K / (1 + K) = 0.15$$

Аналогичным образом можно показать, что для dU:  $\eta_{a2}=0.14$  и соответственно  $\eta_{a1}=0.71$ . Далее по стандартной формуле:

$$\Delta G_{as}(T) = -RT \ln K_{as} = -RT \ln(\eta_a / \eta_s)$$

были определены относительные свободные энергии конформеров, представленные в таблице 2. Там же показаны расчетные относительные свободные энергии конформеров, полученные для температур 298 и 420 К. Данные таблицы 2 показывают, что с ростом температуры существенно нивелируются различия в свободной энергии конформеров, однако расхождение с экспериментальными результатами очевидно. Для проверки наличия возможной интерконверсии конформеров при осаждении в матрицу были проведены контрольные эксперименты в Ne и Ar матрицах, при температурах подложек 5 К. Сравнение со спектрами, полученными при температурах подложек 12К не показало ощутимого сдвига конформационного равновесия. Кроме того, были выполнены эксперименты по отжигу Ar матриц до температур 28-32К, которые также не продемонстрировали заметных сдвигов в конформационном равновесии. Отжиг матриц позволил, на основании экспериментальных данных работы [8] и уравнения Эйринга [24], оценить нижнюю границу высот барьеров между конформерами изолированных молекул в 2.5–3 ккал/моль. Это позволяет сделать вывод о близком соответствии между конформационным равновесием изомеров 2-дезоксигуанидина в газовой фазе и низкотемпературных матрицах.

## ВЫВОДЫ

Впервые методом ИК-Фурье спектроскопии матричной изоляции и неэмпирическими расчетами исследовано конформационное равновесие и структура внутримолекулярных водородных связей для изолированных молекул пиримидиновых нуклеозидов: 2-дезоксисуридина (dU) и тимидина (T).

Путем сравнения экспериментальных и расчетных спектров определены три наиболее выгодных конформера dU и T, фиксируемые из газовой фазы (T=420K) в низкотемпературных матрицах при температурах 5-30K. Для них получена экспериментальная оценка нижней границы высот барьеров конформационных переходов превышающая 2.5 ккал/моль.

Показано, что при температурах испарения 420-425 K *анти*-конформеры dU и T являются доминирующими в матричных образцах. Рибозное кольцо *анти*-конформеров X\_a1, X\_a0 находится в конформации C2'-эндо, а рибозные кольца минорных *анти*-конформеров X\_a2, X\_a3 имеют конформацию C3'-эндо, стабилизированную внутримолекулярными водородными связями O3'H—O5' и O5'H—O3' соответственно.

*Син*-конформеры 2-дезоксисуридина и тимидина X\_s2 стабилизированы внутримолекулярной водородной связью O5'H—O2, а доминирующей конформацией сахарного кольца является C2'-эндо.

Установлено, что C2'-эндо является доминирующей конформацией рибозного кольца dU и T в изолированных молекулах. Этот результат совпадает с данными многочисленных исследований методом ЯМР пиримидиновых дезоксирибонуклеотидов в растворах [1]

## Литература:

1. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот / Москва, Мир, 1987, 584 стр.
2. G.A. Jeffrey, W.Saenger Hydrogen Bonding in Biological Structures / Springer-Verlag, Berlin, 1991, p. 563
3. S.N. Rao // Nucleosides&Nucleotides, 1995, 14(6), p. 1179-1193
4. F.Seela, H.Debelak, H.Reuter, G.Kastner and I.A.Mikhailopulo // Tetrahedron 55. 1999, p.1295-1308
5. N. Leulliot, M. Ghomi, G. Scalmani, G. Berthier, // J. Phys. Chem. A 1999, V.103, p. 8716-8724.
6. N. Leulliot, M. Ghomi, H. Jobic, O. Bouloussa, V. Baumruk, C.Coulombeau // J.Phys.Chem. B 1999, 103, p.10934-10944.
7. O.V.Shishkin, A.Pelmenschikov, D.M.Hovorun, J.Leszczynski // J.Mol.Struct. 526, 2000, p.329-341
8. Barnes A.J., // J.Mol. Struct. 113, (1984), p.161-174
9. S.A.Krasnokutski, A.Yu.Ivanov, V. Izvekov, G.G.Sheina and Yu.P.Bлагоi // XXIV European Congress on Molecular Spectroscopy. Prague, Czech Republic, 1998, p. 470.
10. S.A. Krasnokutski, A.Yu. Ivanov, V. Izvekov, G.G. Sheina, Yu.P. Blagoi // J.Mol.Struct. 482-483, (1998), p. 249-252.
11. A.Yu.Ivanov, A.M. Plokhotnichenko, E.D. Radchenko, G.G. Sheina, Yu.P. Blagoi, J.Mol.Struct. 372 (1995) p.91-100.
12. Yu. Ivanov, A.M. Plokhotnichenko, V. Izvekov, G.G. Sheina, Yu.P. Blagoi J.Mol.Struct. 408-409, 459 (1997).
13. M.W.Schmidt, K.K.Baldridge, J.A.Boats, S.T.Elbert, M.S.Gordon, J.H.Jensen, S.Koseki, N.Matsunaga, S.Su, T.L.Windus, M.Dupuis and J.A.Montgomeri. // J. of Computational Chemistry, Vol.14, No.11, (1993) p. 1347-1363
14. Alex A. Granovsky, <http://classic.chem.msu.su/gran/gamess/index.html>
15. Говорун Д.М., Міщук Я.Р., Кондратюк І.В., Желтовський М.В // Доповіді НАН України, 8, 1996, стор. 141-144
16. M.J. Nowak, L.Les and L.Adamowicz Trends in Physical Chemistry // 4, 1994, p. 137-168
17. M.J. Nowak, L.Lapinski, D.C. Bienko, D.Michalska // Spectrochimica acta A, 53, 1997, p. 855-865
18. Водородная связь. Под ред. Соколова Н.Д. / М., Наука, 1981, стр. 288
19. S.E. Barrows, F.J. Dulles, C.J. Cramer, A.D. French, D.G. Truhlar // Carb. Res. 276 (1995) p.219.
20. Kwiatkowski J.S., and Leszczynsky J. // Chem. Phys. Lett. 204,1993, p.430-434
21. M.J. Nowak, L. Lapinski, J. Fulara // Spectrochimica Acta, 45,A 2, (1989), p.229-242
22. Vranken H., Smets J., Maes G., Lapinski L., Nowak M.J., and Adamovicz L. // Spectrochimica Acta, Vol 50A, N5, 1994, p. 875-889
23. Yamaguchi Y., Frisch M., Gaw J., Schaefer III H.F., Binkley J.S. // J. Chem. Phys. 84 (4), 1986 p. 2262-2278
24. С. Глестон, К. Лейдер, Г.Эйринг, Теория абсолютных скоростей реакций / М.: Издательство, 1948 - 321 с.