

Коливальний спектр сангвінаріну і його інтерпретація квантово-механічним методом функціоналу густини

Н.В. Башмакова¹, С.Ю. Кутовий^{1*}, Р.О. Жураківський²,
Р.С. Савчук¹, В.В. Стрельчук³, Д.М. Говорун^{2,1}

¹ Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64, Київ, 01601, Україна

² Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03680, Україна

³ Інститут фізики напівпровідників імені В.Є. Лашкарьова НАН України
просп. Науки, 41, Київ, 03028, Україна

Резюме. За кімнатної температури отримано коливальні спектри (раманівський та інфрачервоного поглинання) мікрокристалічного хлориду сангвінаріну. Методом функціоналу густини на рівні теорії DFT B3LYP/6-311++G(d,p) розраховано коливальні спектри імінної й алканоламінної форм сангвінаріну. Інтерпретовано смуги коливань в області частот 600–1700 см⁻¹. Спостережено добру кореляцію між експериментальними і розрахованими частотами коливань.

Ключові слова: сангвінарін, коливальні спектри, DFT, інтеркалятори ДНК.

Вступ. Алкалоїд сангвінарін належить до групи бензофенантридинів. Препарати сангвінаріну проявляють бактерицидні, протизапальні, а також протипухлинні властивості. Проведено чимало фізичних експериментів, присвячених дослідженню взаємодії сангвінаріну з ДНК (див. огляд [1]). Взагалі алкалоїди ізохінолінового типу взаємодіють із ДНК або як інтеркалятори, або ж розміщуються в малій борозенці.

Встановлено, що у водних розчинах сангвінарін проявляє рН-залежну рівновагу між імінною (SaI) й алканоламінною (SaII) формами в діапазоні рН 1–6 і 8,5–11 відповідно [2]. Рівновага цих двох форм спостерігається в області значень рН~7–9 [3]. Така структурна варіабельність характерна для більшості бензо-

фенантридинових алкалоїдів: у кислому середовищі вони переважно знаходяться в позитивно зарядженій імінній формі, при великих рН відбувається перехід у нейтральну алканоламінну форму. Природний аналог сангвінаріну міститься, в основному, у рослинах, з яких його виділяють як солі дигідрохлориду.

Фізичні аспекти взаємодії сангвінаріну з В-ДНК досліджено в низці робіт. Так, показано, що реалізується інтеркаляційний механізм зв'язування сангвінаріну з ДНК [1, 3–5]. У роботі [4] зафіксовано утворення частково інтеркальованих у ДНК комплексів для обох форм сангвінаріну — імінної та алканоламінної. Цей висновок був заперечений результатами [2], з яких випливало, що з ДНК взаємодіє лише одна з форм — імінна, оскільки вона заряджена та пласка, на відміну від нейтральної, вигнутої алканоламінної форми.

У наших роботах [6, 7] методами оптичної спектроскопії показано, що з ДНК взаємодіють обидві форми сангвінаріну. На основі рівнянь

* Corresponding author.
Tel.: +38097-5957757
E-mail address: lns@univ.kiev.ua

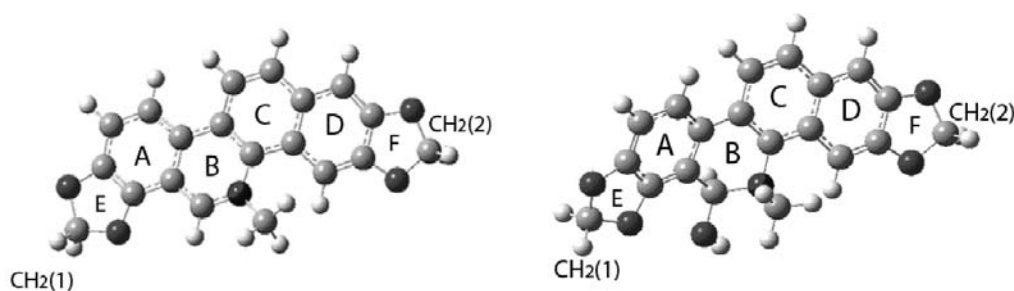


Рис. 1. Будова катіонної імінної та молекулярної алканоламінної форм сангвіарину (розрахунок на рівні теорії DFT B3LYP/6-311++G(d,p) у вакуумі).

МакГі-фон Хіппеля розраховано параметри зв'язування для обох форм.

Важливу інформацію про взаємодію сангвіарину з ДНК можна отримати з коливальних спектрів, проте методами коливальної спектроскопії сангвіарин досліджено лише частково, а спектрів суміші «ДНК—сангвіарин» у літературі не наведено взагалі. Спектри інфрачервоного поглинання (ІЧ) сангвіарину подано у [8] (частот коливань не наведено); у роботі [9] представлено експериментальний SERS-спектр сангвіарину в області 1000–1800 cm^{-1} , а також порівняльну таблицю основних експериментальних частот і відповідних частот, розрахованих методом DFT з використанням базисного набору 6-31G.

Наша робота є продовженням досліджень, проведених нами раніше для іншого ізохінолінового алкалоїду берберину [10]. У ній наведено експериментальні та розраховані методом DFT на рівні теорії B3LYP/6-311++G(d,p) коливальні (ІЧ-поглинання та раманівський) спектри сангвіарину, проведено їх інтерпретацію для актуальної з точки зору взаємодії з ДНК області 600–1700 cm^{-1} .

Методика реального й обчислювального експерименту. Структурні формули двох форм сангвіарину наведено на рис. 1.

Досліджували мікрочастиничний порошок сангвіарину (дигідрохлорид, 368 г/моль, Львівський університет імені Івана Франка). Оскільки довгохвильовий край поглинання сангвіарину лежить в області ~ 550 нм [6], то для реєстрації раманівського спектра використовували Ar-Kr-лазер ($\lambda=6471\text{\AA}$). Спектри збуджували у 180° -геометрії і реєстрували за допомогою потрібного раманівського спектрометра «Horiba Jobin-Yvon T-64000», обладнаного CCD-детектором. Використовували мето-

дику мікроманівського розсіяння. Спектральне розділення було близько 0,1 cm^{-1} . Для покращення співвідношення «сигнал/шум» застосовували режим накопичення сигналу (5 експозицій по 100 с). Спектральні виміри проводили в області частот 400–4000 cm^{-1} . Крім того, раманівські спектри досліджували за більш традиційною методикою розсіяння в 45° -геометрії на відбивання при збудженні He-Ne-лазером ($\lambda=6328\text{\AA}$) і реєстрацією в багатопрхідному режимі за допомогою подвійного монохроматора ДФС-24.

Спектри ІЧ-поглинання отримано з використанням Фур'є-спектрометра «Nicolet NEXUS-470». Застосовано методикою порушеного повного внутрішнього відбивання (ATR — Attenuated Total Reflectance) в режимі накопичення сигналу (128 сканувань). Спектральне розділення було не гірше 1 cm^{-1} . Виміри проводили в області 400–4000 cm^{-1} . Ураховано френелівські втрати на входних і вихідних поверхнях. Проведено корекцію, яка враховує залежність глибини проникнення світла в зразок від його довжини хвилі, згідно зі співвідношенням [11]:

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi n_s \sqrt{\sin^2 \theta - (n/n_s)^2}} \quad (1),$$

де n , n_s — показники заломлення призми (алмаз) і зразка відповідно, λ — довжина хвилі світла, θ — кут падіння світла на призму.

В окремих випадках експериментальні спектри для уточнення положення смуг, їхніх плечей і т.ін. обробляли з використанням програм «Origin» і «PeakFit».

Рівноважну геометричну структуру катіонної імінної (SaI) $[\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{NO}_4]^+$ і молекулярної алканоламінної (SaII) $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{NO}_4 \cdot \text{OH}$ форм сангвіарину отримано на рівні теорії DFT B3LYP/6-311++G(d,p) шляхом оптимізації без струк-

турних обмежень. На цьому ж рівні теорії розраховано в гармонічному наближенні його коливальні (ІЧ-поглинання і раманівський) спектри. Для квантово-механічних розрахунків використано програмний пакет «Gaussian03» [12]. Розрахунок показав, що обидві форми сангвінаріну — SaI і SaII — не є пласкими; відхилення від планарності невеликі і є дещо більшими для алканоламінної форми. Зокрема, зв'язок N-CH₃ розміщений практично перпендикулярно до площини молекули, відповідно, група CH₃ знаходиться повністю поза цією площиною. Проте ці відхилення, як уже показано, не заважають обом формам сангвінаріну інтеркалювати в подвійну спіраль ДНК.

Оскільки метод DFT зазвичай завищує значення частот, то для порівняння з експериментальними даними використано масштабний множник 0,9784, який забезпечує найкращу відповідність теорії з експериментом. Значення частот з урахуванням цього множника та їх інтерпретацію представлено в таблиці 1. Зазвичай більш подібні — як експериментальний, так і розрахований — раманівські спектри, за ними простіше визначити відповідність експериментальних та розрахованих частот, а отже, і масштабний множник. У нашому випадку інтенсивність раманівських смуг була надто незначною на фоні інтенсивної люмінесценції, тому масштабний множник було визначено за спектрами ІЧ-поглинання. Крім того, відомо, що при використанні програми «Gaussian» отримують значення раманівської активності S_i , а не інтенсивності I_i , тому для коректного порівняння розрахованих даних з експериментальними перші коригували за співвідношенням [13]:

$$I_i = \frac{C(v_0 - v_i)^4 S_i}{v_i [1 - \exp(-hc v_i / kT)]} \quad (2),$$

де C — константа, v_0 — частота лазерної лінії збудження, v_i — частота відповідної коливальної моди.

Значення частот і відносних інтенсивностей смуг розрахованих коливальних спектрів з урахуванням указаних поправок, експериментальні значення частот, а також детальну інтерпретацію коливань наведено в табл. 1.

Результати й обговорення. Унаслідок низької симетрії кристалів сангвінаріну в його коливальному спектрі вироджених коливань не-

має, відповідність між «кристалічними» і «молекулярними» модами досить однозначна. Найсуттєвіша відмінність між спектрами вільного та кристалічного сангвінаріну має проявитися лише в області дуже низьких частот (т.зв. зовнішні коливання). В області середніх і високих частот (внутрішні коливання) вплив кристалічної структури проявляється слабо, ним практично можна знехтувати.

Таким чином, порівняння експериментальних коливальних спектрів мікрокристалічного сангвінаріну з розрахованими спектрами катіону чи молекули сангвінаріну в області від 600 см⁻¹ і вище є достатньо коректним, що і підтвердив подальший аналіз. Експериментальні й розраховані раманівські спектри та спектри ІЧ-поглинання в області 600-1700 см⁻¹ наведено на рис. 2 і 3.

Значення частот коливань — експериментальні та розраховані з масштабним множником, а також їхню інтерпретацію наведено в таблиці. Найцікавішою є область 1200-1700 см⁻¹, оскільки в ній коливання сангвінаріну є найбільш інтенсивними, і саме в цій області ми очікуємо спостереження резонансної взаємодії коливань сангвінаріну та ДНК, як це було зафіксовано нами для водної суміші «берберин—ДНК» [14].

Розрахований спектр містить 111 (3·39-6) невироджених коливань катіону імінної форми або 117 (3·41-6) коливань молекули алканоламінної форми; близько 70 із них лежать в області 600-1700 см⁻¹ і близько 30 — у найбільш актуальній області 1200-1700 см⁻¹. Частоти до 400 см⁻¹ відповідають неплоским коливанням кілець та приєднаних до них груп, область 400-1000 см⁻¹ містить як неплоскі, так і плоскі коливання кілець, після 1000 см⁻¹ — лише плоскі коливання ароматичних кілець. Високочастотна область 3000-3300 см⁻¹ містить моди, що відповідають коливанням зв'язків C-H, із незначними зміщеннями інших атомів, переважно C.

Розрахований раманівський спектр імінної форми сангвінаріну містить лише одну дуже інтенсивну моду при 1341 см⁻¹, область інших досить інтенсивних коливань — 1300-1650 см⁻¹. Алканоламінна форма характеризується більшою кількістю (близько 10) інтенсивних смуг КРС, найінтенсивніша з них — мода при

Таблиця 1

Експериментальні і розраховані значення частот ω коливань та їх інтерпретація. Для розрахованих даних використано частотний масштабний множник 0,9784. Відносні інтенсивності I розрахованих раманієвських смуг скориговані згідно зі співвідношенням (2), експериментальні інтенсивності смуг ν -поглинання — з урахуванням (1)

ω , розрахунок	ω , розрахунок з кор. 0,9784		$I_{\text{пр}}$, потг		$I_{\text{рам}}$, потг		ω IR експ	ω Ram експ	ω SERS експ	Інтерпретація	
	SaI	SaII	SaI	SaII	SaI	SaII					
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
617	628	604	614	0,1	0,1	vw	vw	610	612		$\nu(\text{CH}_3)^*$; неплощ. ν - δ всіх к.; гр. CH_3, CH_2 -жорст.*
651	648	637	634	0,1	0,2	vw	0,1	632	633		сильні площ. ν - δ всіх к.;
658	658	644	644	0,2	0,2	vw	0,3	639	-		неплощ. δ всіх к.;
663		649		0,1		vw	vw	648vw	649		неплощ. δ всіх к.; (CH_2) -нерух.
666		651			vw		vw	662	658		неплощ. δ всіх к.; непл. Н к.А,С.
686		671		0,2		0,2		672	676		площ. δ всіх к.;
704	712	688	696	vw	vw	vw	vw	691	690		неплощ. δ всіх к., сильні $\text{C}2=\text{C}3$;
721	721	706	706	0,1	vw	vw	vw				неплощ. δ всіх к.;
723		708		0,1		vw	vw	706п	710		сильні площ. δ всіх к.;
727		712		0,1		0,1	0,1				неплощ. δ к.Е,А,В; площ. δ к.С,D,F; (712-сильні Е, 717-F);
733		717		vw		vw	0,6	714	722		площ. δ всіх к., сильні $\delta(\text{O}-\text{CH}_2-\text{O})$; $\nu(\text{N}-\text{CH}_3)$;
752		736		vw		0,1	0,1	734	-		неплощ. δ к.А,В; площ. δ к.С,D,F,E; сильні $\delta(\text{O}-\text{CH}_2-\text{O})$;
764	758	747	742	vw	vw	vw	0,1	743	744		площ. δ всіх к.; сильні $\delta(\text{O}-\text{CH}_2-\text{O})$;
761		744			vw	vw	0,1	748п	-		площ. δ всіх к.;
766		749		vw		vw	vw	768	762		$\nu(\text{CH}_2)$; площ. δ всіх к., сильні к.С,D,F; $\nu(\text{N}-\text{CH}_3)$;
778	778	761	762	vw	vw	0,1	0,1	778	775		неплощ. δ всіх к.;
795		778			0,1		vw				неплощ. δ всіх к.;
808		791			0,3		0,5				неплощ. ν - δ всіх к.; непл.Н к.А,С,D.
812	812	801	795	0,3	0,5	vw	0,3	793п	794		дуже сл. $\nu(\text{CH}_3)$; дуже сл. непл. ν - δ всіх к.; непл. Н к.А,С,D.
822		804		0,1		0,2		-	-		площ. δ всіх к. (А,В-сильні);
828		811			0,3		0,1				площ. δ к.С,D,F; неплощ. ν - δ к.Е,А,D; непл. Н к.А,С,D.
832		814		0,4		vw	vw	811	810		дуже сл. $\nu(\text{CH}_3)$; дуже слабкі неплощ. ν - δ всіх к.; непл. Н к.А.
837		819		0,2		0,1		-	-		сл. $\nu(\text{CH}_3)$; слабкі площ. ν - δ к.А,В,Е,Ф; неплощ. ν - δ к.С,D; непл.Н к.D.
839		821			0,4		vw	-	-		$\nu(\text{CH}_3)$; непл. δ к.А,В; площ. ν - δ к.С,D,E,F; непл. Н к.А,С,D.
852		833		0,2		vw	vw	832	832		$\nu(\text{CH}_3)$; площ. δ к.А,В; неплощ. ν - δ к.С,D; сим. площ. ν к.Е,F(I), к.F(a); непл.Н к.D.
864		845		0,4		vw	vw	849п	845		$\nu(\text{CH}_3)$; площ. δ к.А,В,Е,Ф; непл. ν - δ к.С,D; непл. Н к.С,D.
875	868	856	850	0,4	0,3	0,1	0,1	858	852		$\nu(\text{CH}_3)$; площ. ν - δ к.А,В,Е,Ф; неплощ. ν - δ к.С,D; (876-слабкі всіх к.); непл.Н к.D.
881	890	862	870	0,8	1,1	vw	0,1	870п	862		площ. ν - δ всіх к.; сильні $\nu(\text{O}-\text{CH}_2-\text{O})(\text{I})$;
895		876		0,9		vw	vw	893	881		площ. ν - δ всіх к.; сильні $\nu(\text{O}-\text{CH}_2-\text{O})(\text{I})$;
911		891		0,5		vw	vw	906	887		$\nu(\text{CH}_3)$; площ. ν - δ к.А,В,Е,Ф; неплощ. ν - δ к.С,D; (876-слабкі всіх к.); непл.Н к.D.
927		907		0,1		0,1		906	906п		площ. ν - δ всіх к.; сильні $\nu(\text{O}-\text{CH}_2-\text{O})(\text{I})$;
936		916			vw		vw	-	917		$\nu(\text{CH}_3)$; слабкі непл. δ к.Е,А,В,С; непл. Н к.А
947	949	926	929	0,5	0,4	vw	vw	-	934		$\nu(\text{CH}_3)$; сильні площ. ν - δ всіх к.; $\nu(\text{O}-\text{CH}_2-\text{O})$, (930,935 – сильні); $\nu(\text{CH}_3-\text{N})$,
956		930	935	0,5	0,5	0,1	0,2	930с			

Продовження таблиці 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
961	941			vw		vw		-			дуже слабкі непл. δ всіх к., непл. Н к.А.
	964		943		0,6		vw		940		р(CH ₃); площ. ν-δ всіх к.;
984	970	963	949	vw	vw	vw	vw	967п	958		дуже слабкі непл. δ всіх к., непл.Н к.А,С.
1016	1010	994	988	0,2	0,2	0,1	0,1	997с	983		сильні площ. ν-δ всіх к.; ν(N-CH ₃)
1033	1034	1011	1012	0,4	0,4	vw	0,1	1018п	1015		сильні р(CH ₃); сильні площ. ν-δ всіх к.; ν(N-CH ₃).
1053	1057	1030	1034	3,0	3,1	vw	vw	1031	-	1108	слабкі р(CH ₃); сильні ν-δ (O-CH ₂ -O)(2); дуже слабкі площ. ν-δ всіх к.; пл. Н к.Д.
1065	1069	1042	1046	1,4	3,4	vw	vw	1042п	1040		р(CH ₃); f(CH ₂ (2)); сильні ν-δ (O-CH ₂ -O)(1); площ. ν-δ всіх к.; ν(N-CH ₃)
1092	1091	1068	1068	0,5	0,7	vw	0,2	1071			р(CH ₃); f(CH ₂); площ. ν-δ всіх к., сильні к.А,В(1068), С,Д(1091); ν(N-CH ₃), пл. Н к.А,Д.
	1115	1091	1091		1,2		0,1	1092п	1078		
1127	1126	1102	1101	0,1	0,4	0,1	0,3		-		δ(CH ₃); площ. ν-δ всіх к.; сильні р(CH ₂ (1), f(CH ₂)(2)); пл. Н всіх к.
11291	1145	1105	1120	0,2	0,3	vw	vw	1103п		1108	сильні р(CH ₂), (1)-1105, 1120, (2)-1106,1117; слабкі р(CH ₃); дуже слабкі площ. ν-δ всіх к.;
130	1142	1106	1117	0,1	0,2	vw	0,1		-		
1139		1114		0,1		0,1			1112		сильні р(CH ₃); дуже слабкі площ. ν-δ всіх к. та δ(C-H) всіх к.;
1144	1148	1119	1123	1,5	0,2	0,1	vw	1119с	-		рδ(CH ₃); р(CH ₂)(1), f(CH ₂)(2); площ. ν-δ всіх к.;
	1151		1126		0,4		0,1		1135		р(CH ₃); р(CH ₂)(1), f(CH ₂)(2); площ. ν-δ всіх к.; пл.Н к.А,С,Д.
1173	1171	1147	1146	0,5	1,2	0,1	vw	1146	1152	1141	р(CH ₃); f(CH ₂); площ. ν-δ всіх к.; пл.Н к.А,С,Д.
	1191		1165		0,7		0,1		-		рδ(CH ₃); τ(CH ₂)(1); площ. ν-δ всіх к.; пл.Н к.С,Д
1200		1174		0,6		0,1					τ(CH ₂) (1) - сильні, (2)-слабкі;
1201		1175		vw		vw			1173		τ(CH ₂) (2) - сильні, (1)-слабкі.
1203	1203	1177	1177	0,4	1,4	0,1	0,2		II		р(CH ₃); сильні τ(CH ₂): (1)(1), (2)(а); площ. ν-δ всіх к.; пл.Н к.А,С,Д.
1210			1184		0,3		0,7		-	1181	τ(CH ₂), сильне (2)-1210, (1)-1216; площ. ν-δ всіх к.; пл.Н к.А,С,Д.
1216			1190		0,3		vw		-		р(CH ₃); τ(CH ₂) (1), f(CH ₂) (2); площ. ν-δ всіх к.; пл.Н к.А,В,С,Д.
1212		1186		0,6		0,1			1191		τ(CH ₂); площ. ν-δ всіх к.; пл.Н к.А,В,С,Д.
	1224		1198		0,3		1,2		-		слабкі р(CH ₃); f(CH ₂); площ. ν-δ всіх к.; ν(N-CH ₃); пл.Н к.А,С,Д;
1232		1206		0,6		0,1		1205с	-		р(CH ₃); τ(CH ₂); площ. ν-δ всіх к. (А,В-дуже слабкі); пл.Н к.В,С;
	1246		1219		0,4		0,1		-		р(CH ₃); τ(CH ₂)(2); площ. ν-δ всіх к.; пл.Н к.С,Д;
				0,1		vw		1228п	1226		и(CH ₃); f(CH ₂)(2); площ. ν-δ всіх к.; пл.Н к.А,С,Д;
1253		1226							1237	1234	р(CH ₃); слабкі f(CH ₂ (1)); площ. ν-δ к. А,В; к. D та (CH ₂)(2)-нерух.; непл.Н к.В
	1264		1237		0,4		1,2		-		слабкі δ(CH ₃), слабкі f(CH ₂ (1)), δ(CH ₂)(2); площ. ν-δ всіх к.; пл.Н к.А,С,Д.
1269			1242		10		0,1		-		слабкі и(CH ₃), слабкі f(CH ₂); ν(N=CH ₃); площ. ν-δ всіх к.; пл.Н всіх к.
1273			1246		2,7		0,1		-		слабкі δ(CH ₃), слабкі f(CH ₂); ν(N=CH ₃); площ. ν-δ всіх к.; пл. Н к.А-Д.
				1,2		0,1		1256с	-		слабкі δ(CH ₃), слабкі f(CH ₂); ν(N=CH ₃); площ. ν-δ всіх к.; пл.Н к.А,С,Д
1281		1254		5,5		vw			1264		слабкі δ(CH ₃), слабкі f(CH ₂); ν(N=CH ₃); площ. ν-δ всіх к., к.В-сильні; пл.Н к.А,С,Д
1290		1262				vw		1263п	1264		слабкі δ(CH ₃), слабкі f(CH ₂); ν(N=CH ₃); площ. ν-δ всіх к.; к.С,Д-сильні; пл.Н к.А,С,Д
	1292		1264		0,8		4,6		1278	1284	слабкі р(CH ₃), f(CH ₂); ν(N=CH ₃); площ. ν-δ всіх к., к.С,Д-сильні; пл.Н к.А,С,Д
1309		1281		3,5		0,1		1292	1282		слабкі δ(CH ₃); f(CH ₂); ν(N=CH ₃); площ. ν-δ всіх к.; к.С,Д-сильні; пл.Н к.А,С,Д
1321		1293		10		0,3			1305		слабкі δ(CH ₃); f(CH ₂ (1)), (CH ₂)(2)-нерух.; площ. ν-δ всіх к., к. А,В(сим.)-сильні; пл.Н к.А,В,Д.
								1325	1321		δ(CH ₃); f(CH ₂); площ. δ-ν всіх к.; к.В,С-сильні, пл.Н к.С.
1355	1351	1326	1321	0,5	vw	0,3	0,1				слабкі: р(CH ₃), f(CH ₂)(1), τ(CH ₂)(2); сильні площ. ν-δ всіх к.; пл.Н к.А,С,Д.
	1364		1334		0,1		3,7				δ(CH ₃), слабкі f(CH ₂); сильні площ. ν-δ всіх к.; пл.Н к.В,С;
1370		1341		0,1		10		1337	1338		

Проведення таблиці 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	1380		1350		0,4		10				слабкі $\delta(\text{CH}_3)$, слабкі $\delta(\text{CH}_2)(1)$ та $\delta(\text{CH}_2)(2)$; площ. ν - δ всіх к.; непл.Н к.В;
	1386		1356		0,4		4,7	1353	1353		$\delta(\text{CH}_3)$, $\delta(\text{CH}_2)(1)$; $(\text{CH}_2)(2)$ -нерух.; площ. ν - δ всіх к.; непл.Н к.В;
1396		1366		0,6		0,4		1367п			$\delta(\text{CH}_3)$; $\delta(\text{CH}_2)(1)$ -слабкі, $(\text{CH}_2)(2)$ -нерух.; площ. ν - δ всіх к.; пл.Н к.А,С,Д;
1402		1372		2,7		1,0		1376	1372		$\nu(\text{CH}_3)$, $\delta(\text{CH}_2)$; площ. ν - δ всіх к.; непл.Н к.В.
	1416		1386		0,3		0,1				слабкі $\nu(\text{CH}_3)$; $\delta(\text{CH}_2)(2)$ -сильні; площ. ν - δ всіх к.; пл.Н к.В,С,Д.
1422	1424	1392	1393	0,1	0,4	0,1	0,2	1393		1390	$\delta(\text{CH}_3)$, сильні $\delta(\text{CH}_2)$; слабкі площ. ν - δ всіх к.; пл.Н к.В.
1426	1430	1396	1399	0,3	0,4	1,1	0,2		1401		$\nu(\text{CH}_3)$, сильні $\delta(\text{CH}_2)$; слабкі площ. ν - δ всіх к.;
	1438		1407		0,2		1,5				$\nu(\text{CH}_3)$, $\delta(\text{CH}_2)$; площ. ν - δ всіх к.;
	1443		1412		0,3		0,5	1413с	1413	1414	сильні $\nu(\text{CH}_3)$, $\delta(\text{CH}_2)$; площ. ν - δ всіх к.
1443		1412		0,2		0,7					$\delta(\text{CH}_3)$, $\delta(\text{CH}_2)$ (1412-сильні(1), 1413-(2)); площ. ν - δ всіх к.; пл.Н к.С,Д
1444		1413		0,1		0,7					сильні $\nu(\text{CH}_3)$; $\delta(\text{CH}_2)(1)$, $\delta(\text{CH}_2)(2)$; площ. ν - δ всіх к. (а-сильніші);
1493	1485	1461	1453	0,7	0,9	0,3	1,7	1434п	1434		$\delta(\text{CH}_3)(i$ -сильні), $\delta(\text{CH}_2)$; площ. ν - δ всіх к.; пл.Н к.А,С.
1501		1468		3,8		0,2		1456п	1456	1457	сильні $\delta(\text{CH}_3)$, $\delta(\text{CH}_2)(1)$; слабкі $\delta(\text{CH}_2)(2)$; площ. ν - δ всіх к.; к.А-сильні, В,С,Д-сл.
1504	1491	1471	1459	1,9	3,1	0,2	0,1	1464с			сильні $\delta(\text{CH}_3)$, слабкі $\delta(\text{CH}_2)$; площ. ν - δ всіх к.; к.А-сильні, В,С,Д-сл.;
1514	1492	1481	1460	7,8	6,8	0,7	7,4	1470	1475		$\delta(\text{CH}_3)$, $\delta(\text{CH}_2)$; площ. ν - δ всіх к., к.Д- дуже сильні; пл.Н к.Д.
	1493		1461		2,3		0,4				
1522	1514	1489	1481	0,2	0,2	0,1	0,1				сильні $\delta(\text{CH}_3)$, слабкі (дуже слабкі для 1489,1481) $\delta(\text{CH}_2)$; слабкі площ. ν - δ всіх к.;
1540	1539	1507	1505	0,1	vw	0,1	0,4	1500b	1507		сильні $\delta(\text{CH}_2)(1)$, слабкі $\delta(\text{CH}_2)(2)$; дуже слабкі площ. ν - δ всіх к.;
1543	1538	1509	1504	0,7	0,1	0,3	0,1				слабкі $\delta(\text{CH}_2)(1)$, сильні $\delta(\text{CH}_2)(2)$; дуже слабкі площ. ν - δ всіх к.;
1551	1550	1518	1516	0,8	0,1	0,8	6,9	1519	-		$\nu(\text{CH}_3)$ (i-сильні), $\delta(\text{CH}_2)$, площ. ν - δ всіх к.; а. атом N нерухомий; пл.Н к.Д.
1576		1542		1,0		1,1		1544	1548	1540	$\nu(\text{CH}_3)$, $\delta(\text{CH}_2)(1)$, $\delta(\text{CH}_2)(2)$; площ. ν - δ всіх к.; пл.Н к.А,В,С.
1613	1619	1578		0,2		0,3					$\nu(\text{CH}_3)$, $\delta(\text{CH}_2)(1)$, сл. $\delta(\text{CH}_2)(2)$, сильні площ. ν - δ всіх к.; пл.Н к.А,С.
	1638	1602	1584	1,9	vw		9,7	1588	1582	1585	слабкі $\delta(\text{CH}_2)(1)$, $\delta(\text{CH}_2)(2)$, сильні площ. ν - δ всіх к.; пл.Н к.А,С.
	1641	1605	1605	0,4		vw		1606	1604	1604	$\nu(\text{CH}_3)$, слабкі $\delta(\text{CH}_2)(2)$, сильні площ. ν - δ всіх к.; пл.Н к.В.
	1649	1613		0,3		0,1					$\delta(\text{CH}_2)(1)$, $\delta(\text{CH}_2)(2)$, сильні площ. ν - δ всіх к., к.А-дуже сильні; пл.Н к.А
	1654	1618	1618	0,2			3,4	1621	1622		$\delta(\text{CH}_2)(1)$; площ. ν - δ всіх к., к.С,Д - сильні; А,В-сл.; пл.Н к.С,Д.
1665	1664	1629	1628	0,6	vw	0,1	5,2	1633п		1635	$\delta(\text{CH}_2)(1)$, площ. ν - δ всіх к., к. А - сильні; інші - слабкі; пл.Н к.А.
1670	1678	1634	1641	0,5	0,1	0,7	0,7	1642	1639		$\delta(\text{CH}_2)(2)$; площ. ν - δ всіх к., к. Д - сильні; інші - дуже сл.; пл.Н к.Д.

Примітка. У колонках 3 і 4 наведено відносну інтенсивність ліній (інтенсивність найбільш сильних смуг 1341 cm^{-1} (SaI) і 1350 cm^{-1} (SaI) в раманийському спектрі, 1293 cm^{-1} (SaI) і 1242 cm^{-1} (SaII) у спектрі ІЧ-поглинання прийнято за 10. Моді з відносною інтенсивністю, нижчою від 0,1, позначено як «vw» (дуже слабкі). Скорочення: с – смуга, п – плече смуги; к.А,В,С,Д,Е – кільця А,В,С,Д,Е відповідно; «слабкі» і «сильні» коливання – коливання з малою та великою амплітудою відповідно; площ. – площинні коливання – атоми коливаються в площинні молекули, не площ. (нел.) – атоми коливаються перпендикулярно до площини молекули; а, і – алканоламінна та імінна форми відповідно, v – валентні коливання, δ – деформційні (для CH_2 -груп – те ж, що і позначає коливання); τ – торсійні; ν - δ – частина атомів С у кільці реалізують ν -коливання, інші – δ ; для CH_2 -груп: f – віалові; p – маятникові (атоми коливаються в одній площині); для CH_3 -груп: u – парасолькові (симетричні δ -коливання); p – маятникові (атоми коливаються в паралельних площинах); для τ , f, p коливань зберігається жорсткість груп CH_3 , CH_2 , CH , C , N , O , S , P , Cl , Br , I (розр.) 1115 cm^{-1} включно зберігається жорсткість (CH_3) , (CH_2) груп; 2) * при цьому гр. CH_3 коливається як ціле, р(CH_3), хоча р-тип коливань обумовлений коливаннями зв'язку N- CH_3 ; при вищій частоті це «самостійне» коливання, тобто коливання, яке існує і за відсутності коливань зв'язку N- CH_3 ; у таблиці позначено лише самостійні коливання груп CH_3 , CH_2 ; 3) скорочення «пл.(нел.) Н к.Х.» означає наявність сильних площинних (нелінійних) коливань атомів Н кільця Х.

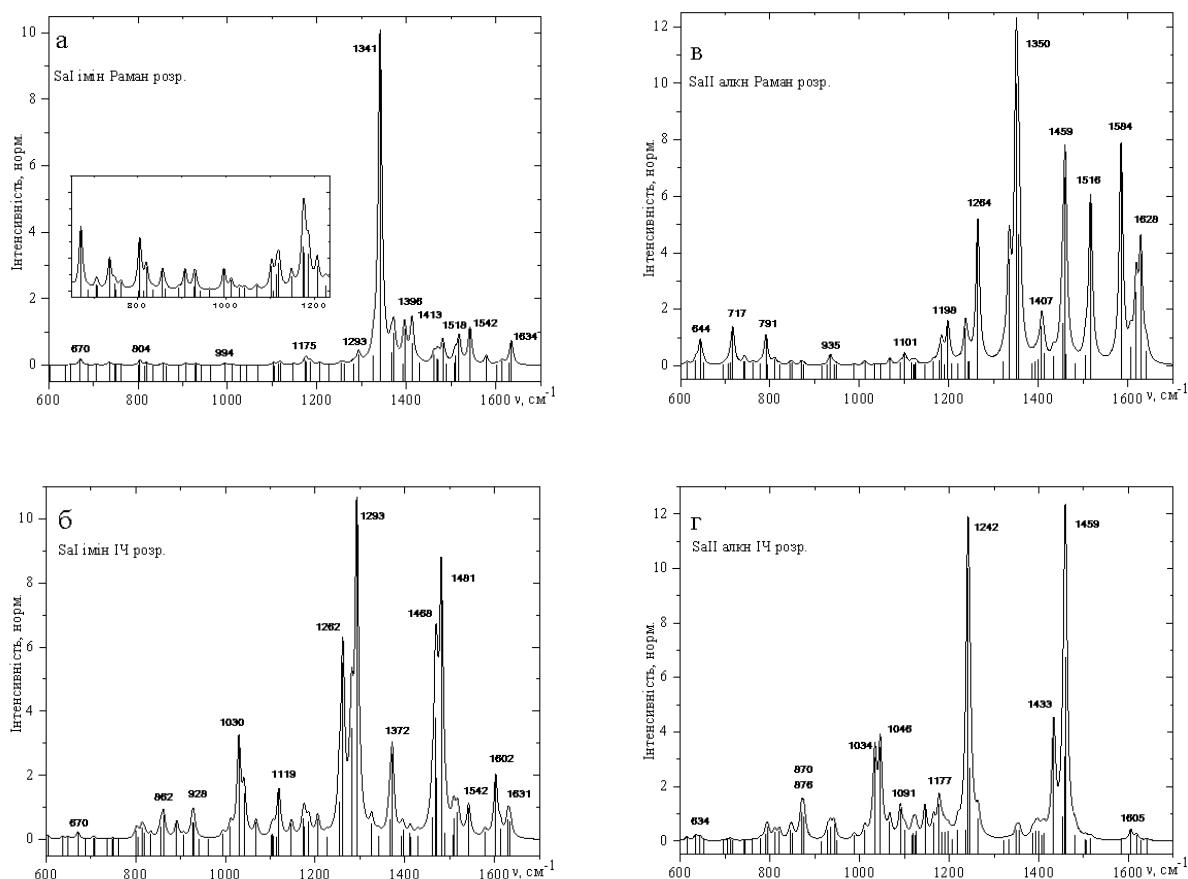


Рис. 2. Розраховані раманівські (а, в) спектри і спектри ІЧ-поглинання (б, г) імінної (а, б) та алканоламінної (в, г) форм сангвінаріну в області частот 600-1700 cm^{-1} . На вставці рис. (а) — фрагмент спектра в області слабкоінтенсивних коливань у збільшеному масштабі. Розрахунок методом DFT B3LYP/6-311++G(d,p).

1350 cm^{-1} , область відносно інтенсивних коливань також більша — 1150-1650 cm^{-1} . Це дуже добре відповідає експериментальному раманівському спектру (рис. 3а, вставка), в якому також, без додаткових обробок спектра, чітко проявляється лише одна інтенсивна смуга 1340-1363 cm^{-1} .

Експериментальні раманівські спектри сангвінаріну характеризуються дуже слабкою інтенсивністю розсіяння, тому в необробленому вигляді вони не придатні для детального аналізу та порівняння з розрахованими. Реєстрації спектрів заважала інтенсивна люмінесценція, на її фоні проявилися лише деякі найінтенсивніші смуги розсіяння, для них спостерігається відповідність між нашими даними і даними, отриманими за методикою SERS [9].

Аналіз експериментальних спектрів ускладнювався тією обставиною, що досліджуваний зразок сангвінаріну, як виявилось, є сумішшю двох форм. На рис. 3а наведено оброблений

за допомогою програм «Origin» та «PeakFit» (віднято фон, згладжено рівень шумів, проведено розклад на елементарні контури) раманівський спектр сангвінаріну (мікрокристалічний порошок) при збудженні лінією 6471А. Після такої обробки експериментальний спектр виявився придатним для порівняльного аналізу зі спектром, розрахованим методом DFT. Проте якщо положення більшості смуг визначено досить надійно, то їхні відносні інтенсивності — лише для найбільш інтенсивних смуг. На відносну інтенсивність смуг вплинула і необхідна в даному випадку процедура згладжування, у результаті чого інтенсивності вузьких інтенсивних смуг виявилися заниженими.

У цілому для раманівських спектрів у досліджуваній області (600-1700 cm^{-1}) спостерігається досить добра кореляція між розрахованими й експериментальними частотами коливань.

В експериментальному спектрі ІЧ-погли-

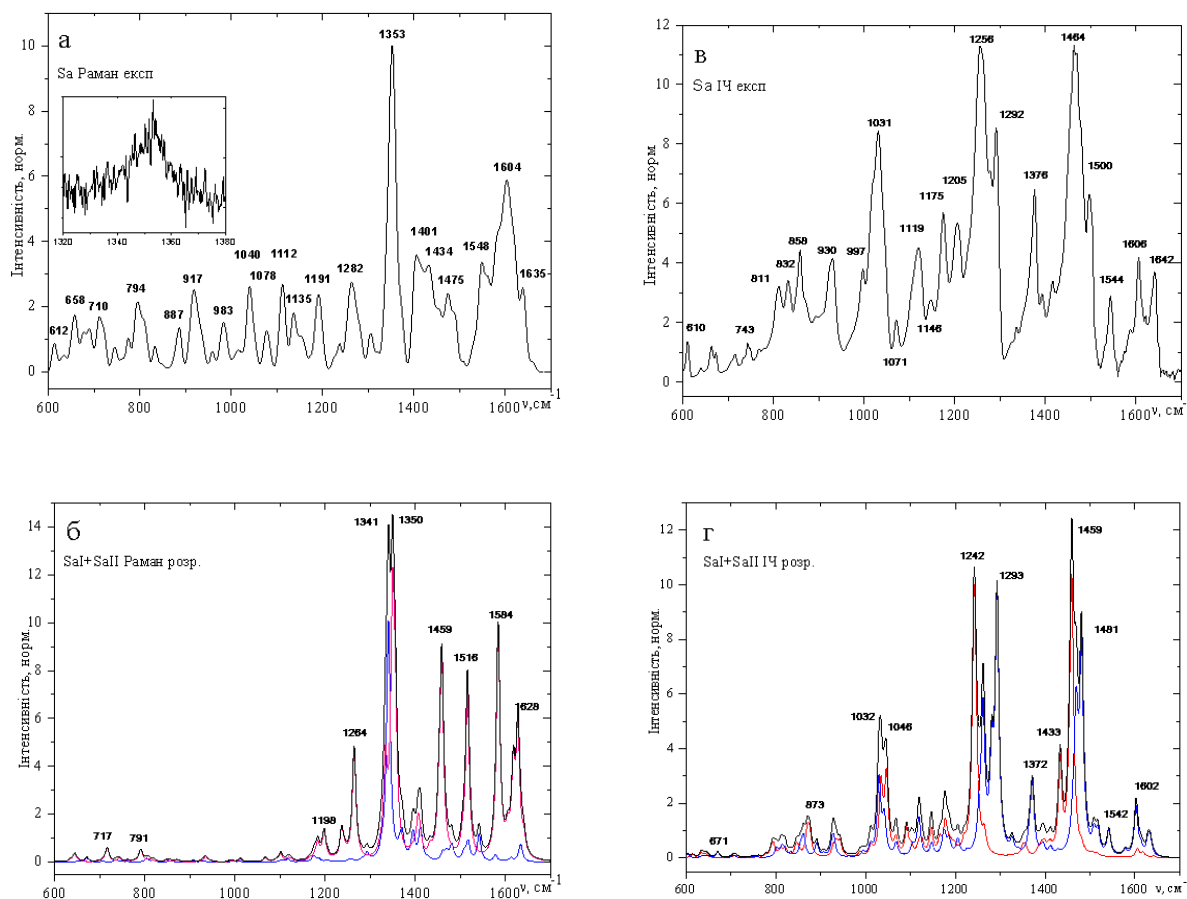


Рис. 3. Раманівський спектр сангвінарину в області частот 600-1700 см^{-1} : експериментальний (оброблений), $\lambda_{\text{exc}}=6471\text{A}$ (а), та розрахований (сумарний контур для двох форм, інтенсивності нормовані окремо, б). Розрахунок методом DFT B3LYP/6-311++G(d,p). На вставці рис. (а) — фрагмент необробленого спектра в області найбільш інтенсивних смуг 1341 та 1350 см^{-1} . Спектр ІЧ-поглинання сангвінарину в області частот 600-1700 см^{-1} : експериментальний (в) і розрахований (сумарний контур для двох форм, інтенсивності нормовані окремо, г). Розрахунок DFT B3LYP/6-311++G(d,p).

нання зареєстровано близько 70 коливальних мод різної інтенсивності в області 600-1700 см^{-1} (рис. 3в, табл. 1), спостерігається зовні дуже добра відповідність між нашими спектрами і спектрами, наведеними в роботі [8], де подано лише деякі значення частот. Має місце досить добра кореляція між розрахованим та експериментальним спектром за частотами, відповідність інтенсивності ліній дещо гірша.

Зазначимо, що деякі інтенсивні за розрахунком моди в експериментальних спектрах не проявились взагалі або ж мають дуже незначну інтенсивність. При цьому в спектрах і КРС, і ІЧ-поглинання проявлялись лінії нез'ясованого походження (напр., 1529, 1566 см^{-1}). Крім того, відмітимо, що, незважаючи на непогану відповідність коливальних частот двох форм сангвінарину, відповідність форм коли-

вань (типів зміщень) значно менша, ніж це можна було б очікувати від двох форм однієї речовини.

Висновки. Квантово-механічним методом на рівні теорії DFT B3LYP/6-311++G(d,p) розраховано коливальні (раманівський та ІЧ-поглинання) спектри двох форм сангвінарину. Результати розрахунків добре корелюють з експериментальними даними, отриманими для мікрочисталічного хлориду сангвінарину в актуальній з точки зору взаємодії сангвінарину з ДНК області частот 1200-1700 см^{-1} .

Автори вдячні Алексеєву С.О. за допомогу при отриманні спектрів ІЧ-поглинання, а також Заїці Л.А. (ІМБГ НАН України) за надані зразки.

Надійшла в редакцію 27.04.2012 р.

Vibrational spectra of sanguinarine and their interpretation by means of DFT quantum-mechanical calculations

N.V. Bashmakova¹, S.Yu. Kutovyy¹, R.O. Zhurakivsky², R.S. Savchuk¹, V.V. Strelchuk³, D.M. Hovorun^{2,1}

¹ National Taras Shevchenko University of Kyiv
64, Volodymyrska Str., Kyiv, 01601, Ukraine

² Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine
150, Zabolotno Str., Kyiv, 03680, Ukraine

³ V. Lashkaryov Institute of Semiconductor Physics, NAS of Ukraine
41, pr. Nauki, Kyiv, 03028, Ukraine

Summary. Experimental vibrational spectra (Raman and infrared absorption) of microcrystalline sanguinarine chloride were obtained at room temperature. Calculated vibrational spectra were received within DFT B3LYP/6-311++G(d,p) theory level for iminium and alkanolamine forms. Based on correlation between experimental and calculated data the vibrational spectrum was interpreted in detail in the frequency range of 600-1700 cm^{-1} . Experimental and calculated spectra of intramolecular vibrations were found to be closely correlated.

Keywords: sanguinarine, vibrational spectra, DFT, DNA intercalators.

Перелік літератури

1. Maiti M., Kumar G.S. Molecular aspects on the interaction of protoberberine, benzophenanthridine, and aristolochia group of alkaloids with nucleic acids structures and biological perspectives // *Medicinal Research Reviews*. — 2007. — 27. — P. 649-695.
2. Maiti M., Das S., Sen A. *et al.* Influence of DNA structures on the conversion of sanguinarine alkanolamine form to iminium form // *J. Biomol. Struct. Dyn.* — 2003. — 20, No. 3. — P. 455-464.
3. Urbanova J., Lubal P., Slaninova I. *et al.* Fluorescence properties of selected benzo[c]phenanthridine alkaloids and studies of their interaction with CT DNA // *Anal. Bioanal. Chem.* — 2009. — 394. — P. 997-1002.
4. Smekal E., Kubova N., Kleinwachter V. Interaction of benzophenanthridine alkaloid sanguinarine with DNA // *Stud. Biophys.* — 1984. — 114. — P. 125-132.
5. Saran A., Srivastava S., Coutinho E., Maiti M. ¹H NMR investigation of the interaction of berberine and sanguinarine with DNA // *Indian J. Biochem. Biophys.* — 1995. — 32. — P. 74-77.
6. Bashmakova N., Kutovyy S., Yashchuk V. *et al.* Optical spectroscopy studies of the interaction between a number of plant alkaloids and the DNA double helix in an aqueous solution // *Ukr. J. Phys.* — 2009. — 54. — P. 471-479.
7. Gumenyuk V., Bashmakova N., Kutovyy *et al.* Binding parameters of alkaloids berberine and sanguinarine with DNA // *Ukr. J. Phys.* — 2011. — 56. — P. 524-533.
8. Boldescu V., Kacso I., Borodi G. *et al.* // *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* — 2008. — 62. — P. 143-148.
9. Motevich I.G., Strekal N.D., Nowicky J.W., Maskevich S.A. Absorption, fluorescence and SERS spectra of sanguinarine at different pH values // *Jour. Appl. Spectroscopy*. — 2007. — 74. — P. 666-672.
10. Bashmakova N., Kutovyy S., Zhurakivsky R., Hovorun D., Yashchuk V. Vibrational spectra of berberine and their interpretation by means of DFT quantum-mechanical calculations // *Ukr. J. Phys.* — 2011. — 56. — P. 130-37.
11. Chittur K.K. FTIR/ATR for protein adsorption to biomaterial surfaces // *Biomaterials*. — 1998. — 19. — P. 357-369.
12. Gaussian 03, Revision C.02, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
13. Krishnakumar V., Keresztury G., Sundius T., Ramasamy R. Simulation of IR and Raman spectra based on scaled DFT force fields: a case study of 2-(methylthio)benzotrile, with emphasis on band assignment // *J. Mol. Struct.* — 2004. — 702. — P. 9-21.
14. Кутовий С.Ю., Пащенко В.Г., Заїка Л.А. Прояв в спектрах КРС впливу препарату берберину на ДНК // *Вісник Київ. університету, сер. Фіз.-мат. науки*. — 2005. — № 7. — С. 12-16.