

ИЗУЧЕНИЕ РЕДКИХ ТАУТОМЕРОВ 6-ТИОГУАНИНА

Ю.В. Рубин

Физико-технический институт низких температур им. Б.И. Веркина НАН Украины, 310164 Харьков, пр. Ленина, 47.

Статья поступила 28 января 1999 г.

С помощью экспериментальных (УФ-абсорбционная и люминесцентная спектроскопия) и теоретического (метод CNDO/S) методов проведено изучение редких таутомеров 6-тиогуанина. Проведенные исследования показали, что спектры УФ поглощения и люминесценции N7H-таутомера тионной формы 6SG смещены в длинноволновую область относительно спектров N9H-таутомера. Предложена последовательность электронно-возбужденных состояний N7H таутомера. Проведенные исследования также показали, что спектр УФ поглощения SH-таутомера 6SG должен быть смещен в коротковолновую область относительно спектров тионных форм.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: УФ спектроскопия, квантово-химические расчеты, 6-тиогуанин, таутомерия.

6-тиогуанин (6SG), который является серосодержащим аналогом гуанина, давно применяется как противоопухолевый препарат [1]. Известно, что 6-тиогуанин включается в ДНК [2]. Молекулярные механизмы его действия связывают, в частности, с образованием многочисленных метаболических блоков, а также с нарушением спаривания в комплементарных парах ДНК после метилирования 6SG в составе ДНК [2,3]. Известна лабильность молекулярной структуры 6SG: в газовой фазе он существует в виде SH-таутомера [4], в кристалле - в виде N7H-таутомера [5], в ДНК и воде - в виде N9H-таутомера [6]. Таутомерия 6-тиогуанина была предметом изучения в ряде теоретических работ [7,8]. Ранее нами было показано существование двух таутомеров 6SG в этанольных растворах [6].

Целью данной работы является подробное теоретическое и экспериментальное изучение спектроскопических свойств редких таутомеров 6-тиогуанина - N7H и SH - таутомеров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе изучали препараты 6-тиогуанина (6SG), 6-тиогуанозина (6SGR) и 10-метил-6-тиогуанозина (10Me6SGR), синтезированные в Институте органического синтеза Латвии. 6SGR моделировал N9H тионный таутомер 6SG, а 10Me6SGR моделировал SH- таутомер 6SG. Исследовали этанольные растворы 6-тиогуанина и 6-тиогуанозина с рН 6. Исследование 10Me6SGR проводили в водных растворах в диапазоне рН 1 - 7. Концентрация исследуемых веществ была 10^{-4} М. В диапазоне рН 1-7 было проведено спектрофотометрическое титрование 10Me6SGR, методика которого описана в работе [9]. Спектры УФ поглощения снимали, а спектрофотометрическое титрование проводили на спектрофотометре Spexord. Спектр УФ поглощения N7H-таутомера был получен вычитанием спектра 6SGR, моделировавшего N9H-таутомер, из спектра 6-тиогуанина с учетом сдвига спектра 6-тиогуанозина в длинноволновую область на 2 нм, как это имеет место для гуанина и 4-тиоурацила при присоединении рибозы [9,10]. Спектры люминесценции 6SG снимали на установке, описанной ранее [10], при температуре 77°К и при возбуждении $\lambda=365$ нм, т.е. в области длинноволнового плеча в спектре поглощения 6SG. Более подробно зависимость спектров люминесценции 6SG от длины волны возбуждающего света показана в работе [6]. С помощью полуэмпирического метода CNDO/S был проведен расчет сил осцилляторов и энергий электронно-возбужденных состояний трех таутомеров 6-тиогуанина и 10Me6SGR, а также зарядов на атомах и порядков связей в основном и возбужденных состояниях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные ранее нами исследования спектров УФ поглощения и люминесценции 6SG и 6SGR показали [6,12], что, хотя в водных растворах спектры поглощения 6SG и 6SGR подобны друг другу, спектры поглощения и люминесценции их этанольных растворов имеют некоторые различия. В частности, в спектре поглощения 6SG имеется длинноволновое плечо, отсутствующее у 6SGR. Наблюдаются также различия асимметрии и полуширин первых полос УФ поглощения 6SG и 6SGR (спектр 6SG уширен по сравнению со спектром 6SGR). Спектры люминесценции 6SG и 6SGR также отличаются по форме спектров и количеству максимумов. Теоретический анализ этих различий

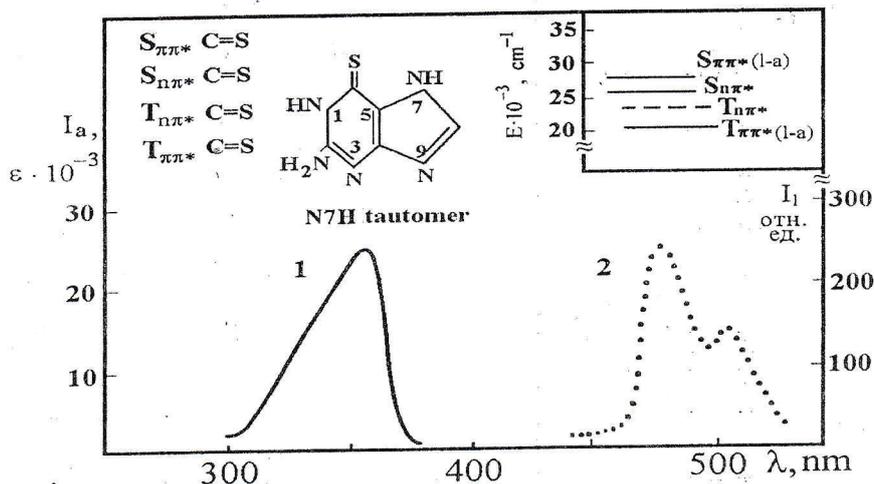


Рисунок 1. Спектры УФ поглощения (1) и фосфоресценции (2) N7H-таутомера. Вверху слева- локализация возбуждения, справа- диаграмма возбужденных состояний N7H-таутомера

показал [6], что наблюдаемые различия в спектрах 6SG и 6SGR в этаноле обусловлены присутствием в этанольных растворах 6SG двух таутомеров: N7H и N9H-таутомеров. Нами также было показано, что в полярных растворителях 6SG и 6SGR существуют в тионных формах [6].

Представляет интерес более подробное исследование электронных спектров таутомеров 6SG. На рис.1 показаны спектры УФ поглощения и фосфоресценции N7H таутомера. В табл. 1 представлены результаты расчета электронно-возбужденных состояний различных таутомеров 6SG в сопоставлении с экспериментальными данными и данными для N9H-таутомера [6].

Как следует из теоретических расчетов и результатов эксперимента (табл.1), спектр УФ поглощения N7H-таутомера смещен в длинноволновую область относительно спектра N9H-таутомера. Спектр фосфоресценции N7H-таутомера (флуоресценция в его спектрах люминесценции отсутствует) также смещен в длинноволновую область относительно спектра фосфоресценции N9H таутомера [6], что согласуется с расчетом энергий $T_{\pi\pi^*}$ состояний этих таутомеров (табл. 1). Анализ электронной структуры N7H-таутомера в основном и нижних возбужденных состояниях (порядков связей, зарядов на атомах) позволяет заключить, что возбуждение в синглетных и триплетных состояниях $\pi\pi^*$ типа, а также в состояниях $\pi\pi^*$ типа локализовано на фрагменте C=S. Анализ элементов электронной структуры также позволяет сделать заключение, что интенсивная полоса УФ поглощения в области 354 нм является полосой внутримолекулярного переноса заряда (полосой I-a типа по классификации Каша [13]).

Расчет энергий электронно-возбужденных состояний N7H-таутомера показывает (табл. 1), что нижним по энергии синглетным состоянием должно быть состояние $\pi\pi^*$ типа, как и для N9H-таутомера, для которого существование $\pi\pi^*$ состояния было показано теоретически и обнаружено экспериментально [12]. О наличии нижнего по энергии синглетного состояния $\pi\pi^*$ типа свидетельствует также отсутствие флуоресценции в спектре люминесценции N7H-таутомера, что

Таблица 1. Рассчитанные (Рассч.) и экспериментальные (Эксп.) энергии электронно-возбужденных состояний (E) и силы осцилляторов (f) различных таутомерных форм 6SG.

Форма	E (S $\pi\pi^*$)		f	E $\pi\pi^*$	E (T $\pi\pi^*$)	
	Рассч. (эВ)	Эксп.(эВ,нм)			Рассч.(эВ)	Эксп.(эВ,нм)
N9H	3.81	3.65 (341)	0.49	3.15	2.87	2.71 (457)
N7H	3.76	3.51 (354)	0.49	3.25	2.80	2.59 (478)
10Me6SGR	4.04	3.98 (311)	0.23	4.96	3.53	-----
SH	4.76	-----	0.28	4.83	3.67	-----

Изучение редких таутомеров 6-тиогуанина

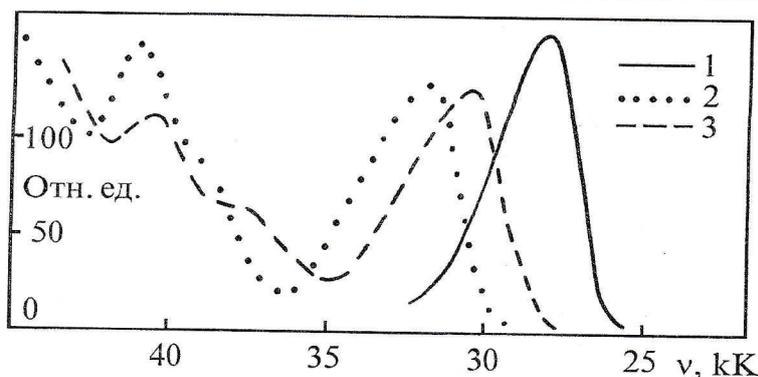


Рисунок 2. Спектры УФ поглощения: N7H-таутомера 6SG (1); нейтральной формы (2) и катиона (3) 10Me6SGR.

согласуется с правилом Каша [13]. Изложенный выше анализ типов электронных переходов в молекуле N7H-таутомера позволяет предложить последовательность возбужденных состояний этой молекулы: S^0 , $T_{пл}^*(l-a)$, $T_{пл}^*$, $S_{пл}^*$, $S_{пл}^*(l-a)$ (рис 1).

Как было сказано выше, 10Me6SGR является моделью SH-таутомера 6SG. Экспериментально этот таутомер в полярных растворителях не обнаруживается. Изучение электронно-возбужденных состояний 10Me6SGR представляет интерес, т.к. он образуется в ДНК при метилировании 6-тиогуанина [3].

На рис. 2 представлены спектры УФ поглощения нейтральной и катионной форм 10Me6SGR. 10 Me6SGR не способен образовывать анион в интервале pH 1 - 12. Как видно на рисунке, при переходе от нейтральной формы к катионной спектр УФ поглощения 10Me6SGR смещается в длинноволновую область, что характерно для катионов 6-тиогуанина и гуанина [9,12].

Сравнение положения максимумов спектров (рис.2) показывает, что спектр УФ поглощения 10Me6SGR смещен в коротковолновую область спектра относительно спектра УФ поглощения тионных форм 6-тиогуанина (N7H и N9H-таутомеров), что согласуется с результатами теоретических расчетов, приведенных в табл. 1. Сила осциллятора УФ поглощения 10Me6SGR ниже, чем у тионных таутомеров. Из табл. 1 следует, что $пл^*$ состояние 10Me6SGR расположено выше, чем синглетное состояние $пл^*$ типа. Таким образом расчет и экспериментальные исследования показывают, что спектральные характеристики SH-таутомера должны быть смещены в коротковолновую область относительно тионных форм.

ВЫВОДЫ

Теоретические и экспериментальные исследования показали, что спектры УФ поглощения и люминесценции N7H-таутомера тионной формы 6SG смещены в длинноволновую область относительно спектров N9H-таутомера. Последовательность электронно-возбужденных состояний N7H таутомера имеет вид: S^0 , $T_{пл}^*(l-a)$, $T_{пл}^*$, $S_{пл}^*$, $S_{пл}^*(l-a)$

Проведенные исследования показали, что спектр УФ поглощения SH-таутомера 6SG должен быть смещен в коротковолновую область относительно спектров тионных форм.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Химиотерапия злокачественных опухолей -Ред. Н.Н. Блохин - М.: Медицина - 1977.
2. Преображенская М.Н., Мельник С.Я. Аналоги компонентов нуклеиновых кислот - ингибиторы нуклеинового обмена // Итоги науки и техники: Сер. Биоорг. химия - М.: ВИНТИ - 1984 - Т. 1.
3. Waters T.R., Swann P.F. // Biochem. - 1997 - 36 - P. 2501-2506.
4. Szczepaniak K., Person W.B., Leszczynski J., Kwiatkowski J.S. // Adv. Biochem.- 1995 - 41- P. 300-312.
5. Bugg C.E., Thewalt U.J.//J. Am. Chem. Soc. - 1970 - 92 - P. 3520-3526.
6. Stewart M., Leszczynski J., Rubin Yu. V., Blagoi Yu.P. // J.Phys.Chem 1997, 101, P. 4753-4760
7. Leszczynski J. // J. Phys. Chem. - 1993 - 97 - P. 3520-3524.
8. Leszczynski J. // J. Mol. Struct. (Theochem) - 1994 - 311 -P. 37-45.
9. Морозов Ю.В. Бажулина Н.П. Электронное строение и реакционная способность молекул. 1989-М; Наука-288 с.
10. Rubin Yu.V., Savin F.A., Blagoy Yu.P. //Stud.Biophys.-1988-123, 3-p.205-215
11. Рубин Ю. В. // В кн Люмин. анализ в мед.-биол. исслед. - Рига РМИ 1983 -С.246-250
12. Rubin Yu.V., Vokovoy V.A., Blagoy Yu.P. // J.Fluorescence, 1995 - V. 5 - N3 - P. 263-272
13. Нурмухаметов Р.Н.Поглощение и люминесценция ароматических соединений.1971-М;Химия-216с.