

УДК 577.3

## ОСОБЕННОСТИ КОЛЕБАТЕЛЬНОГО СПЕКТРА 1-МЕТИЛ-УРАЦИЛА, ИЗОЛИРОВАННОГО В ИНЕРТНЫХ МАТРИЦАХ

А.Ю. Иванов, С.А. Краснокутский, Г.Г. Шенна, Ю.П. Благой

*Физико-технический институт низких температур им. Б.П. Веркина НАН Украины;*

*61103, Харьков, пр. Ленина, 47*

Поступила в редакцию 29 марта 2002 г.

В диапазоне  $4000\text{--}2800\text{ см}^{-1}$  получены ИК-Фурье спектры молекул 1-метил-урацила, изолированных в низкотемпературных матрицах Ar. Впервые получены экспериментальные данные о частотах и интенсивностях валентных колебаний  $\nu\text{C}5\text{H}$ ,  $\nu\text{C}6\text{H}$ . Методами HF/3-31G(p), MP2/3-31G(p), HF/6-31G(d,p) проведены расчеты колебательных спектров. Проведено сравнение частот и интенсивностей колебаний в экспериментальных и расчетных спектрах. Наилучшее совпадение отношений экспериментальных и расчетных интенсивностей валентных колебаний  $\nu\text{NH}$ ,  $\nu\text{CH}$  получено для метода HF// 3-21G(p). Доказана принадлежность полосы  $3462\text{ см}^{-1}$  к обертону колебания  $\nu\text{C}2\text{O}$ .

**Ключевые слова:** 1-метил-урацил, матричная изоляция, ИК-Фурье спектроскопия.

Интерес к структурным и спектральным исследованиям оснований нуклеиновых кислот различными экспериментальными и расчетными методами не ослабевает на протяжении многих лет [1,2]. В частности ряд работ был посвящен изучению инфракрасных спектров и структуры 1-метил-урацила, изолированного в низкотемпературных инертных матрицах [3-7]. Благодаря наличию метильной группы по положению N1, в спектральных исследованиях данную молекулу можно считать приближенным аналогом нуклеозида уридина. Первые структурные исследования изолированных молекул пиримидиновых нуклеозидов методом ИК-Фурье спектроскопии матричной изоляции [8,9] показали уникальную возможность метода в изучении внутримолекулярных водородных связей нуклеозидов. Одной из интересных особенностей структуры пиримидиновых нуклеозидов является внутримолекулярная водородная связь  $\text{C}6\text{H}\text{---}\text{O}5'$ , стабилизирующая *синт*-конформацию [1,2]. Данные об этом были получены при изучении кристаллических образцов [1,2], что не дает гарантий существования такой водородной связи в изолированных молекулах. Поскольку спектральные проявления водородной связи  $\text{C}6\text{H}\text{---}\text{O}5'$  могут быть весьма незначительны, то возник интерес к сравнению спектральной области валентных колебаний  $\text{C}5\text{H}$ ,  $\text{C}6\text{H}$  в матричных спектрах производных уридина и 1-метил-урацила. В предыдущих экспериментальных работах [2-5] качество матричных спектров 1-метил-урацила не позволяло изучить данную спектральную область. Это связано с тем, что по данным наших экспериментов динамический диапазон отношений интенсивностей спектральных линий в матричных спектрах оснований может превышать 1000 и, как правило, некоторые слабые спектральные линии остаются необнаруженными. Поэтому ранее на усовершенствованной экспериментальной установке были получены ИК-Фурье спектры матричных образцов 1-метил-урацила, содержащие на порядок больше поглощающих молекул, чем обычно. В данной работе проводится анализ спектральной области  $2900\text{--}3500\text{ см}^{-1}$ , представляющей наибольший интерес для изучения структуры оснований нуклеиновых кислот и нуклеозидов.

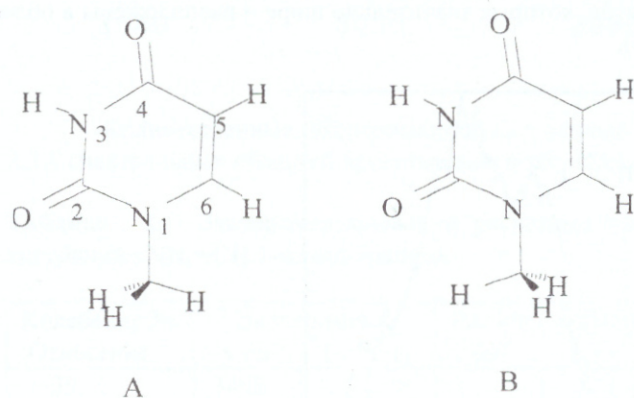
### МЕТОДЫ ЭКСПЕРИМЕНТА И РАСЧЕТОВ

Главные особенности спектральной установки и низкотемпературного эксперимента были описаны в ряде предыдущих работ [9-11]. Для данной работы в спектральной области  $2900\text{--}3500\text{ см}^{-1}$  были измерены ИК-Фурье спектры с аподизированным разрешением  $0.4\text{ см}^{-1}$ . Для определения абсолютных интенсивностей молекулярного потока и числа молекул инертного газа проводившихся на молекулу вещества использовались низкотемпературные дифференциальные кварцевые интерферометры [10]. Коммерческий препарат (Sigma) 1-метил-урацила использовался без дополнительной очистки. Для удаления легколетучих примесей, а также сорбированных молекул  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2$  перед напылением вещество отжигалось. Процесс отжига контролировался с помощью интерферометра. Были использованы Ar матрицы при температурах зеркал 11К. Инертный газ (Ar) был более чем 99.99% чистоты. Для испарения 1-метил-урацила использовалась специальная ячейка Кларксона с уменьшенными потерями молекулярного пучка аналогичная работе [9]. Перед напылением матрицы

на зеркальную подложку при температурах 35-25K наносился тонкий слой чистого Ag [11], обладающий бездефектной структурой [12]. Это позволило получать оптически прозрачные матрицы Ag, содержащие до 500 мкг вещества при разбавлении - 1:700. 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 конформационных изомеров проводились на персональных компьютерах с процессорами PIII-600, Duron-700, Celeron-500 методом Хартри-Фока HF/3-21G(p), HF/6-31G(d,p) и MP2/6-31G(d,p), а для расчета колебательных спектров использовались методы HF/3-21G(p), MP2/3-21G(p), HF/6-31G(d,p).

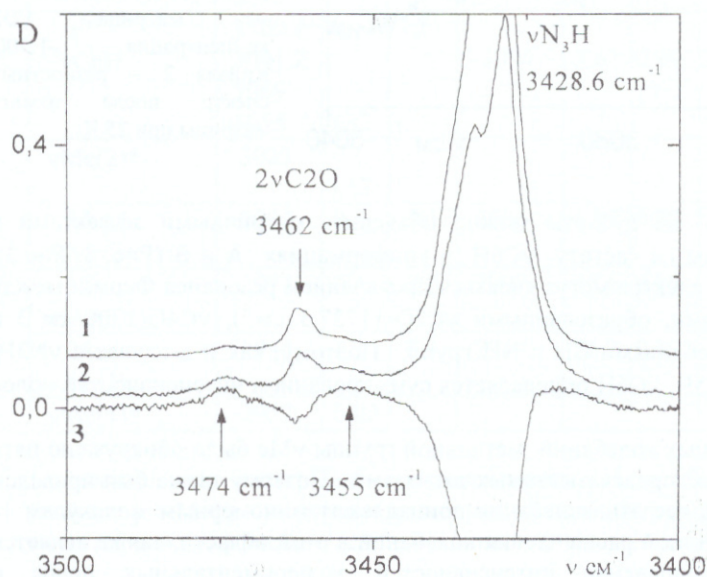
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что в изолированном состоянии 1-метил-урацил находится исключительно в кето-форме [3-7], которую образуют два конформационных изомера, отличающиеся поворотом метильной группы (Рис. 1). Разность в энергиях конформеров А и В составляет всего около 120 кал/моль, что практически совпадает с результатом работы [5]. Это говорит о возможном присутствии в матрицах обоих изомеров в близких концентрациях. Однако, как и в работе [5], анализ колебательных спектров проводился только для конформера А, у которого интенсивности колебаний метильной группы лучше согласуются с экспериментом.



**Рис.1** Структура стабильных конформационных изомеров 1-метил-урацила и нумерация атомов.

Основной особенностью области валентного ( $\nu$ ) N3H колебания 1-метил-урацила (Рис. 2) есть наличие двух расположенных рядом полос поглощения. Более слабая высокочастотная полоса



**Рис.2** Область валентных  $\nu$ NH, колебаний 1-метил-урацила: кривая 1 - Ag матрица 12K, концентрация -1:700. Кривая 2 - спектр после отжига матрицы при 25 K. Кривая 3 - разность спектров 1 и 2 в увеличенном масштабе (x2).

3462 $\text{cm}^{-1}$  наблюдалась и в предыдущих работах [2-7]. Однако, происхождение этой полосы не было выяснено, что, представляется важным для точного определения интенсивности полосы поглощения колебания  $\nu\text{N3H}$ . Отжиг матричных образцов при 25К показал (Рис. 2), что интенсивность полосы 3462  $\text{cm}^{-1}$  убывает синхронно с интенсивностями полос:  $\nu\text{N3H}$  (3428.6  $\text{cm}^{-1}$ ), а также  $\nu\text{C2O}$  (1737.5  $\text{cm}^{-1}$ ) и  $\nu\text{C4O}$  (1700  $\text{cm}^{-1}$ ). Рядом наблюдается рост двух полос 3474  $\text{cm}^{-1}$  и 3455  $\text{cm}^{-1}$  (Рис. 2). Их появление можно объяснить образованием межмолекулярных водородных связей с участием групп  $\text{C2O}$ ,  $\text{C4O}$ ,  $\text{N3H}$ . В молекулах, которые являются акцептором протона, изменяется электронная плотность на атоме азота  $\text{N3}$  пиримидинового кольца, что может приводить к повышению частоты колебаний  $\nu\text{N3H}$ . Подобный эффект ранее наблюдался для частоты акцепторной  $\text{OH}$  группы в димерах метанола [15]. В силу вышесказанного, наиболее вероятной причиной появления полосы 3462  $\text{cm}^{-1}$  является вторая гармоника колебания  $\nu\text{C2O}$  (1737.5  $\text{cm}^{-1}$ ). Частота этого обертона несколько занижена вследствие ангармонизма валентного колебания  $\nu\text{C2O}$ . Причиной достаточно высокой интенсивности обертона является Ферми-резонанс с  $\nu\text{N3H}$ , поскольку происходит перекачка интенсивности колебания  $\nu\text{N3H}$  в обертон. Ферми-резонанс практически не изменяет суммарной интенсивности резонирующих колебаний [16] и, следовательно, реальная интенсивность  $\nu\text{N3H}$  равна суммарной интенсивности обеих полос.

В области поглощения валентных колебаний кольца  $\nu\text{C5H}$ ,  $\nu\text{C6H}$  также было обнаружено расщепление спектральных полос (Рис. 3). Поскольку интегральное и пиковое поглощение всех обнаруженных полос весьма мало, то была проверена возможность наблюдения в этом диапазоне полос ассоциатов, незначительное количество которых может образовываться в процессе осаждения матрицы. Отжиг показал, что интенсивности полос мономеров в области 3132 - 3091 $\text{cm}^{-1}$  синхронно убывают, и наблюдается рост полос ассоциатов, которые значительно шире и расплывчаты в области более низких частот: 3095 - 3050 $\text{cm}^{-1}$  (Рис 3).

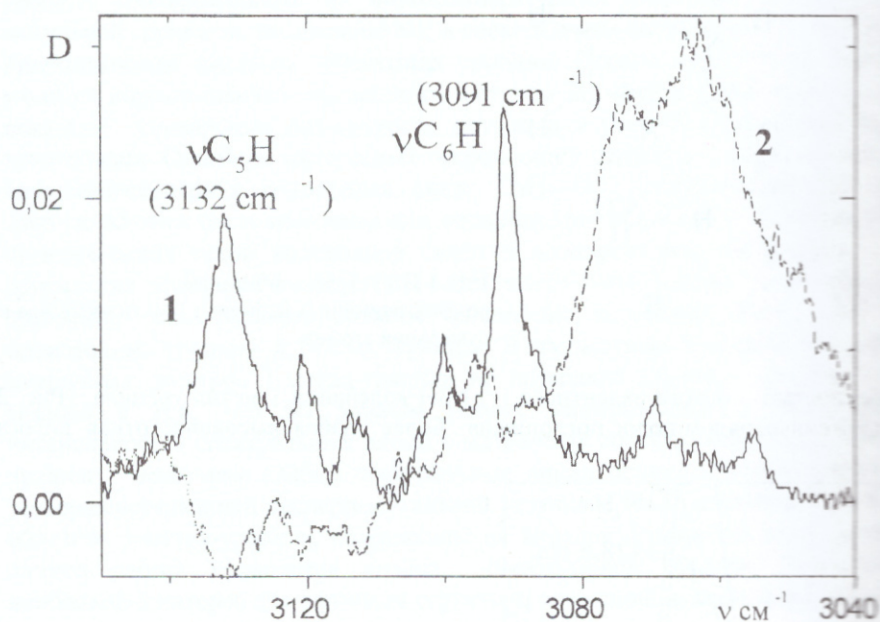


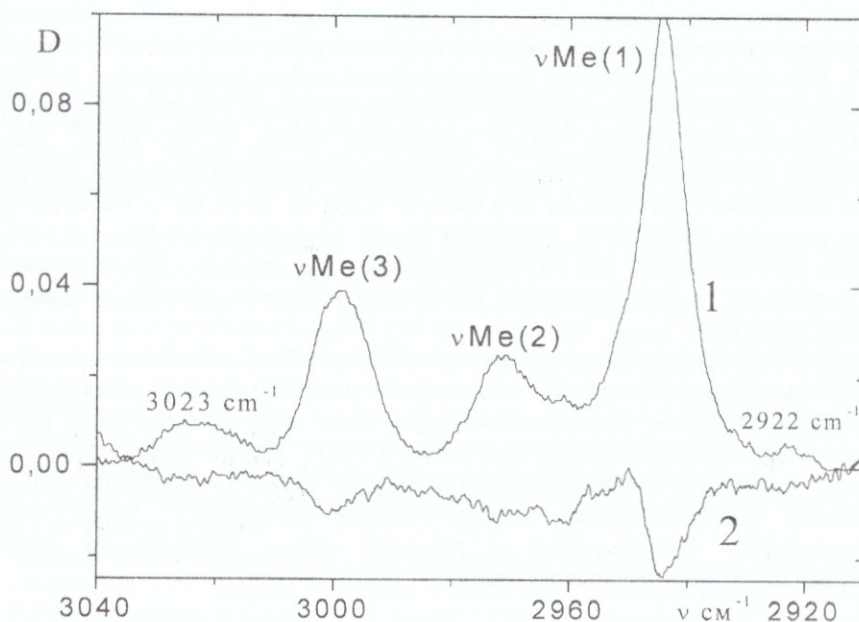
Рис.3 Область колебаний кольца  $\nu\text{C5H}$ ,  $\nu\text{C6H}$  1-метил-урацила: кривая 1 - Ar матрица 12К, концентрация -1.70. Кривая 2 - разностный спектр после отжига матрицы при 25 К.

Расщепление полос 3132 $\text{cm}^{-1}$ , 3091 $\text{cm}^{-1}$  на дублеты можно объяснить матричными эффектами и влиянием ориентации метильной группы на частоту  $\nu\text{C6H}$  в конформациях А и В (Рис. 1, Рис.3). Однако другие полосы на этом участке спектра могут являться проявлением резонанса Ферми между  $\nu\text{C5H}$ ,  $\nu\text{C6H}$  и составными колебаниями, образованными  $\nu\text{C2O}$  (1737.5  $\text{cm}^{-1}$ ),  $\nu\text{C4O}$  (1700  $\text{cm}^{-1}$ ) и плоскостными деформационными колебаниями  $\text{CH}$  и  $\text{NH}$  групп. Поэтому, как и в случае с  $\nu\text{N3H}$ , реальная интенсивность колебаний  $\nu\text{C5H}$ ,  $\nu\text{C6H}$  определяется суммированием интенсивностей полос в мультиплетах (Табл. 1).

В области поглощения валентных колебаний метильной группы  $\nu\text{Me}$  было обнаружено пять спектральных полос (Рис. 4) вместо трех, предсказываемых расчетами. Поэтому также был проведен отжиг матрицы, который показал, что все эти колебания принадлежат мономерным молекулам 1-метил-урацила. Хорошо известной причиной расщепления колебаний в этой области, также является Ферми-резонанс [16]. Наилучшее совпадение интенсивностей экспериментальных полос с

## Особенности колебательного спектра 1-метил-урацила, ...

расчетными интенсивностями наблюдается при отнесении полосы  $3023\text{ см}^{-1}$  к колебанию  $\nu\text{Me}(2)$  (Табл. 1).



**Рис.4** Область колебаний метильной группы  $\nu\text{Me}$  1-метил-урацила: кривая 1 - Ar матрица 12K, концентрация -1:700. Кривая 2 - разностный спектр после отжига матрицы при 25 K.

Количественные экспериментальные данные и результаты расчетов для показанных на Рис. 2,3,4 спектральных областей представлены в таблице 1.

**Таблица 1.** Экспериментальные и расчетные значения частот и интенсивностей валентных колебаний  $\nu\text{NH}$ ,  $\nu\text{CH}$  1-метил-урацила.

Колебание № Отнесение	Эксперимент			Расчет 3-21G(p)			Расчет MP2/321G(p)			Расчет 6-31G(d,p)		
	$\nu\text{ см}^{-1}$	I	$I_A$	$\nu\text{ см}^{-1}$	$I_A$	$\eta$	$\nu\text{ см}^{-1}$	$I_A$	$\eta$	$\nu\text{ см}^{-1}$	$I_A$	$\eta$
39 $\nu\text{N3H}$	3462 3433.4 3428.6		58	3433	90	0.87	3439	50.3	0.91		97.2	0.89
38 $\nu\text{C5H}$	3132 3120.5 3113	0.25	1.6	3132	1.8	0.89	3115	0.6	0.91	3118	0.9	0.91
37 $\nu\text{C6H}$	3100.2 3091.2 3069 3055	0.32	2	3094	3.6	0.89	3083	5.5	0.91	3089	5.5	0.91
$\nu\text{Me}(2)^*$	3023	0.17										
35 $\nu\text{Me}(3)$	2999	0.5	3.1	3006	12.7	0.89	3037	9.3	0.91	3017	15.6	0.91
35 $\nu\text{Me}(2)$	2971	0.4	2.5	2997	15.6	0.89	3010	14.4	0.91	3011	16.9	0.91
34 $\nu\text{Me}(1)$	2944.5	1.3	8.1	2919	25.3	0.89	2926	23.2	0.91	2936	38.9	0.91
$\nu\text{Me}(1)^*$	2922	0.02										

I - относительные интегральные интенсивности.  $I_A$  - абсолютные интегральные интенсивности в [км/моль].  $\nu\text{Me}(i)$  - валентные колебания метильной группы, нумерация соответствует работе [6].  $\eta$  - масштабный коэффициент (см. текст ниже). \* - расщепление полос вызвано резонансом Ферми.

Расчеты проводились с относительно небольшими базисами: 3-21G(p), 6-31G(d,p), которые часто используют для расчетов параметров изолированных нуклеозидов и нуклеотидов [17]. Неэмпирические расчеты существенно завышают частоты валентных колебаний, что обусловлено недостаточной точностью расчета силовых постоянных. Поэтому для сравнения частот колебаний экспериментальных и расчетных спектров используют умножение расчетных частот на масштабные коэффициенты [18,19]. Как правило, необходим индивидуальный выбор коэффициента для каждого типа нормальных колебаний [18], методов измерений и расчета. В данной работе критерием выбора коэффициентов была подгонка расчетных частот колебаний  $\nu_{\text{NH}}$ ,  $\nu_{\text{C5H}}$ ,  $\nu_{\text{C6H}}$ . Для всех представленных в таблице 1 методов расчета получены удовлетворительные результаты. Необходимо отметить, что частота колебания  $\nu_{\text{C5H}}$  больше чем частота  $\nu_{\text{C6H}}$  на 20-30  $\text{cm}^{-1}$ . Это согласуется с результатами расчетов методами HF/D95V\*\*, MP2/D95V\*\* для 1-метилурацила [6], и с расчетами, проведенными методами DFT/6-31G(d,p) [7], HF/6-31G(d,p) [20] для урацила. Экспериментальные частоты колебаний метильной группы, вероятно вследствие резонанса Ферми, согласуются с расчетами заметно хуже (Табл. 1).

Также очевидно (Табл. 1) что, расчеты методом Хартри-Фока завышают интенсивности валентных колебаний. Аналогичный эффект наблюдается для большинства деформационных колебаний [10]. Известно, что лучшее согласие с экспериментом дает использование расчетных методов учитывающих электронную корреляцию, например MP2 [21]. Однако эффективность метода MP2 может существенно изменяться для колебаний разных групп (Табл. 1). Особенно подвержены влиянию метода расчеты интенсивностей деформационных колебаний. Более надежную информацию для сравнения экспериментов и расчетов можно получить из отношений интенсивностей различных валентных колебаний (Табл.2).

**Таблица 2.** Сравнение отношений экспериментальных и расчетных интенсивностей валентных колебаний  $\nu_{\text{NH}}$ ,  $\nu_{\text{CH}}$  1-метил-урацила.

Отношение Интенсивностей	Эксперимент Ag матрица	Расчет HF/3-21G(p)	Расчет MP2/3-21G(p)	Расчет HF/3-21G(p)
$I(\text{NH})/\Sigma I(\nu_{\text{CH}})$	16.5	16.7	8.2	15.1
$I(\text{NH})/\Sigma I(\nu_{\text{Me}})$	3.9	1.7	1.1	1.4
$I(\text{C6H})/I(\nu_{\text{C5H}})$	1.3	2	9.2	6.1

Как видно из данных таблицы 2, на качественном уровне все методы расчета правильно определяют соотношения между интенсивностями различных групп колебаний. Существенно лучшее количественное согласие с экспериментом получено для метода HF/3-21G(p). Поэтому можно утверждать, что инверсия отношения интенсивностей является признаком существенных различий между реальной и расчетной молекулярными структурами. Использование этого признака в сочетании со сравнением экспериментальных и расчетных частот позволяет усилить надежность интерпретации экспериментальных данных.

## ВЫВОДЫ

Впервые методом ИК-Фурье спектроскопии матричной изоляции изучены валентные колебания пиримидинового кольца  $\nu_{\text{C5H}}$ ,  $\nu_{\text{C6H}}$  и метильной группы 1-метил-урацила, имеющие очень слабую интенсивность.

Установлено, что Ферми резонанс вызывает расщепление полос колебаний  $\nu_{\text{C5H}}$ ,  $\nu_{\text{NH}}$  и метильной группы в спектрах изолированных молекул 1-метил-урацила.

Сравнение экспериментальных и расчетных спектров показало хорошее совпадение отношений экспериментальных и расчетных интенсивностей валентных колебаний  $\nu_{\text{NH}}$  и  $\nu_{\text{CH}}$ . Наилучшее согласование с экспериментом получено для метода HF/3-21G(p).

Впервые получены экспериментальные данные о принадлежности полосы  $3462 \text{ cm}^{-1}$  к обертону колебания  $\nu_{\text{C2O}}$ .

## 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. M.Szczesniak, M.J. Nowak, K.Szczepaniak S.Chin, I.Scott and W.B.Person // Spectrochimica acta A, 41A, 1985, p. 223-235
4. M.Szczesniak, M.J. Nowak, K.Szczepaniak and W.B.Person // Spectrochimica acta A, 41A, 1985, p. 237-250
5. M.Graindourze, J.Smets, Th.Zeegers-Huyskens and G.Maes // J.Mol.Struct. 222, (1998), p. 345-364.
6. M.J. Nowak, L.Lapinski, D.C. Bienko, D.Michalska // Spectrochimica acta A, 53, 1997, p. 855-865
7. K. Szczepaniak, W.B. Person, J.Leszczynski, and J.S.Kwiatkowski. // Polish J. Chem., 72, (1998), p. 402-420
8. S.A.Krasnokutski, A.Yu.Ivanov, V. Izvekov, G.G.Sheina and Yu.P.Blagoi // XXIV European Congress on Molecular Spectroscopy, Prague, Czech Republic, 1998, p. 470.
9. S.A. Krasnokuski, A.Yu. Ivanov, V. Izvekov, G.G. Sheina, Yu.P. Blagoi // J.Mol.Struct. 482-483, (1998), p. 249-252.
10. A.Yu.Ivanov, A.M. Plokhotnichenko, E.D. Radchenko, G.G. Sheina, Yu.P. Blagoi, J.Mol.Struct. 372 (1995) 91-100.
11. Yu. Ivanov, G. Sheina, Yu.P. Blagoi // Spectrochimica acta A 55 (1999) p. 219-228.
12. Криокристаллы, ред. Б.И.Веркин, А.Ф.Прихотько / Наукова Думка, Киев, 1984, стр. 374
13. M.W.Schmidt, K.K.Baldrige, 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/games/index.html>
15. S. Coussan, Y. Bouteiller, A.Loutellier, J.P. Perchard, S. Racine, A. Peremans, W.Q.Zheng, A. Tadjeddine, // Chem. Phys. 219, 1997, pp. 221-234
16. Лисица М.П. и Яремко А.М., Ферми резонанс / Наукова Думка, Киев, 1984
17. J.J. Barchi Jr., L.-S. Jeong, M.A. Siddiqui, V.E. Marquez // J. Biochem. Biophys. Methods 34, (1997) p.11-29.
18. P.Pulay, G.Fogarasi, X.Zhou and P.W. Taylor // Vibrational Spectroscopy 1, (1990) p.159-165
19. M.J. Nowak, L.Les and L.Adamowicz Trends in Physical Chemistry // 4, 1994, p. 137-168
20. A.Les, L.Adamowicz, M.J. Nowak, L. Lapinski, // Spectrochimica Acta, 48A, 10, (1992), p.1385-1395
21. Yamaguchi Y., Frisch M., Gaw J., Schaefer III H.F., Binkley J.S. // J. Chem. Phys. 84(4), 1986 p. 2262-2278