

УДК 577.3

ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИНОМИАЛЬНОЙ КОРРЕКЦИИ РАСЧЕТНЫХ ЧАСТОТ ДЛЯ АНАЛИЗА КОЛЕБАТЕЛЬНЫХ СПЕКТРОВ МОЛЕКУЛ УРАЦИЛА И 2-ДЕЗОКСИУРИДИНА, ИЗОЛИРОВАННЫХ В НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫХ МАТРИЦАХ АРГОНА**А.Ю. Иванов***Физико-технический институт низких температур им. Б.И. Веркина НАН Украины, 61103, Харьков, пр. Ленина, 47*

Поступила в редакцию 17 апреля 2013 года

Принята 15 мая 2013 года

В диапазоне 2500-400 cm^{-1} с разрешением 0.3 cm^{-1} получены ИК-Фурье спектры молекул урацила и 2-дезоксисуридина (dU), изолированных в низкотемпературных матрицах Ar. Квантово-механическим методом DFT/B3LYP проведены расчеты колебательных спектров основных изомеров этих молекул. Показано, что применение базиса 6-311++G(df,pd) обеспечивает наилучшее согласование расчетного спектра с экспериментом. Для коррекции частот расчетных колебательных спектров dU предложено использовать полином, оптимизированный методом наименьших квадратов для спектров урацила. Установлено, что в отличие от спектра урацила расщепление полос поглощения в области ν_{CO} спектра dU связано не с резонансом Ферми, а с присутствием нескольких конформеров.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Нуклеозиды, ИК-Фурье спектроскопия, матричная изоляция, резонанс Ферми.

ЗАСТОСУВАННЯ ПОЛІНОМІАЛЬНОЇ КОРЕКЦІЇ РОЗРАХУНКОВИХ ЧАСТОТ ДЛЯ АНАЛІЗУ КОЛІВАЛЬНИХ СПЕКТРІВ МОЛЕКУЛ УРАЦИЛУ ТА 2-ДЕЗОКСИУРИДИНУ, ІЗОЛЬОВАНИХ У НИЗЬКОТЕМПЕРАТУРНИХ МАТРИЦЯХ АРГОНУ**О.Ю. Иванов**

Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б.І. Веркіна НАН України, 61103, Харків, пр. Леніна, 47. У діапазоні 2500-400 cm^{-1} з розділенням 0.3 cm^{-1} отримані ІЧ-Фур'є спектри молекул урацилу та 2-дезоксисуридину (dU), ізолюваних у низькотемпературних матрицях Ar. Квантово-механічним методам DFT/B3LYP проведені розрахунки коливальних спектрів основних ізомерів цих молекул. Показано що використання базису 6-311++G(df,pd) забезпечує найліпше узгодження розрахункового спектру з експериментом. Для корегування частот розрахункових коливальних спектрів dU запропоновано використовувати поліном, оптимізований методом найменших квадратів для спектрів урацилу. Встановлено, що на відміну від спектрів урацилу, розщеплення смуг поглинання в області ν_{CO} спектру dU пов'язане не з резонансом Фермі, а з присутністю кількох конформерів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: Нуклеозиди, ІЧ-Фур'є спектроскопія, матрична ізоляція, резонанс Фермі.

THE USING OF THE POLYNOMIAL CORRECTION OF CALCULATED FREQUENCIES FOR THE ANALYSIS OF THE VIBRATIONAL SPECTRA OF URACIL AND 2-DEOXYURIDINE MOLECULES ISOLATED IN THE LOW TEMPERATURE ARGON MATRICES**A.YU. Ivanov***B. Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine 47 Lenin Ave., Kharkov 61103, Ukraine*

The FT-IR spectra of uracil and 2-deoxyuridine (dU) molecules isolated in low temperature Ar matrices were obtained in the range of 2400-400 cm^{-1} with resolution 0.3 cm^{-1} . The vibrational spectra of the main conformers of these molecules were calculated by quantum-mechanical method DFT/B3LYP. It was shown that the basis set 6-311++G (df, pd) to give the best agreement of the calculated spectrum with experiment. The polynomial with least square optimization for uracil have been proposed for the correction of the frequencies of vibrational spectra of dU. It was established that unlike of the uracil spectra in the ν_{CO} region the splitting of ν_{CO} absorption bands of dU are related to the conformers superposition rather than Fermi resonance.

KEY WORDS: Nucleosides, FTIR spectroscopy, matrix isolation, Fermi resonance.

Строение биологических молекул в изолированном состоянии является областью применения самых современных методов исследования [1-7]. Для создания условий свободных от сильных межмолекулярных взаимодействий применяют низкотемпературные спектральные методы, использующие сверхзвуковые пучки инертных газов [1, 2], наноматрицы сверхтекучего ^4He [3], или классические методы матричной изоляции в пленках инертных газов [4, 5]. В частности методом ИК-Фурье спектроскопии матричной изоляции изучали структуру нуклеозида 2-дезоксисуридина (dU) [6-8]. Особенности строения dU являются четыре оси вращения отдельных групп молекулы и нежесткая структура рибозного кольца (Рис. 1). Поэтому квантово-химические расчеты предсказывают для dU существование более 90 конформационных изомеров в газовой фазе [9]. В низкотемпературных матрицах фиксируются значительно меньше конформаций, поскольку процессе охлаждения молекул в матрице конформации с высотой барьера $< 8-10$ кДж/моль переходят в более выгодные структуры [5, 7, 8].

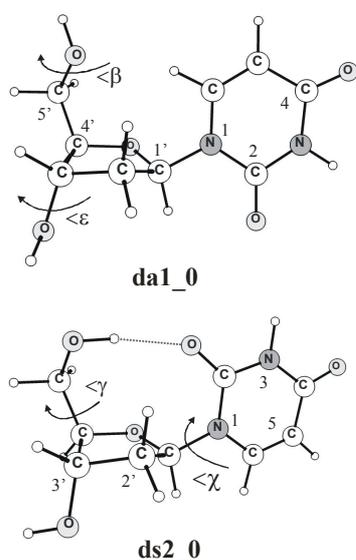


Рис. 1 Торсионные углы, нумерация атомов и структура конформационных изомеров 2-дезоксисуридина: *анти*-конформер da1_0 и *син*-конформер ds2_0.

Однако даже для низкотемпературной спектроскопии анализ колебательных спектров нуклеозидов является сложной задачей, особенно в области насыщенной полосами поглощения конформеров: $1800-500\text{ см}^{-1}$. Для сравнения расчетных и экспериментальных колебательных спектров необходима оптимальная коррекция расчетных частот. В данной работе предложен метод создания корректирующей функции с помощью колебательного спектра соответствующего нуклеозиду основания ДНК.

МЕТОДЫ ЭКСПЕРИМЕНТА И РАСЧЕТОВ

Подробное описание различных этапов эксперимента было сделано в ряде предыдущих работ [10-12]. ИК-Фурье спектры регистрировались в диапазоне $2500-400\text{ см}^{-1}$ с аподизированным разрешением 0.3 см^{-1} для урацила и 0.4 см^{-1} для 2-дезоксисуридина. Молекулярные потоки веществ (Sigma, чистота $> 99\%$) и инертных газов, а также концентрация веществ (matrix to sample ratio = M/S) измерялись с помощью низкотемпературных кварцевых микровесов [12]. В качестве подложки для осаждения аргоновых матриц использовалось плоское зеркало при температуре 10 К. Чистота инертного газа (Ar) превышала 99.99%.

Квантово-механические расчеты выполнялись с помощью программы Firefly (версия 7.1.F) [13], частично использующей код и алгоритмы программы GAMESS (US) [14]. Расчеты выполнялись на Core-Quad рабочей станции, а также Linux-грид-кластере ФТИНТ им. Б.И. Веркина. Для оптимизации молекулярных структур и расчета

колебательных спектров использовался метод теории функционала плотности DFT/B3LYP с базисными наборами aug-cc-pVDZ, aug-cc-pVTZ, 6-311++G(df,pd) для урацила и 6-311++G(df,pd) для 2-дезоксигуанидина. Названия торсионных углов C4'C5'O5'H (β), C3'C4'C5'O5' (γ), O4'C1'N1C2 (χ), C4'C3'O3'H' (ϵ) и расчет угла псевдотвращения рибозного кольца (P) соответствуют данным монографии Зенгера [15]. Синтез контуров полос поглощения расчетных колебательных спектров производился с помощью программы SYNSPEC [16].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Частично компенсировать сдвиги между расчетными и экспериментальными частотами, вызванные ангармонизмом колебаний и влиянием среды, позволяет корректирующий множитель λ ("scaling factor"). Ранее мы впервые предложили использовать для коррекции расчетных частот полином [17]:

$$\lambda(\nu) = \sum_{i=0}^M X_i \nu^i \quad (1)$$

Если ω_i – экспериментальная частота полосы поглощения, а ν_i – расчетная частота, то функцию среднеквадратичного рассогласования можно представить в виде:

$$S = \sum_i^N \left[\omega_i - \left(\sum_{k=0}^M X_k f_i^k \right) \nu_i \right]^2 \quad (2)$$

Поиск минимума в выражении 2 приводит к системе линейных уравнений [17]:

$$\sum_i^N \left[\omega_i - \sum_{k=0}^M X_k f_i^k \nu_i \right] (-f_i^j \nu_i) = 0 \quad (3)$$

Коэффициенты полинома X_i определялись путем численного решения системы линейных алгебраических уравнений (3) методом Гаусса [17].

Данный алгоритм был применен для колебательного спектра урацила, у которого в спектральном диапазоне 1800-500 cm^{-1} находятся полосы поглощения 22 нормальных

колебаний (Рис. 2А). Чтобы выбрать оптимальную степень полинома и метод расчета необходимо проанализировать статистические параметры рассогласования эксперимента и расчетов: среднеквадратичное отклонение $\delta_{rms} = [(\sum(\Delta_i - \Delta_m)^2)/N]^{1/2}$ и максимальное отклонение $\Delta_{max} = \max|\Delta_i - \Delta_m|$, где Δ_m – среднее отклонение по N частотам $\Delta_m = (\sum\Delta_i)/N$ (Таб. 1).

Рис. 2 Экспериментальные и расчетные колебательные спектры урацила в области 1800-500 cm^{-1} : А) -- Аг матрица (T = 10 К, M/S = 900); В) -- расчет методом DFT/B3LYP/6-311++G(df,pd) с коррекцией частот полиномом: $0.9626 + \nu*5.348E-5 - \nu^2 *2.633E-8$. Контурсы расчетных полос поглощения синтезированы программой SYNSPEC (функции Лоренца, ширина 2.5 и 0.9 cm^{-1}). С) -- оптимальные полиномы степени: 1 -M=0; 2- M=2; 3- M=3.

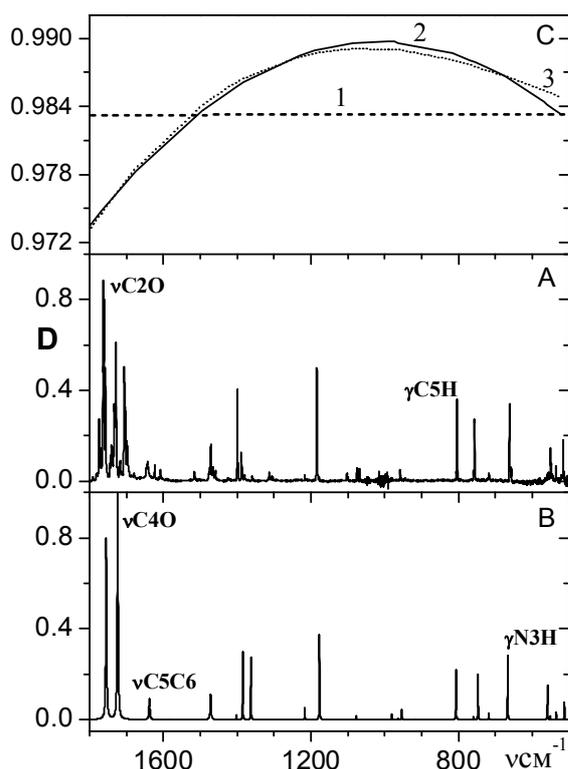


Таблица 1.

Статистические параметры рассогласования между экспериментальными частотами колебательного спектра молекул урацила, изолированных в матрицах Ar и расчетными частотами с полиномиальной коррекцией в диапазоне 1800-500 cm^{-1} .

Параметр	Δ_m (cm^{-1})	δ_{rms} (cm^{-1})	Δ_{max} (cm^{-1})	K
Метод расчета				
aug-cc-pVDZ M ^A =0	0.09	9.0	25.5	10
aug-cc-pVDZ M=2	0.12	7.3	23	7
aug-cc-pVTZ M=2	0.08	5.8	12.8	9
6-311++G(df,pd) M=0	1.32	7.7	23.5	5
6-311++G(df,pd) M=1	-0.44	5.8	12.4	5
6-311++G(df,pd) M=2	0.02	4.2	9.9	3
6-311++G(df,pd) M=3	0.001	4.2	10.2	3

^A - M степень полинома в уравнении 1.

$\delta_{\text{rms}} = [(\sum(\Delta_i - \Delta_m)^2)/N]^{1/2}$ - среднеквадратичное отклонение ;

Δ_m - среднее отклонение.

$\Delta_{\text{max}} = \max|\Delta_i - \Delta_m|$ - максимальное отклонение;

K – число полос с рассогласованием $|\Delta_i - \Delta_m| > 6 \text{ cm}^{-1}$.

Результаты коррекции, представленные в таблице 1, показывают, что замена фиксированного множителя λ на полином резко улучшает согласование расчетных частот с экспериментом. Разница между полиномом второй и третьей степени уже не является существенной (Таб. 1). Очевидно, что базис 6-311++G(df,pd) демонстрирует лучшую статистику, чем базис aug-cc-pVDZ и даже aug-cc-pVTZ (Таб. 1). Это полностью согласуется с полученными ранее данными для 5-бром урацила [17] и изоцитозина [18]. Важно, что применение базиса 6-311++G(df,pd) более чем в четыре раза уменьшает время компьютерного расчета по сравнению с aug-cc-pVTZ. Такое ускорение делает возможным расчет колебательных спектров нуклеозидов на персональных компьютерах методом DFT/B3LYP/6-311++G(df,pd).

Ранее было показано, что только шесть конформационных изомеров dU присутствуют в низкотемпературных матрицах [8]. Оценки заселенности этих конформеров, на основе ранее полученных данных [8], представлены в таблице 2.

В диапазоне 1800-500 cm^{-1} у dU находятся полосы поглощения 48 нормальных колебаний. Поскольку все шесть изомеров имеют близкую заселенность, в экспериментальном спектре мы получаем много перекрывающихся полос (Рис 3А). Поэтому для такого спектра сложно выбрать оптимальный полином по приведенному выше алгоритму.

Таблица 2.

Структурные параметры (характеристические углы) и заселенность основных конформеров 2'-дезоксисуридина в низкотемпературной матрице Ar.

Конформеры торсионные углы	da1_0	da1_4	da2_0	da3_0	ds1_1	ds2_0
$\langle P \rangle$	166	25	25	22	27	166
$\langle \chi \rangle$	-129	-133	-163	-166	68	62
$\langle \gamma \rangle$	52	65	-58	-69	179	44
$\langle \beta \rangle$	177	72	178	42	-57	64
$\langle \varepsilon \rangle$	174	-167	-55	-86	-160	-65
Заселенность в матрице %	34	34	4	10	3	15

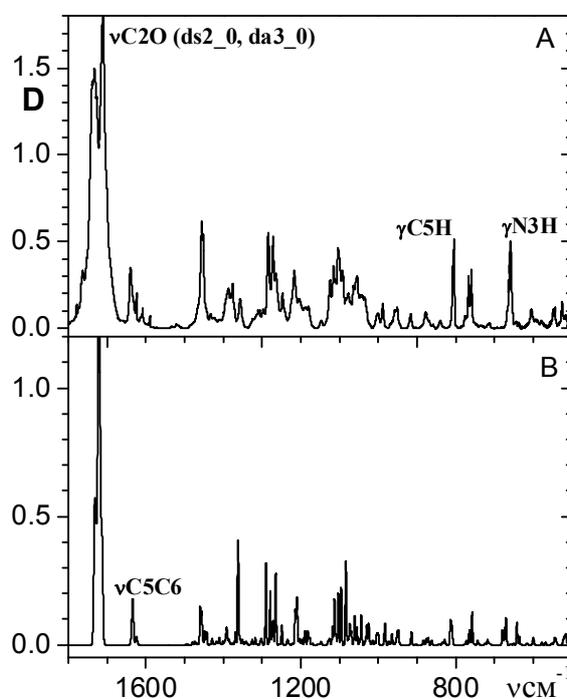


Рис. 3 Экспериментальные и расчетные колебательные спектры dU в области 1800-500 cm^{-1} : А) -- Ar матрица ($T = 10 \text{ K}$, $M/S = 700$); В) -- расчет методом DFT/B3LYP/6-311++G(df,pd) с коррекцией частот полиномом: $0.9626 + \nu * 5.348\text{E-}5 - \nu^2 * 2.633\text{E-}8$. Контуры расчетных полос поглощения синтезированы программой SYNSPEC (функции Гаусса, ширина 5.0 и 3.0 cm^{-1}).

Однако в качестве первого приближения можно взять полином, полученный для фрагмента нуклеозида, в данном случае это урацил. Возможность переноса полиномов между похожими молекулами была ранее продемонстрирована для 5-бром урацила и урацила [17]. Для коррекции частот расчетных колебательных спектров шести конформеров dU был выбран полином второй степени (Рис. 2С). После коррекции, синтезированные SYNSPEC спектры суммируются с учетом заселенности конформеров (Таб. 2). Результирующий спектр (Рис. 3В) хорошо согласуется с экспериментом. В этом спектре можно легко выделить полосы колебаний, принадлежащие основанию: νC5C6 , γC5H , γN3H (Рис. 3). В отличие от урацила [10] расщепление полос

поглощения в области ν_{CO} не связано с резонансом Ферми. В спектре dU низкочастотное плечо дублета относится к полосе поглощения ν_{C2O} конформеров $ds2_0$ и $da3_0$ (Рис. 3).

ВЫВОДЫ

Установлено, что метод DFT/B3LYP/6-311++G(df,pd) является оптимальным выбором для расчета колебательных спектров оснований нуклеиновых кислот и нуклеозидов. Кроме хорошего согласования с экспериментом, применение этого метода значительно уменьшает время компьютерных расчетов.

Показано, что применение немонотонной функции (полинома второй или третьей степени) для корректировки частот, полученных методом DFT/B3LYP/6-311++G(df,pd), уменьшить среднеквадратичное отклонение δ_{rms} между расчетом и экспериментом до $4\text{--}5\text{ см}^{-1}$.

Корректирующий полином, оптимизированный методом наименьших квадратов для основания ДНК можно использовать для коррекции частот колебательного спектра соответствующего нуклеозида.

Работа выполнена при финансовой поддержке Национальной академии наук Украины (грант №0110U007895), а также Государственного фонда фундаментальных исследований Украины (грант N 54.1/044). Автор благодарит А.М. Плохотниченко, С.Г. Степаньяна за полезные советы, и Л.Ф. Белоуса за помощь в проведении расчетов на ГРИД-кластере Физико-технического института низких температур им. Б.И. Веркина НАН Украины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Molecular physics of building blocks of life under isolated or defined conditions / R. Weinkauff, J.-P. Schermann, M. S. de Vries, K. Kleinermaans // *Eur. Phys. J. D.* – 2002. – V. 20. – P. 309–316.
2. van Zundert, G.C.P. IR spectroscopy of isolated neutral and protonated adenine and 9-methyladenine / G. C. P. van Zundert, S. Jaesq, G. Berden [et al.] // *ChemPhysChem.* – 2011. – V. 12. – P. 1921–1927.
3. Choi M. Y. Infrared laser spectroscopy of uracil and thymine in helium nanodroplets: vibrational transition moment angle study/ M. Y. Choi, R. E. Miller // *J. Phys. Chem. A.* – 2007. – V. 111. – P. 2475–2779.
4. First observation of infrared and UV–visible absorption spectra of adenine radical in low-temperature argon matrices / S. Iizumi, S. Ninomiya, M. Sekine, M. Nakata // *J. Mol. Struct.* – 2012. – V. 1025. – P. 43–47.
5. Stepanian S. G. Conformational composition of neutral leucine. Matrix isolation infrared and ab initio study / S. G. Stepanian, A. Yu. Ivanov, L. Adamowicz // *Chemical Physics.* - 2013. – V. 423. – P. 20–29.
6. Conformational structures and vibrational spectra of isolated pyrimidine nucleosides: Fourier transform infrared matrix isolation study of 2'-deoxyuridine / A. Yu. Ivanov, S. A. Krasnokutski, G. Sheina, Yu. P. Blagoi // *Spectrochimica Acta A.* – 2003. – V. 59. – P. 1959–1973.
7. Ivanov A. Yu. FTIR spectra and conformations of 2'-deoxyuridine in Kr matrices / A. Yu. Ivanov, V. A. Karachevtsev // *Low Temp. Phys.* – 2007. – V. 33. – P. 590–594.
8. Ivanov A. Yu. The peculiarities of conformational structures of 2-deoxyuridine isolated in the low-temperature matrices of Ar and Kr / A. Yu. Ivanov // *Low Temp. Phys.* – 2008. – V. 34. – P. 762–769.
9. Жураківський Р.О. Вичерпний конфірмаційний аналіз 2'-дезоксиридину квантово-хімічним методом функціоналу густини / Р. О. Жураківський, Д. М. Говорун // *Біополімери і клітина.* – 2006. – Т. 22. – С. 384–389. /Zhurakiv's'kyj R.O. Vycherpnij konfirmacijnij analiz 2'-dezoksyurydynu kvantovo-himichnym metodom funkcionalu gustyny / R. O. Zhurakiv's'kyj, D. M. Govorun // *Biopolimery i klityna.* – 2006. – Т. 22. – С.384–389./
10. FTIR spectroscopy of uracil derivatives isolated in Kr, Ar and Ne matrices: matrix effect and Fermi resonance / A. Yu. Ivanov, A. M. Plokhotnichenko, E. D. Radchenko [et al.] // *J. Mol. Struct.* - 1995. - V. 372. - P. 91–100.
11. Kovacs A. Vibrational analysis of α -D-glucose trapped in Ar matrix / A. Kovacs, A. Yu. Ivanov // *J. Phys. Chem. B.* – 2009. – V. 113 – P. 2151–2159.
12. Ivanov A. Yu. A low-temperature quartz microbalance / A. Yu. Ivanov, A. M. Plokhotnichenko // *Instr. Experim. Techn.* – 2009. – V. 52. – P. 308–311.

13. Granovsky A. A. Firefly, version 7.1G / A. A. Granovsky - <http://classic.-chem.msu.su/gran/firefly/index.html>, 2009.
14. General atomic and molecular electronic structure system / M. W. Schmidt, K. K. Baldrige, J. A. Boatz [et al.] // *J. Comput. Chem.* – 1993. – V. 14. – P. 1347–1363.
15. Saenger W. Principles of nucleic acids structure / W. Saenger - Springer-Verlag, New York, 1984. - 584 p.
16. Irikura K. Program SYNSPEC / K. Irikura -National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899, USA, 1995.
17. Fermi resonance in Ne, Ar and Kr-matrix infrared spectra of 5-bromouracil / A. Yu. Ivanov, Yu. V. Rubin S. A. Egupov [et al.] // *Low Temp. Phys.* – 2013. – V. 39. – P. 704–711.
18. Ivanov A. Yu. Tautomeric transitions of isocytosine isolated in argon and neon matrices induced by UV irradiation / A. Yu. Ivanov, S. G. Stepanian, L. Adamowicz // *J. Mol. Struct.* – 2012 – V. 1025 – P. 92–104.