

## Вплив депротонованої карбоксильної групи та йону натрію на таутомерну рівновагу ксантину і гіпоксантину: спектроскопічні та квантово-хімічні дані

О.О. Броварець<sup>1,2\*</sup>, С.П. Самійленко<sup>1\*</sup>, А.В. Степанюгін<sup>2</sup>, Д.М. Говорун<sup>2,1</sup>

<sup>1</sup> Інститут високих технологій Київського національного університету імені Тараса Шевченка  
просп. Академіка Глушкова, 2, корп. 5, Київ, 03127, Україна

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

**Резюме.** Утворення комплексів гіпоксантину (Нур) і ксантину (Хан) з ацетатом натрію (NaAc) у зневодненому диметилсульфоксиді (ДМСО) за кімнатної температури зафіксовано методами УФ-, ІЧ- та <sup>1</sup>H ЯМР-спектроскопії. Встановлено, що комплексоутворення супроводжується значними змінами в УФ-спектрах, зникненням усіх сигналів імінопротонів (двох Нур і трьох Хан) у спектрах <sup>1</sup>H ЯМР і перерозподілом інтенсивностей смуг валентних коливань карбонільних груп в ІЧ-спектрах. За допомогою квантово-хімічних розрахунків на рівні теорії MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/6-311++G(d,p) із використанням поляризаційної континуальної моделі (PCM) та ґрунтуючись на аналізі всіх можливих потрійних комплексів типу Na<sup>+</sup>-таутомер основи CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>, утворених двома Н-зв'язками, інтерпретовано експериментальні дані. Зникнення сигналів імінопротонів у <sup>1</sup>H ЯМР-спектрах пояснюється співіснуванням комплексів, у яких вони втягнуті в сильні Н-зв'язки, а збурення ІЧ-спектрів пов'язане як з енолізацією основ у цих комплексах, так і із взаємодією в них йона Na<sup>+</sup> з атомом кисню карбонільної групи.

**Ключові слова:** ксантин, гіпоксантин, УФ-, <sup>1</sup>H ЯМР- та ІЧ-спектроскопія, таутомеризація, квантова хімія.

**Вступ.** Прототропна таутомерія є однією з промовистих фізико-хімічних властивостей нуклеотидних основ, яка вирізняє їх з-поміж органічних молекул — представників неживого світу. Її біологічну значущість зазвичай пов'язують зі спонтанними та індукованими як екзо-, так і ендогенними сполуками, точковими мутаціями ДНК — транзиціями і трансверсіями [1, 2]. Вважають, що основними агентами природного походження, які таутомеризують нуклеотидні основи за межами активного центру ДНК-полімерази, є вода та іони металів: чимало робіт присвячено таутомерним

переходам основ ДНК, спричиненим як окремими молекулами води [3, 4], так і мікро- [5-7] та макрооточенням [8-10], а також біологічно важливими іонами [11, 12]. Є поодинокі роботи (див. роботу [13] і посилання в ній), у яких аналізується можливість зміни таутомерного статусу нуклеотидних основ лігандами білкового походження.

У попередніх наших працях [9, 13], присвячених систематичному вивченню впливу лігандів біологічного походження на таутомерію нуклеотидних основ, уперше показано, що одночасна дія на останні біологічно важливих йонів металів, зокрема натрію, та лігандів пептидної природи, зокрема депротонованої карбоксильної групи амінокислот, суттєво зміщує таутомерну рівновагу як у вакуумі, так і у зневодненому ДМСО, у бік високоенергетичних

\* Corresponding author.

Tel.: +38068-8148504

E-mail address: brovarets@list.ru, s.p.samiylenko@imbg.org.ua

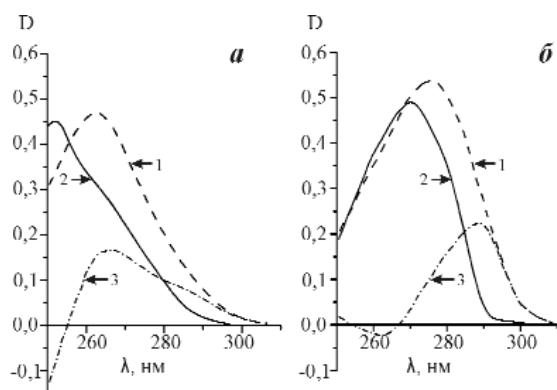


Рис. 1. УФ-спектри у зневодненому ДМСО: а — Нур (1), його суміш із NaAc (2) та диференційний спектр (3); б — Хан (1), його суміш із NaAc (2) і диференційний спектр (3),  $D$  — оптична густина.

таутомерів — так званих «прихованих структур», які не реєструються експериментально за відсутності вищезгаданих лігандів.

У цій роботі, що є логічним продовженням попередніх [9, 13], ми поширюємо започатковані нами підходи на дві інші нуклеотидні основи — гіпоксантин (Нур) і ксантин (Хан), які утворюються в клітині внаслідок деградації нуклеїнових кислот: Нур і Хан є продуктами дезамінування Ade і Gua відповідно, що викликає мутагенний ефект [15, 16].

**Матеріали і методи.** Методику вимірювань УФ-, ІЧ- та ЯМР-спектрів докладно описано в роботі [17].

Квантово-хімічні розрахунки проводили на рівні теорії MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/

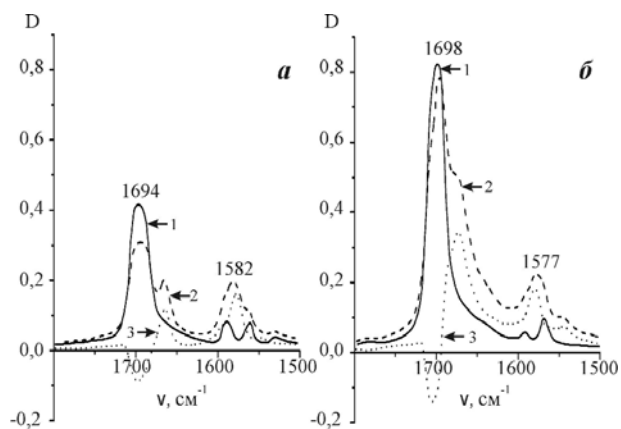


Рис. 2. ІЧ-спектри: а — Нур (1), його еквімолярної суміші з NaAc (2) і диференційний спектр суміші відносно основи (3); б — Хан (1), його еквімолярної суміші з NaAc (2) та диференційний спектр суміші відносно основи (3).

Таблиця 1

Хімічні зсуви протонів (у м.д. відносно TMS як внутрішнього стандарту) у спектрі ЯМР Хан і Нур та зміни хімічних зсувів ( $\Delta$ ) в еквімолярних сумішах з ацетатом натрію (NaAc) у зневодненому DMSO- $d_6$  (концентрації 10  $\mu$ M)

Основа	Протони	Хімічні зсуви		
		Ізольована основа	У суміші із NaAc	$\Delta$
Хан	N1H	10,820	—	—
	N3H	11,530	—	—
	N9/N7H	13,260	—	—
	C8H	7,925	7,546	0,379
Нур	N1H	12,230	—	—
	N9/N7H	13,300	—	—
	C2H	8,115	7,902	0,213
	C8H	7,971	7,850	0,121

6-311++G(d,p) без будь-яких структурних обмежень як у вакуумному наближенні ( $\epsilon=1$ ), так і в розчині зневодненого ДМСО ( $\epsilon=46,7$ ). В останньому випадку використовували континуальне наближення РСМ (Polarizable Continuum Model) [18, 19]. Оскільки *a priori* сказати, які саме потрібні комплекси  $\text{Na}^+\text{Xan}\text{CH}_3\text{COO}^-$  та  $\text{Na}^+\text{Hyp}\text{CH}_3\text{COO}^-$  (тут Хан і Нур означають таутомери цих основ) будуть енергетично найвигіднішими, неможливо (в літературі не накопичено достатньої інформації з цього приводу), то ми вдалися до такого.

Користуючись результатами робіт [20-22], ми вибрали з усіх можливих молекулярно-цвітеріонних таутомерів Нур і Хан ті з них, які здатні утворювати з  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  комплекси, що стабілізуються двома міжмолекулярними Н-зв'язками — один з них може залучати і групи C2H або C8H. Усі можливі потрібні комплекси  $\text{Na}^+\text{Xan}\text{CH}_3\text{COO}^-$  і  $\text{Na}^+\text{Hyp}\text{CH}_3\text{COO}^-$  отримано на їхній основі з урахуванням усіх можливих способів координації одним чи двома ван-дер-ваальсівськими контактами іона  $\text{Na}^+$  з основою: у цьому випадку цінним виявився наш попередній досвід. Нами використано стандартну нумерацію атомів Нур і Хан, а також позначення таутомерів 2-3 символами відповідно, яке вказує на місця локалізації атомів гідроксилу (ОН).

**Результати та їхнє обговорення.** Здобуті експериментальні результати представлені на

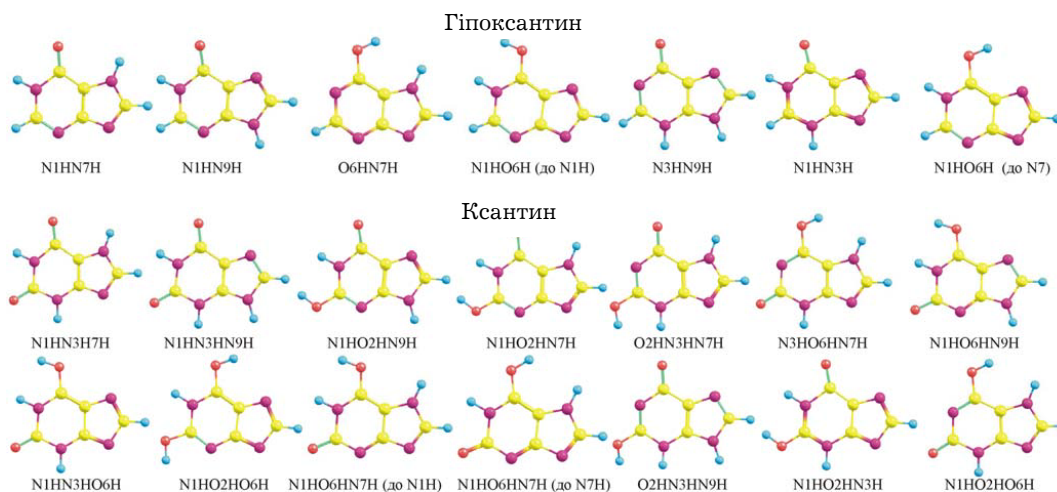


Рис. 3. Геометрична будова молекулярно-цвітеріонних таутомерів Нур і Хан. Структури розташовано в порядку зростання енергії Гіббса у вакуумі.

рис. 1, 2 і в табл. 1, а теоретичні — на рис. 3-5 та в табл. 2-4.

**Таутомерна рівновага Нур та Хан у вакуумі та ДМСО.**

Повне сімейство прототропних молекулярно-цвітеріонних таутомерів Нур і Хан представлено в роботах [20, 21]: ми зупинимось лише на тих із них, які утворюють потрібні комплекси з ацетатом натрію (рис. 3, табл. 2). Усі вони без винятку є планарними та полярними структурами: їхні дипольні моменти у вакуумі лежать у межах 1,60÷11,09 і 3,55÷11,70 Д, а відносні енергії Гіббса займають діапазон 0,00÷27,67 і 0,00÷38,79 ккал/моль для Нур та

Хан відповідно. В обох випадках домінує таутомер N7H: N1HN7 Нур і N1HN3HN7H Хан, причому для Хан таутомерна рівновага  $N7H \rightleftharpoons N9H$  (усі інші атоми водню залишаються на своїх місцях) практично повністю зсунута ліворуч  $N7H:N9H \sim 100:1,2 \cdot 10^{-4}$ , а для Нур вона складає  $N7H:N9H = 82,6:17,4$ . При переході у зневоднений ДМСО дипольні моменти всіх без винятку таутомерів суттєво зростають, а їхні відносні енергії Гіббса знижуються. У результаті спостерігається зсув таутомерної рівноваги (для двох найвигідніших таутомерів)  $N7H \rightleftharpoons N9H$  праворуч: для Нур вона становить 50,9:49,1, а для Хан — 97,8:2,2, що узгоджу-

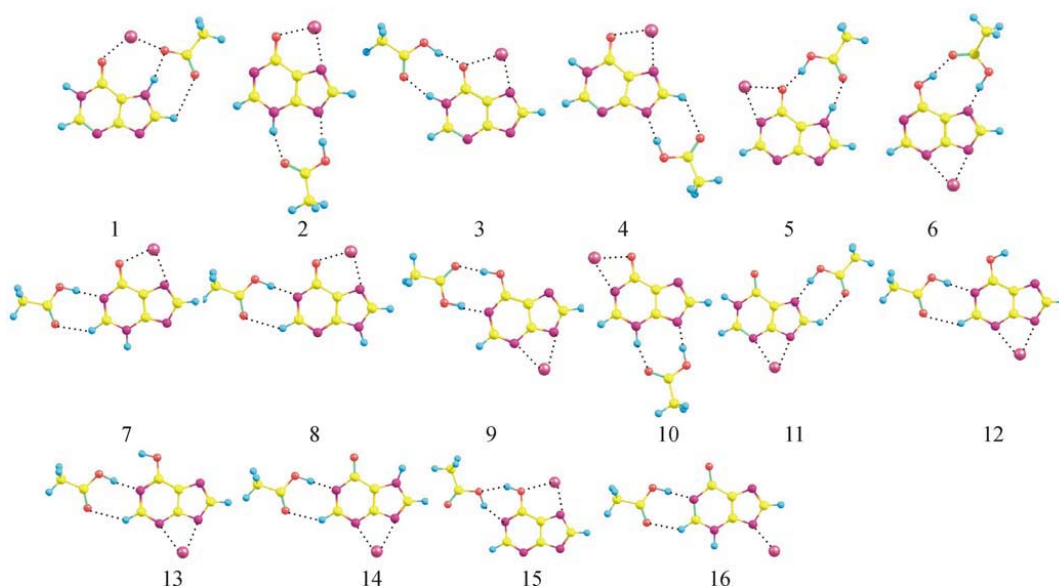


Рис. 4. Геометрична будова потрібних комплексів Нур із депротонованою карбоксильною групою  $CH_3COO^-$  та  $Na^+$ . Структури розташовано в порядку зростання енергії Гіббса комплексів у вакуумі.

## Електронні та вільні енергії Гіббса, дипольні моменти таутомерів Хап і Нур

Вакуум ( $\epsilon=1$ )					ДМСО ( $\epsilon=46,7$ )				
Позначення комплексу	$\Delta G$ , ккал/моль	$\Delta E$ , ккал/моль	Заселеність, (%)	$\mu$ , Д	Позначення комплексу	$\Delta G$ , ккал/моль	$\Delta E$ , ккал/моль	Заселеність, (%)	$\mu$ , Д
<b>Хап</b>									
N1HN3HN7H	0,00	0,00	100,00	4,44	N1HN3HN7H	0,00	0,00	97,78	6,18
N1HN3HN9H	8,48	9,11	$1,15 \cdot 10^{-4}$	7,47	N1HN3HN9H	2,41	2,35	2,22	11,35
N1HO2HN9H	17,19	18,25	$9,13 \cdot 10^{-11}$	4,32	N1HO2HN9H	9,84	10,32	$5,77 \cdot 10^{-6}$	6,91
N1HO2HN7H	17,25	18,34	$8,25 \cdot 10^{-11}$	2,96	N1HO2HN7H	10,25	10,78	$2,74 \cdot 10^{-6}$	4,75
O2HN3HN7H	23,75	24,91	$2,31 \cdot 10^{-15}$	6,24	O2HN3HN7H	13,94	14,66	$5,26 \cdot 10^{-9}$	9,90
N3HO6HN7H	24,34	26,26	$8,93 \cdot 10^{-16}$	9,48	N3HO6HN7H	15,35	16,16	$4,72 \cdot 10^{-10}$	14,54
N1HO6HN9H	26,61	27,85	$2,28 \cdot 10^{-17}$	3,55	N1HO6HN9H	16,17	16,90	$1,42 \cdot 10^{-10}$	5,67
N1HN3HO6H	26,65	27,91	$2,15 \cdot 10^{-17}$	4,28	N1HN3HO6H	17,77	18,51	$1,06 \cdot 10^{-11}$	7,28
N1HO2HO6H	29,48	29,58	$2,24 \cdot 10^{-19}$	5,21	O2HN3HN9H	17,94	18,93	$5,34 \cdot 10^{-12}$	19,59
N1HO6HN7H (до N1H)	34,28	36,71	$9,75 \cdot 10^{-23}$	9,97	N1HO6HN7H (до N1H)	19,32	20,35	$5,41 \cdot 10^{-13}$	15,89
N1HO6HN7H (до N7H)	35,72	37,42	$9,58 \cdot 10^{-24}$	10,99	N1HO2HN3H	20,46	21,44	$9,39 \cdot 10^{-14}$	15,07
O2HN3HN9H	37,20	38,73	$8,80 \cdot 10^{-25}$	11,70	N1HO6HN7H (до N7H)	20,39	21,49	$8,60 \cdot 10^{-14}$	17,75
N1HO2HN3H	37,23	39,09	$8,28 \cdot 10^{-25}$	9,84	N1HO2HO6H	25,17	26,27	$3,86 \cdot 10^{-17}$	12,76
N1HO2HO6H	38,79	39,96	$6,76 \cdot 10^{-26}$	7,45	N1HO2HO6H	28,01	29,50	$2,11 \cdot 10^{-19}$	16,05
<b>Нур</b>									
N1HN7H	0,00	0,00	82,59	1,60	N1HN7H	0,00	0,00	50,92	2,64
N1HN9H	0,92	0,97	17,41	5,34	N1HN9H	0,03	0,02	49,08	8,11
O6HN7H	12,63	13,98	$1,33 \cdot 10^{-8}$	6,66	N3HN9H	8,84	9,39	$1,35 \cdot 10^{-5}$	17,52
N1HO6H (до N1H)	18,22	18,50	$9,06 \cdot 10^{-12}$	6,36	N1HN3H	9,82	10,00	$5,02 \cdot 10^{-6}$	14,06
N3HN9H	19,93	21,37	$8,83 \cdot 10^{-14}$	11,09	O6HN7H	9,65	10,33	$2,97 \cdot 10^{-6}$	10,38
N1HN3H	19,99	20,55	$3,31 \cdot 10^{-13}$	9,33	N1HO6H (до N1H)	14,95	15,55	$6,53 \cdot 10^{-10}$	10,35
N1HO6H (до N7)	27,67	29,04	$3,73 \cdot 10^{-19}$	8,53	N1HO6H (до N7)	16,09	16,83	$8,27 \cdot 10^{-11}$	13,90

Примітки:  $\Delta G$  — відносна енергія Гіббса,  $\Delta E$  — відносна електронна енергія,  $\mu$  — дипольний момент.

ється з існуючими експериментальними даними [23, 24]. Це дає змогу сподіватися, що і для досліджуваних комплексів, про які йтиметься нижче, континуальне наближення РСМ є адекватним. Зазначимо, що перехід із вакууму в ДМСО помітно знижує енергію і високоенергетичних таутомерів, які не реєструються експериментально через велику відносну енергію Гіббса. Так, наприклад, відносна заселеність таутомера N1HO6H (до N1H) Нур зростає у  $\sim 72$  рази. А відносна заселеність таутомера N1HN7HO6H (до N1H) Хап збільшується на 9 порядків, тобто у  $5,6 \cdot 10^9$  разів. Зміну заселеностей для інших таутомерів Нур і Хап легко підрахувати, використовуючи числові дані, подані в таблиці 2.

**Зміна таутомерного статусу Нур при утворенні потрійних комплексів.** Сімейство потрійних комплексів типу  $\text{Na}^+\text{Нур}\cdot\text{CH}_3\text{COO}^-$  налічує 16 плоскосиметричних (симетрія Cs) структур, утворених двома Н-зв'язками кожний (рис. 4, табл. 3). Для переважної більшості

з них у процесі взаємодії протон від основи переноситься на карбоксилат-іон, нейтралізуючи його. У цих випадках один з атомів водню метильної групи лежить в одній площині з карбонільною групою  $\text{C}=\text{O}$   $\text{CH}_3\text{COOH}$ . Лише в енергетично найвигіднішому комплексі **1** протон на ліганд ( $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ) не переноситься: у цьому випадку один з атомів водню групи  $\text{CH}_3$  лежить в одній площині із групою  $\text{CO}$ , замкненою на Н-зв'язок  $\text{C8H}\dots\text{O}$ .

Класичні Н-зв'язки  $\text{OH}/\text{NH}\dots\text{N}$ , які стабілізують комплекси, є доволі міцними. На це вказують як їхні геометричні характеристики (відстані між електронегативними атомами лежать у діапазоні від 2,72 до 2,81 Å, при цьому відстані  $\text{H}\dots\text{O}/\text{N}$  менші на  $\sim 0,1$  Å суми ван-дер-ваальсівських радіусів відповідних атомів), так і електронно-топологічні показники ( $0,030 < \rho < 0,052$  ат.од.;  $0,098 < \Delta\rho < 0,112$  ат.од.). Н-зв'язки за участі груп СН як донорів протона є, вочевидь, значно слабшими: їхні енергії лежать у межах  $0,80 \pm 3,21$  ккал/моль.

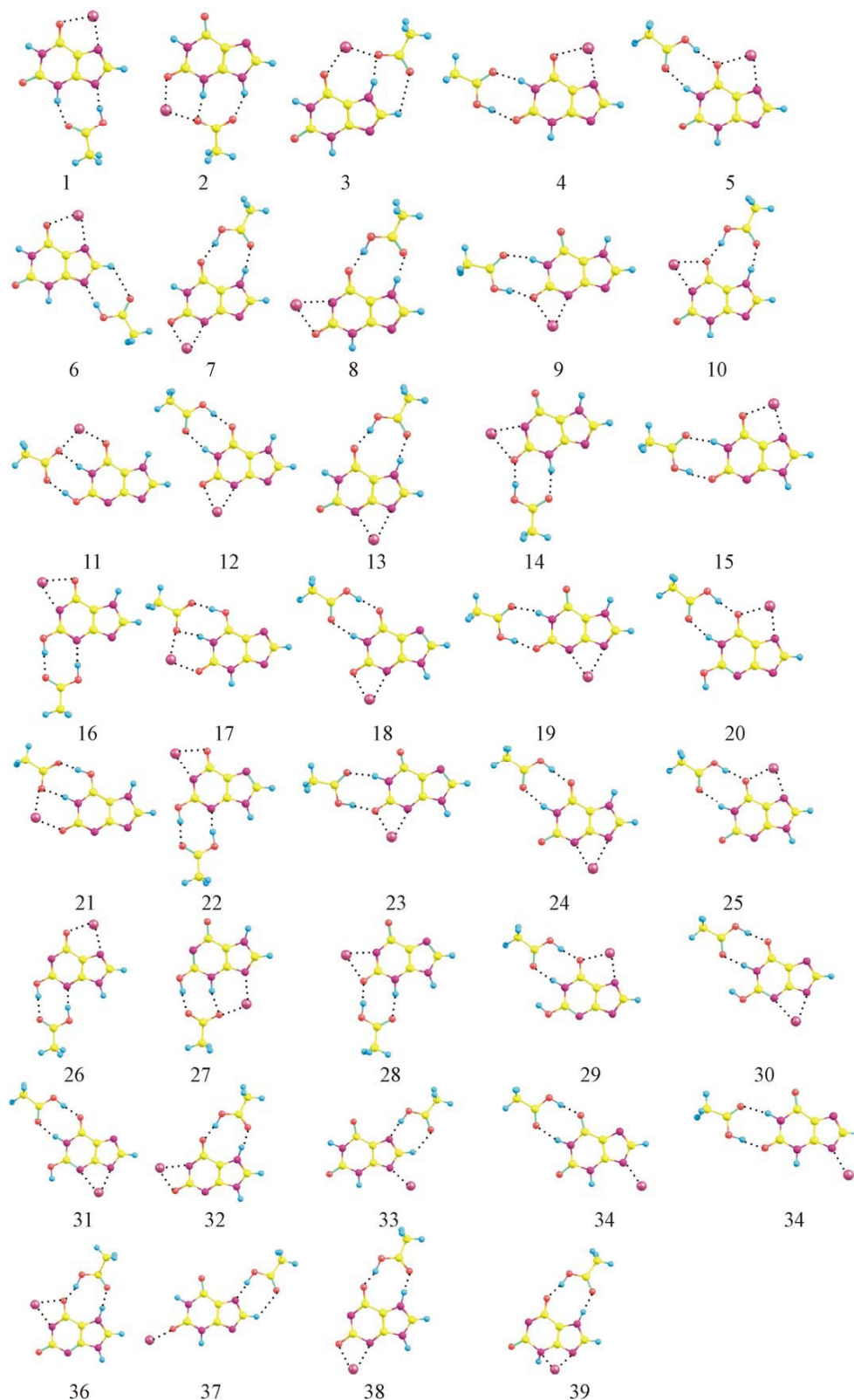


Рис. 5. Геометрична будова потрійних комплексів *Xap* із депротонованою карбоксильною групою  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  і  $\text{Na}^+$ . Структури розташовано в порядку зростання енергії Гіббса комплексів у вакуумі.

Цікавий контакт спостерігається в комплексі **15**, де гідроксильна група, утворена в результаті перенесення протона на ліганд  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , є одночасно донором і акцептором Н-зв'язуван-

ня. У більшості комплексів іон  $\text{Na}^+$  утворює два нерівноцінні координаційні зв'язки з основою: у цьому випадку їхні довжини лежать у межах 2,01 і 2,15 Å, а кути між ними займають діапа-

Електронні та вільні енергії Гіббса, дипольні моменти потрійних комплексів  $\text{CH}_3\text{COO}\cdot\text{Нур}\cdot\text{Na}^+$ 

Вакуум ( $\epsilon=1$ )					ДМСО ( $\epsilon=46,7$ )			
Номер комплексу	$\Delta G$ , ккал/моль	$\Delta E$ , ккал/моль	Заселеність, (%)	$\mu$ , Д	Номер комплексу	$\Delta E$ , ккал/моль	Заселеність, (%)	$\mu$ , Д
1	0,00	0,40	46,20	10,45	4	0,00	76,76	14,42
2	0,10	0,00	39,22	5,79	1	1,09	13,29	17,10
3	0,83	0,44	12,17	9,69	3	1,82	4,05	14,76
4	1,92	2,82	2,10	9,35	5	2,17	2,33	15,55
5	3,13	3,07	0,30	10,65	8	2,28	1,95	17,70
6	5,32	5,81	$8,67\cdot 10^{-3}$	11,04	11	2,54	1,28	20,29
7	5,76	6,10	$4,24\cdot 10^{-3}$	5,98	6	3,77	0,18	22,12
8	7,39	8,21	$3,07\cdot 10^{-4}$	12,49	14	4,32	$7,21\cdot 10^{-2}$	20,06
9	8,54	8,99	$4,78\cdot 10^{-5}$	11,07	2	4,37	$6,71\cdot 10^{-2}$	8,48
10	8,91	9,79	$2,67\cdot 10^{-5}$	10,70	7	5,31	$1,46\cdot 10^{-2}$	8,43
11	10,35	11,67	$2,59\cdot 10^{-6}$	13,68	10	5,41	$1,24\cdot 10^{-2}$	15,36
12	12,22	13,13	$1,27\cdot 10^{-7}$	8,75	9	7,52	$4,12\cdot 10^{-4}$	16,50
13	13,68	15,08	$1,22\cdot 10^{-8}$	8,28	16	8,18	$1,44\cdot 10^{-4}$	28,20
14	15,39	16,66	$7,69\cdot 10^{-10}$	13,67	12	10,20	$5,50\cdot 10^{-6}$	12,62
15	18,91	20,52	$2,64\cdot 10^{-12}$	13,43	13	11,90	$3,53\cdot 10^{-7}$	12,00
16	38,27	41,13	$7,19\cdot 10^{-26}$	19,51	15	14,50	$5,35\cdot 10^{-9}$	12,20

Примітка: див. табл. 1.

зон  $58,6\div 62,3^\circ$ . У тих випадках (комплекси **1**, **16**), коли  $\text{Na}^+$  взаємодіє з основою через один координаційний зв'язок, його довжина (2,20 та 2,18 Å) більша, ніж у попередньому випадку.

Загалом таутомерна рівновага визначається чотирма комплексами — **1**, **2**, **3** та **4**. Комплекс **1**, що є глобальним мінімумом, утворений енергетично найвигіднішим таутомером  $\text{N1HN7H}$  Нур; додаткова його енергетична перевага над іншими комплексами забезпечується сильною взаємодією  $\text{Na}^+\dots\text{O}^-$  ( $\text{Na}^+\dots\text{O}^- = 2,20$  Å;  $\rho = 0,028$  ат.од.;  $\Delta\rho = 0,191$  ат.од.). У формуванні інших комплексів беруть участь рідкісні таутомери  $\text{N3HN9H}$ ,  $\text{N1HO6H}$  (до  $\text{N1H}$ ) і  $\text{N1HN9H}$  з відносними енергіями 19,93; 18,22 та 0,92 ккал/моль відповідно. Таким чином, взаємодія двох лігандів —  $\text{Na}^+$  і  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ , які одночасно взаємодіють із Нур, суттєво змінює його таутомерну рівновагу: підвищує на 14 і 12 порядків заселеність таутомерів  $\text{N3HN9H}$  і  $\text{N1HO6H}$  (до  $\text{N1H}$ ) та знижує у 20 разів заселеність таутомера  $\text{N1HN9H}$ .

У розчиннику (у зневодненому ДМСО) таутомерна рівновага відрізняється від такої для вакууму і визначається шістьма комплексами — **4**, **1**, **3**, **5**, **8** і **11**, у формуванні яких беруть участь таутомери  $\text{N1HN9H}$  (**4**, **8**),  $\text{N1HN7H}$  (**1**,

**11**),  $\text{N1HO6H}$  (до  $\text{N1H}$ ) (**3**) і  $\text{N7HO6H}$  (до  $\text{N7}$ ) (**5**) з відносними енергіями Гіббса (у ДМСО) 8,84; 0,00; 14,95 і 16,09 ккал/моль відповідно. Дані для розчинника дають змогу, на наш погляд, пояснити як ЯМР, так й ІЧ експериментальні дані. Зникнення сигналів від обох імінопротонів Нур при взаємодії з лігандами в ДМСО пояснюється тим, що у вищезгаданих комплексах ці протони втягуються в сильні Н-зв'язки. Збурення ІЧ-спектра в області карбонільного коливання  $1500\text{--}1800$   $\text{cm}^{-1}$  пов'язане, з одного боку, з енолізацією (комплекси **3** і **5**), а з іншого — із взаємодією атома кисню карбонільної групи  $\text{C=O}$  з іоном  $\text{Na}^+$  (решта комплексів).

**Зміна таутомерного статусу Хап при утворенні потрійних комплексів.** Сімейство потрійних комплексів  $\text{Na}^+\cdot\text{Хап}\cdot\text{CH}_3\text{COO}^-$  налічує 39 структур — 38 плоскосиметричних (симетрія  $\text{Cs}$ ) та одну непоштинну (комплекс **39**, симетрія  $\text{C1}$ ). Для переважної більшості з них у процесі взаємодії протон від основи переноситься на карбоксилат-іон, нейтралізуючи його. У цих випадках один з атомів водню метильної групи ліганду лежить в одній площині з карбонільною групою того ж ліганду  $\text{C=O}$   $\text{CH}_3\text{COOH}$ . Лише в комплексах **2**, **3**, **11**, **17**, **21** та **27** протон на ліганд ( $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ) не перено-

Електронні та вільні енергії Гіббса, дипольні моменти потрійних комплексів  $\text{CH}_3\text{COO}\cdot\text{Хар}\cdot\text{Na}^+$ 

Вакуум ( $\epsilon=1$ )				ДМСО ( $\epsilon=46,7$ )				
Номер комплексу	$\Delta G$ , ккал/моль	$\Delta E$ , ккал/моль	Заселеність, (%)	$\mu$ , Д	Номер комплексу	$\Delta E$ , ккал/моль	Заселеність, (%)	$\mu$ , Д
1	0,00	0,00	74,82	10,12	1	0,00	47,82	15,30
2	1,03	1,42	14,17	10,36	6	0,45	23,28	11,56
3	1,34	1,72	8,61	6,84	33	1,25	6,42	21,70
4	2,33	2,21	1,76	7,32	15	1,38	5,14	18,48
5	4,65	4,62	0,04	9,71	3	1,40	5,00	11,40
6	3,98	4,93	0,12	7,90	4	1,73	2,93	10,50
7	3,14	5,16	0,47	6,35	2	1,82	2,54	16,31
8	6,04	6,58	$4,41\cdot 10^{-3}$	6,09	23	1,98	1,97	22,31
9	8,18	8,67	$1,39\cdot 10^{-4}$	8,04	5	2,17	1,45	14,57
10	8,15	8,82	$1,46\cdot 10^{-4}$	7,56	9	2,48	0,87	11,63
11	8,88	9,00	$4,48\cdot 10^{-5}$	12,27	37	2,52	0,83	31,89
12	8,61	9,18	$7,00\cdot 10^{-5}$	6,25	18	2,66	0,66	18,82
13	9,44	9,63	$1,82\cdot 10^{-5}$	9,07	7	3,09	0,33	8,92
14	10,33	10,67	$4,37\cdot 10^{-6}$	5,32	34	3,30	0,23	23,13
15	10,69	10,98	$2,42\cdot 10^{-6}$	12,56	19	3,55	0,15	17,32
16	11,65	12,58	$5,20\cdot 10^{-7}$	7,23	35	3,57	0,15	24,91
17	13,44	13,44	$2,90\cdot 10^{-8}$	12,42	25	3,83	0,10	21,88
18	12,96	13,65	$6,26\cdot 10^{-8}$	12,86	12	4,01	$7,41\cdot 10^{-2}$	8,35
19	13,18	13,70	$4,36\cdot 10^{-8}$	11,86	13	4,62	$2,79\cdot 10^{-2}$	13,14
20	14,12	13,89	$9,59\cdot 10^{-9}$	8,47	8	4,81	$2,05\cdot 10^{-2}$	8,27
21	13,76	14,09	$1,71\cdot 10^{-8}$	9,07	10	5,43	$7,54\cdot 10^{-3}$	10,74
22	13,90	14,62	$1,38\cdot 10^{-8}$	3,41	24	5,51	$6,58\cdot 10^{-3}$	16,29
23	14,41	15,25	$6,05\cdot 10^{-9}$	14,71	14	5,57	$5,96\cdot 10^{-3}$	7,50
24	15,46	16,38	$1,10\cdot 10^{-9}$	11,30	11	6,47	$1,40\cdot 10^{-3}$	19,38
25	16,04	16,68	$4,33\cdot 10^{-10}$	14,15	39	7,75	$1,78\cdot 10^{-4}$	30,47
26	16,90	17,01	$1,09\cdot 10^{-10}$	12,02	16	8,04	$1,11\cdot 10^{-4}$	10,91
27	17,87	18,48	$2,28\cdot 10^{-11}$	15,16	27	8,59	$4,57\cdot 10^{-5}$	24,05
28	17,75	18,62	$2,76\cdot 10^{-11}$	7,82	26	9,11	$1,99\cdot 10^{-5}$	17,53
29	19,21	19,67	$2,62\cdot 10^{-12}$	11,23	28	9,37	$1,31\cdot 10^{-5}$	12,08
30	22,05	23,03	$2,66\cdot 10^{-14}$	10,31	22	9,87	$5,83\cdot 10^{-6}$	4,19
31	23,20	24,09	$4,18\cdot 10^{-15}$	12,75	20	10,97	$9,93\cdot 10^{-7}$	12,82
32	26,14	27,27	$3,68\cdot 10^{-17}$	1,37	31	11,19	$6,90\cdot 10^{-7}$	20,33
33	25,62	28,45	$8,49\cdot 10^{-17}$	14,87	32	15,81	$4,02\cdot 10^{-10}$	4,64
34	28,26	30,80	$1,20\cdot 10^{-18}$	16,87	38	15,91	$3,40\cdot 10^{-10}$	23,36
35	29,73	31,91	$1,11\cdot 10^{-19}$	17,66	36	18,76	$3,44\cdot 10^{-12}$	12,71
36	32,37	34,01	$1,59\cdot 10^{-21}$	7,69	17	18,80	$3,24\cdot 10^{-12}$	20,20
37	34,25	36,97	$7,58\cdot 10^{-23}$	24,72	21	19,10	$2,00\cdot 10^{-12}$	13,90
38	35,20	37,22	$1,65\cdot 10^{-23}$	13,84	29	19,15	$1,84\cdot 10^{-12}$	11,90
39	39,69	40,95	$1,19\cdot 10^{-26}$	13,72	30	20,12	$3,85\cdot 10^{-13}$	10,50

Примітка: див. табл. 1.

ситься: у цьому випадку один з атомів водню групи  $\text{CH}_3$  лежить в одній площині з групою  $\text{CO}$ , замкненою на Н-зв'язок. Класичні Н-зв'язки  $\text{OH/NH}\dots\text{N}$ , які стабілізують комплекси, є доволі міцними. На це вказують як їхні геоме-

тричні характеристики (відстані між електро-негативними атомами лежать у діапазоні від 2,72 до 2,81 Å, при цьому відстані  $\text{H}\dots\text{O/N}$  на  $\sim 0,15$  Å менші, ніж суми ван-дер-ваальсівських радіусів відповідних атомів, так і електрон-

но-топологічні показники ( $0,028 \leq \rho \leq 0,072$  ат.од.;  $0,088 \leq \Delta\rho \leq 0,132$  ат.од.). Н-зв'язки за участі груп СН як донорів протона  $\epsilon$ , вочевидь, значно слабшими — їхні енергії лежать у межах  $0,90 \div 3,01$  ккал/моль. У більшості комплексів іон  $\text{Na}^+$  утворює два нерівноцінні зв'язки з основою: у цьому випадку їхні довжини лежать у межах  $2,03$  і  $2,12$  Å, а кути між ними займають діапазон  $60,6 \div 62,3^\circ$ . У тих випадках (комплекси **33-35**), коли  $\text{Na}^+$  взаємодіє з основою одним зв'язком, його довжина ( $2,18 \div 2,19$  Å) більша, ніж у попередньому випадку.

Таутомерна рівновага Хан у вакуумі визначається, в основному, чотирма комплексами — **1**, **2**, **3** і **4**. Комплекс **1**, що є глобальним мінімумом, утворений рідкісним таутомером  $\text{N1HN3HN9H}$  з відносною енергією Гіббса  $8,48$  ккал/моль. Цей же таутомер утворює комплекс **2** з відносною енергією Гіббса  $1,03$  ккал/моль. Комплекс **3** ( $\Delta G = 1,34$  ккал/моль) утворений енергетично найвигіднішим таутомером  $\text{N1HN3HN7H}$ , а комплекс **4** ( $\Delta G = 2,33$  ккал/моль) — рідкісним таутомером  $\text{N1HO2HN3H}$  (до  $\text{N1H}$ ). Таким чином, на відміну від Нур, енергетично найвигідніші комплекси  $\text{Na}^+\text{-Хан}\text{-CH}_3\text{COO}^-$  утворюються не основним, а рідкісним таутомером із малим значенням  $\Delta G$  ( $8,5$  ккал/моль).

Отже, взаємодія двох лігандів  $\text{Na}^+$  і  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ , які діють одночасно з Хан, суттєво змінює його таутомерну рівновагу у вакуумі — підвищує на  $11$  та  $25$  порядків заселеність таутомерів  $\text{N1HN3HN9H}$  і  $\text{N1HO2HN3H}$  відповідно і зменшує в  $5$  разів заселеність таутомера  $\text{N1HN3HN7H}$ .

При переході з вакууму в зневоднений ДМСО таутомерна рівновага суттєво змінюється: на відміну від вакууму вона визначається  $13$  комплексами, відносна енергія Гіббса яких не перевищує  $3$  ккал/моль, — **1**, **6**, **33**, **15**, **3**, **4**, **2**, **23**, **5**, **9**, **37**, **18** і **7**. При цьому структура,

що належить глобальному мінімумові, не змінюється: це комплекс **1** за участю високоенергетичного таутомера Хан  $\text{N1HN3HN9H}$ . У формуванні інших комплексів беруть участь таутомери (у дужках вказано їхні енергії Гіббса в ккал/моль у ДМСО):  $\text{N1HO2HN3H}$  ( $20,46$ ),  $\text{N1HN3HN7H}$  ( $0,00$ ),  $\text{N1HO2HN9H}$  ( $9,84$ ),  $\text{N1HN3HO6H}$  ( $17,77$ ),  $\text{N1HO2HN7H}$  ( $10,25$ ) та  $\text{N1HO6HN7H}$  ( $20,39$ ).

Таким чином, на відміну від Нур, таутомерна рівновага Хан у ДМСО за наявності двох лігандів, що діють одночасно —  $\text{Na}^+$  і  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ , значно ускладнюється, визначаючись щонайменше тринадцятьма комплексами, а не чотирма, як у першому випадку.

Така ситуація дозволяє пояснити як ЯМР-, так й ІЧ-експеримент у той же спосіб, як це зроблено для Нур: зникнення ЯМР-сигналів від усіх трьох імінопротонів при взаємодії з лігандами в ДМСО пояснюється тим, що в щойно розглянутих комплексах, які співіснують, усі ці протони втягнуті в сильні Н-зв'язки. Збурення ІЧ-спектра в області карбонільних коливань  $1500\text{--}1800$   $\text{cm}^{-1}$  пов'язане, з одного боку, з енолізацією (комплекси **5**, **18** і **7**), а з іншого — із взаємодією атома кисню карбонільної групи  $\text{C=O}$  з іоном  $\text{Na}^+$  (комплекси **1**, **6**, **33**, **15**, **3**, **4**, **2**, **23**, **9** та **37**).

Насамкінець зауважимо, що отримані нами дані відкривають перспективи для кращого розуміння перебігу процесів білково-нуклеїнового впізнавання, яке супроводжується таутомеризацією нуклеотидних основ, зокрема в активних центрах ферментів [25].

Автори висловлюють щирі вдячність Інституту теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова НАН України за люб'язно надані програмне забезпечення та обчислювальні ресурси.

Надійшла в редакцію 16.02.2010 р.

### Influence of deprotonated carboxylic group and sodium ion on tautomeric equilibrium of xanthine and hypoxanthine: spectroscopic and quantum chemical data

O.O. Brovarets<sup>1,2</sup>, S.P. Samijlenko<sup>1</sup>, A.V. Stepanyugin<sup>2</sup>, D.M. Hovorun<sup>2,1</sup>

<sup>1</sup> Institute of High Technologies of Taras Shevchenko Kyiv National University  
2, Hlushkova Ave., Kyiv, 03187, Ukraine

<sup>2</sup> Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine  
150, Zabolotnogo Str., Kyiv, 03680, Ukraine

**Summary.** Using UV, IR and <sup>1</sup>H NMR spectroscopy, hypoxanthine (Hyp) and xanthine (Xan) complex formation



with sodium acetate (NaAc) was established in anhydrous dimethylsulfoxide (DMSO) at room temperature. It was shown that formation of these complexes results in significant changes in UV spectra, vanishing of all signals of imino protons (two for Hyp and three for Xan) in  $^1\text{H}$  NMR spectra and redistribution of the IR bands intensities of valence carbonyl vibrations in IR spectra. By means of quantum-chemical calculations at the MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/6-311++G(d,p) level of theory and using polarization continuum model (PCM) experimental data was explained based on the analysis of the all possible triple complexes like  $\text{Na}^+$ -base tautomer- $\text{CH}_3\text{COO}^-$  stabilized by two H-bonds. Vanishing of the imino proton signals  $^1\text{H}$  NMR spectra can be explained by coexistence of the complexes where imino protons form strong H-bonds and perturbation of IR spectra can be explained by enolization of the bases in these complexes and interaction of  $\text{Na}^+$  ion with oxygen atom of carbonyl group within them.

**Keywords:** xanthine, hypoxanthine, UV,  $^1\text{H}$  NMR and IR spectroscopy, tautomerization, quantum chemistry.

## Перелік літератури

1. Watson J.D., Crick F.H.C. The structure of DNA // Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. — 1953. — Vol. 18. — P. 123-131.
2. Topal M. D., Fresco J.R. Complementary base pairing and the origin of substitution mutations // Nature. — 1976. — Vol. 263, No. 5575. — P. 285-289.
3. Fogarasi G. Water-mediated tautomerization of cytosine to the rare imino form: an ab initio dynamics study // Chem. Phys. — 2008. — Vol. 349, No. 1-3. — P. 204-209.
4. Kim H.-O., Ahn D.-S., Chung S.-Y. et al. Tautomerization of adenine facilitated by water: computational study of microsolvation // J. Phys. Chem. A. — 2007. — Vol. 111, No. 32. — P. 8007-8012.
5. Palafox M.A., Iza N., de la Fuente M. et al. Simulation of the first hydration shell of nucleosides D4T and thymidine: structures obtained using MP2 and DFT methods // J. Phys. Chem. B. — 2009. — Vol. 113, No. 8. — P. 2458-2476.
6. Kabelc M., Hobza P. Hydration and stability of nucleic acid bases and base pairs // Phys. Chem. Chem. Phys. — 2007. — Vol. 9, No. 8. — P. 903-917.
7. Zelenv T., Hobza P., Kabelc M. Microhydration of guanine...cytosine base pairs, a theoretical study on the role of water in stability, structure and tautomeric equilibrium // Phys. Chem. Chem. Phys. — 2009. — Vol. 11, No. 18. — P. 3430-3435.
8. Palafox M.A., Iza N. Tautomerism of the natural thymidine nucleoside and the antiviral analogue D4T. Structure and influence of an aqueous environment using MP2 and DFT methods // Phys. Chem. Chem. Phys. — 2010. — Vol. 12, No. 4. — P. 881-893.
9. Samijlenko S.P., Yurenko Y.P., Stepanyugin A.V. et al. Tautomeric equilibrium of uracil and thymine in model protein-nucleic acid contacts. Spectroscopic and quantum chemical approach // J. Phys. Chem. B. — 2010. — Vol. 114, No. 3. — P. 1454-1461.
10. Danilov V.I., van Mourik T., Kurita N. et al. On the mechanism of the mutagenic action of 5-bromouracil: a DFT study of uracil and 5-bromouracil in a water cluster // J. Phys. Chem. A. — 2009. — Vol. 113, No. 11. — P. 2233-2235.
11. Lippert B., Gupta D. Promotion of rare nucleobase tautomers by metal binding // Dalton. Trans. — 2009. — No. 24. — P. 4619-34.
12. Muller J., Sigel R.K.O., Lippert B. Heavy metal mutagenicity: insights from bioinorganic model chemistry // J. Inorg. Biochem. — 2000. — Vol. 79, No. 1-4. — P. 261-265.
13. Самійленко С.П., Степанюгін А.В., Кречківська О.М. та ін. Специфічна взаємодія ксантину з депротонованою карбоксильною групою спричиняє його хімічне перетворення у високоенергетичний протонний таутомер N9H // Доп. НАН України. — 2002. — № 4. — С. 187-191.
14. Zheltovsky N.V., Samoilenko S.A., Kondratyuk I.V. et al. Recognition of purine bases and nucleosides by the amino acid carboxylic group // J. Mol. Struct. — 1995. — Vol. 344, No. 1-2. — P. 53-62.
15. Mizuno H., Fujiwara T., Tomita K. The crystal and molecular structure of the sodium salt of xanthine // Bull. Chem. Soc. Japan. — 1969. — Vol. 42, No. 11. — P. 3099-3105.
16. Stryer L. Biochemistry (3rd ed.). — Freeman: New York, 1988. — 1089 p.
17. Желтовський Н.В., Самойленко С.А., Коломиец І.Н. и др. Исследование взаимодействия гипоксантина, ксантина и их метил- и гликозилпроизводных с карбоксильной группой аминокислот спектроскопическими методами // Биополимеры и клетка. — 1993. — Т. 9, №. 3. — С. 17-22.
18. Miertus S., Scrocco E., Tomasi J. Electrostatic interaction of a solute with a continuum. A direct utilization of ab initio molecular potentials for the prevision of solvent effects // Chem. Phys. — 1981. — Vol. 55, No. 1. — P. 117-129.
19. Barone V., Cossi M., Tomasi J. Geometry optimization of molecular structures in solution by the polarizable continuum model // J. Comp. Chem. — 1998. — Vol. 19, No. 4. — P. 404-417.
20. Kondratyuk L.V., Samijlenko S.P., Kolomiets' J.M., Hovorun D.M. Prototropic molecular-zwitterionic tautomerism of xantine and hypoxanthine // J. Mol. Struct. — 2000. — Vol. 523, No. 1-3. — P. 109-118.
21. Kondratyuk I.V., Samijlenko S.P., Kolomiets' I.M. et al. Prototropic molecular-zwitterionic tautomerism of xantine and hypoxanthine: unexpected biological view // Biopolymers and Cell. — 2000. — Vol. 16, No. 2. — P. 124-137.
22. Sponer J., Leszczynsky J. Tautomerism of xanthine: the second-order Moller-Plesset study // Struct. Chem. — 1995. — Vol. 6, No. 4-5. — P. 281-286.
23. Lichtenberg D., Bergmann F., Neiman Z. Tautomeric forms and ionisation processes in xanthine and its N-methyl derivatives // J. Chem. Soc. (C). — 1971. — No. 9. — P. 1676-1682.
24. Chenon M.T., Pugmire R.J., Grant D.M. et al. Carbon-13 magnetic resonance. XXVI. Quantitative determination of the tautomeric populations of certain purines // J. Am. Chem. Soc. — 1975. — Vol. 97, No. 16. — P. 4636-4642.
25. Броварець О.О., Говорун Д.М. Фізико-хімічний механізм перетворення зміщених пар основ ДНК Gua\*Thy і Ade\*Cyt у пари за участі мутагенних таутомерів Gua\*Thy і Ade\*Cyt\* // Ukr. Bioorg. Acta. — 2009. — Т. 8, № 2. — С. 12-18.