

## Сендвічоподібна самоасоціація цитозину та її прояви в оптичних спектрах

І. А. Петрушко, М. І. Суховія

Ужгородський Національний Університет  
Вул. Волошина, 54, Ужгород, 88000, Україна

E. mail: mshafr@tn.uz.ua

---

*З використанням багатоконфігураційної теорії самоузгодженого поля з оптимізацією геометрії в рамках гамільтоніана АМІ проведено квантово-хімічне вивчення геометричних та оптичних характеристик сендвічоподібних комплексів цитозину. Аналіз довжин зв'язків, просторових кутів, частот коливальних та електронних спектрів у мономери, димері і тетрамері цитозину показує, що ці фізичні властивості молекул змінюються при комплексоутворенні. Зокрема, розрахунки демонструють високочастотний зсув валентних коливань NH<sub>2</sub>-групи, що узгоджується з експериментальними даними. Розподіл інтенсивностей смуг в електронних спектрах суттєво залежить від кількості молекул у комплексах цитозину. Обговорюється біофізична значущість отриманих результатів.*

---

*Ключові слова: комплекси цитозину, фізичні характеристики, теоретичне вивчення.*

---

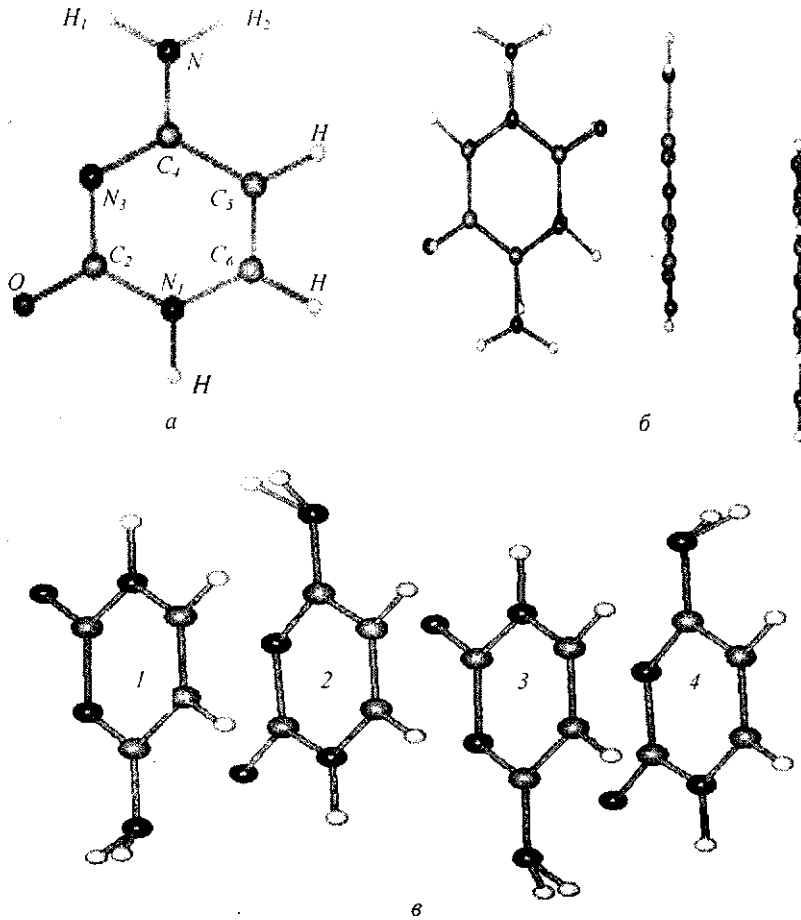
Вступ. Предметом даного дослідження є квантово-хімічний аналіз спектральних проявів комплексоутворення молекул цитозину. Розглянуто спектри поглинання ізольованої молекули цитозину і його асоціатів в інфрачервоній (ІЧ) та ультрафіолетовій (УФ) областях, прослідковано тенденції спектральних змін залежно від кількості молекул в асоціаті.

ІЧ спектроскопія є традиційним методом вивчення структури нуклеїнових кислот. Можливості коливальної спектроскопії дозволяють досліджувати міжмолекулярні взаємодії в нуклеїнових кислотах та конформаційні зміни [1]. За зсувами смуг коливань можна визначати місця приєднання різних лігандів [2]. Водневе зв'язування між молекулами азотистих основ нуклеїнових кислот відіграє важливу роль не лише в контексті вищевикладеного, але й у білково-нуклеїновому впізнаванні, формуванні точкових мутацій [3]. Розширення і удосконалення даної методики має і діагностичний

потенціал, зокрема, при діагностиці пухлинних новоутворень [4]. Отже, виняткова біологічна важливість коливальної структури біомолекул є очевидною. Саме тому від точності інтерпретації ІЧ спектрів у значній мірі залежить якість інформації про просторову структуру молекул азотистих основ нуклеїнових кислот та геометрію їхніх Н-зв'язаних комплексів.

Реальну можливість удосконалити розшифрування коливальних спектрів дають напівемпіричні квантово-хімічні розрахунки, за допомогою яких можна отримати дані щодо електронної структури молекули (розподіл електронної і спінової густини по атомах, енергетичні рівні молекули, довжини зв'язків тощо) і проаналізувати зміни певних параметрів електронної будови при комплексоутворенні.

Мета цієї роботи полягала у вивченні за допомогою напівемпіричного квантово-хімічного методу АМІ змін у коливальній та електронній структурі молекул нуклеотидної основи (цитозину, С) при формуванні різнотипових асоціатів.



Просторові конфігурації асоціатів цитозину, отримані в результаті оптимізації геометрії методом АМ1: *a* — мономер цитозину, *C1*; *b* — димер цитозину, *C2*; *c* — тетрамер цитозину, *C4*

**Матеріали і методи.** Об'єктами дослідження обрано молекулу цитозину (*C1*) в аміноформі та цитозинові сендвічоподібні асоціати: димер (*C2*) і тетрамер (*C4*), які складаються з двох і чотирьох молекул цитозину відповідно. Тетрамер сконструйовано як сендвічоподібну суперпозицію двох послідовно взятих димерів.

При виконанні розрахунків використано напівемпіричний квантово-хімічний метод АМ1, який базується на багатоконфігураційній теорії самоузгодженого поля з оптимізацією геометрії в рамках гамільтоніана і включений до комерційного пакету програм Nucleus Chem 6.0. Згадана програма створює просторове зображення досліджуваних молекул, розраховує розподіл електронної та спінової густини по атомах, імітує електронні і коливальні спектри поглинання молекул тощо. Крім цього, метод у режимі оптимізації структурних параметрів дає можливість знаходити такі конформації молекули, які є енергетично найвигіднішими.

**Результати і обговорення.** На першому етапі роботи виконано процедуру оптимізації геометрії досліджуваних молекул методом Флетчера-Рівса — пошук кон'югованого градієнта при точності розрахунків 0,01 ккал/моль. Тобто розраховано довжини зв'язків і значення просторових і двограних кутів, які відповідають мінімуму загальної енергії для молекул цитозину (*C1*) та його асоціатів — димеру (*C2*) і тетрамеру (*C4*). На етапі оптимізації геометрії збережено сендвічоподібний спосіб пакування молекул в *C4*, а процедури оптимізації геометрії піддано лише бічні групи молекул цитозину. Таким чином, створюється можливість прослідкувати тенденції взаємовпливу молекул цитозину в кластері залежно від їхньої кількості.

Структурні формули цитозину та його асоціатів *C2* і *C4*, отримані внаслідок оптимізації геометрії за вищеписаним принципом, показано на рисунку. Параметри рівноважної структури молекул, а саме: оптимізовані довжини зв'язків (*r*),

валентні ( $\alpha$ ) і двогранні ( $\gamma$ ) кути наведено в табл. 1, 2 і 3 відповідно. У табл. 3 чотири значення  $\gamma^T$  відповідають кожній з чотирьох молекул цитозину в тетрамері по порядку (рисунок, в), так само й стосовно димеру.

Як видно з рисунку, C1 є планарною молекулою, C2 і C4 — сендвічоподібні асоціати, причому для C4 спостерігається суттєве відхилення протонів аміногруп від плоскої структури. Слід зазначити, що параметри просторової структури окремих молекул у C1 і C2 майже ідентичні. Але це твердження не стосується NH<sub>2</sub>-групи (див. табл. 2, кути C4-N-H1 і C4-N-H2), яка демонструє чутливість до наявності сусіда, що проявляється через відхилення від планарності цієї групи. Посилення пірамідальності аміногрупи в C2 не перевищує 2%. Для C4 ця величина лежить у межах 3+19%.

Цікаво, що значення валентних і просторових кутів для кожної з чотирьох молекул у згаданому асоціаті відрізняються (тому молекули тетрамеру C4 на рисунку, в, пронумеровано). Для мономеру цитозину, згідно з [5], енергетично вигідною є плоска просторова конфігурація. Вже для димеру спостерігається відхилення від планарності — величини двогранних кутів N3-C4-N-H1 і H2-N-C4-C5 (табл. 3) досягають 10° і більше, що є дуже суттєвим. Утворення тетрамеру підсилює згаданий ефект. З аналізу параметрів просторової структури C1, C2 і C4 випливає, що із збільшенням кількості молекул цитозину в асоціаті зростає пірамідальність аміногрупи, причому вона суттєво відрізняється для різних молекул в межах асоціату. Однак при виконанні таких розрахунків слід мати на увазі, що метод AM1 до певної міри лише якісно моделює стекінг, оскільки не враховує кореляції електронів. Можливо, саме обмеженнями методу зумовлені отримані невеликі довжини зв'язків у аміногрупі C4. Адже між деформованими кільцями, як показали дослідження стекінгових взаємодій в азотистих основах [3, 6], крім дисперсійних, ймовірно виникнення і водневих зв'язків за участі вільної електронної пари амінного атома азоту. Для уточнення цих даних доцільно повторити розрахунки, використовуючи квантово-механічні методи вищого рівня.

За допомогою квантово-хімічного методу AM1 визначено також параметри коливальних та електронних спектрів різнотипових асоціатів молекул цитозину. Отримані результати для C1, C2, C4 наведено в табл. 4 і 5.

Таблиця 1  
Довжини зв'язків у C1, C2 і C4 ( $r$ ,  $r^D$ ,  $r^T$  відповідно)

Зв'язок	$r$ , Å	$r^D$ , Å	$r^T$ , Å
N1-C2	1,440	1,437	1,324
C2-N3	1,400	1,401	1,401
N3-C4	1,348	1,347	1,317
C4-C5	1,466	1,463	1,456
C5-C6	1,372	1,372	1,340
C6-N1	1,365	1,366	1,323
N1-H	0,994	0,994	1,010
C2-O	1,247	1,248	1,220
C4-N	1,374	1,379	1,320
C5-N	1,094	1,095	1,080
C6-H	1,107	1,107	1,080
N-H1	0,990	0,991	0,709
	—	—	0,897
	—	—	0,673
	—	—	0,674
N-H2	0,987	0,989	0,605
	—	—	0,764
	—	—	0,763

Таблиця 2  
Валентні кути в C1, C2 і C4 ( $\alpha$ ,  $\alpha^D$ ,  $\alpha^T$ )

Зв'язок	$\alpha$ , град	$\alpha^D$ , град	$\alpha^T$ , град
H-N1-C2	118,6	118,6	119,2
N1-C2-O	115,9	116,2	119,5
O-C2-N3	123,9	123,6	119,5
N1-C2-N3	120,2	120,2	120,9
C2-N3-C4	118,5	118,4	119,3
N3-C4-N	119,5	119,5	120,8
C4-N-H1	121,0	119,7; 119,9	131,1; 129,7; 144,6; 130,8
C4-N-H2	119,2	117,6; 117,7	139,9; 138,2; 135,6; 122,4
N-C4-C5	118,9	118,1	120,8
C4-C5-N	121,0	121,1	120,4
H-C5-C6	121,2	121,0	120,4
C5-C6-N1	121,3	121,2	120,6
C5-C6-H	121,5	121,6	119,7
H-C6-N1	117,2	121,1	119,7
C6-N1-C2	120,0	120,0	121,5
C6-N1-H	121,5	121,4	119,2

Таблиця 3  
Двогранні кути в C1, C2 і C4 ( $\gamma$ ,  $\gamma^d$ ,  $\gamma^t$ )

Двогранні кути	$\gamma$ , град	$\gamma^d$ , град	$\gamma^t$ , град
H-N1-C2-O	0	1,0; 0,9	0
O-C2-N3-C4	180	-179,1; 179,0	180
C2-N3-C4-N	180	176,6; 176,9	180
N3-C4-N-H1	0	11,2; -10,6	-32,8; 45,5; 54,2; -67,7
H2-N-C4-C5	0	-15,3; 14,6	54,3; -67,7; -32,7; 45,5
N-C4-C5-C6	180	-176,6; 176,9	180
N-C4-C5-H	0	1,7; -1,5	0
C4-C5-C6-N1	180	-1,1; 0,9	0
H-C5-C6-H	0	0,4; -0,6	0
H-C6-N1-H	0	-0,7; 0,8	0

Таблиця 4  
Розраховані методом АМ1 частоти ( $\omega$ ) та інтенсивності (I) нормальних коливань C1, C2 і C4

$\omega$ , см <sup>-1</sup> (I, в. о.)			Віднесення
C1	C2	C4	
3361 (204)	3526 (99)	2: 4372 (23)	N-H1, S, str
	3527 (55)	1, 3, 4: неактивні	N-H2, S, str
3351 (66)	3503 (57)	2: 4272 (30)	N-H1, AS, str
	3505 (53)	1, 3, 4: неактивні	N-H2, AS, str
3340 (21)	3472 (174)	1, 2: 3352 (24)	N1-H, str
	3225 (42)	1, 2: 3356 (27)	C5-H, str
	3130 (43)	3, 4: 3333 (48)	C6-H, str
		3, 4: 3350 (103)	C6-H, str
2178 (259)	2004 (442)	3, 4: 3360 (48)	C6-H, str
		1: 2175 (348)	C2-O, str
		1, 2: 2166 (124)	C2-O, str
		2: 2154 (35)	C2-O, str
		3, 4: 2151 (34)	C2-O, str

Примітка. Позначення коливань: str — валентне; S — симетричне; AS — асиметричне.

Зокрема, у табл. 4 зібрано інформацію про частоти та інтенсивності ІЧ спектрів для таких смуг, які однозначно співвідносяться між собою в C1, C2 і C4. Позначення S і AS застосовано для опису коливань протонів у NH<sub>2</sub>-групі — симетричних або асиметричних. Слід зазначити, що в C2 при даній геометрії спостерігається збіг положень коливань обох молекул. Однак у тетрамері C4 кожній з молекул цитозину відповідає своє окреме

положення на спектрі для одного й того ж коливання, тобто в даному типі асоціату має місце спектральне розщеплення: цифри 1, 2, 3 і 4 в таблиці відповідають 1, 2, 3 і 4-й молекулам цитозину в асоціаті (рисунок, в).

Прослідкуємо тенденції у спектральних змінах при збільшенні кількості молекул в асоціаті на фоні впливу гідратного оточення. При побудові моделей C2 і C4 враховано результати *ab initio* розрахунків у роботах [6, 7] стосовно того, що у водному середовищі енергетично найвигіднішим є утворення сендвичоподібних кластерів. Очевидно, якщо при комплексоутворенні змінюються довжини зв'язків, то й смуги, які відповідають коливанням цих зв'язків, зазнають зсувів.

У молекул цитозину, які знаходяться в димерному комплексі, спостерігається спектральне розщеплення лише для симетричних і асиметричних коливань протонів у NH<sub>2</sub>-групі (в табл. 4 вказано, що кожна з молекул у C2 має свою частоту коливань протонів у NH<sub>2</sub>-групі). Смуги симетричного та антисиметричного валентних коливань протонів у NH<sub>2</sub>-групі зазнають короткохвильового зсуву ( $\Delta\omega = 165$  і  $152$  см<sup>-1</sup> відповідно), причому інтенсивність смуги симетричних коливань зменшується з 204 до 99 і 55 відн. од. Смуга валентних коливань N1H-групи в C2 також зміщена в короткохвильову область на  $132$  см<sup>-1</sup> відносно мономера. Додамо, що на спектрі C2 (на відміну від C1) валентні коливання C5H-, C6H- і N1H-груп представлені окремими смугами, а не однією, як в C1 (3472, 3225 і  $3130$  см<sup>-1</sup> відповідно). Причому має місце зростання інтенсивностей смуг для цих коливань. Звернувшись до аналізу коливальної структури C4, бачимо, що смуги симетричного і антисиметричного валентних коливань протонів у NH<sub>2</sub>-групі змінюються при асоціатуутворенні. В C4 смуги валентних коливань C5H-, C6H- і N1H-груп не розділяються на окремі моди, як в C1, але має місце спектральне розщеплення — одній окремій моді відповідають у C4 аж чотири смуги (3333, 3350, 3352 і  $3356$  см<sup>-1</sup>). На відміну від C2 положення валентних коливань C2O-групи в C4 при комплексоутворенні не змінюється. Симетричні і антисиметричні валентні коливання протонів у NH<sub>2</sub>-групі (N-H<sub>1</sub> і N-H<sub>2</sub> зв'язки) в C4 зазнають набагато суттєвіших синіх зсувів, ніж у C2.

Отже, можна підсумувати, що існуюча тенденція посилення пірамідальності аміногрупи із збільшенням кількості молекул в асоціаті на коли-

Таблиця 5  
Характеристики електронних переходів в C1, C2 і C4

C1		C2		C4	
$\lambda_{\max}$	$f$	$\lambda_{\max}$	$f$	$\lambda_{\max}$	$f$
258,9	1,09	285,9	0,25	463,9	0,27
218,6	0,17	244,0	0,445	358,9	0,01
212,4	0,11	200,0	0,24	280,4	0,02
184,9	0,51	196,4	0,13	322,5	0,06
—	—	193,0	0,51	264,4	0,04
—	—	178,8	0,19	248,3	0,09
—	—	172,5	0,22	—	—

Примітка.  $\lambda_{\max}$  — довжини хвиль, які відповідають максимумам смуг поглинання, нм;  $f$  — відповідні сили осциляторів, в. о.

вальних спектрах проявляється як синій зсув симетричного і антисиметричного коливань протонів у  $\text{NH}_2$ -групі з одночасним зменшенням інтенсивності цих коливань. Такі висновки добре узгоджуються з експериментальними даними робіт [8, 9] щодо зсуву у короткохвильову область валентних коливань протонів у  $\text{NH}_2$ -групі молекул цитозину в різних агрегатних станах при комплексоутворенні.

У табл. 5 представлено результати розрахунків активних смуг електронних спектрів, тобто переходів, які мають сили осциляторів, більші за 0,01. Порівняння цих даних з експериментальними [10, 11] демонструє певну кореляцію. Напі розрахунки свідчать про появу в C2 нових смуг, що може відбуватися за рахунок або зніційованого асоціацією утворення нових рівнів, або збільшення сил осциляторів рівнів, які до утворення асоціатів не були активними. Очевидно, у C2 і C4 має місце поєднання обох цих механізмів. Інтенсивності смуг C4 в діапазоні 280+470 нм зростають відносно C1 і C2. У той же час спостерігається зменшення поглинання у ВУФ області.

Відомо, що просторова будова молекул цитозину є винятково чутливою до найменших змін середовища. Наприклад, до відносного таутомерного вмісту молекул в асоціаті, до найменших варіацій температури, до наявності слабких зовнішніх електромагнітних полів, до стану гідратного оточення тощо [3, 12, 13]. Це означає, що в умовах клітини може реалізуватися значна кількість варіантів просторової конфігурації асоціатів, причому кожен з них нестиме інформаційне навантаження, забезпечуючи ту чи іншу молекулярну взаємодію при досить низьких енергетичних затратах, у тому

числі і за рахунок кооперативних ефектів. Така варіабельність просторової конфігурації, у першу чергу, обумовлена стереохімічною нежорсткістю молекул азотистих основ нуклеїнових кислот [3].

Висновки. Отримані результати свідчать про те, що молекули цитозину в асоціатах виступають як взаємно збурюючий фактор, що призводить до змін їхньої фізичної структури. Результати оптимізації геометрії показують, що молекули цитозину не зберігають планарності при асоціації. При збільшенні кількості молекул у сендвічоподібному асоціаті спостерігається тенденція до посилення пірамідальності аміногруп. Це проявляється на коливальних спектрах як синій зсув симетричного і антисиметричного коливань протонів у  $\text{NH}_2$ -групі з одночасним зменшенням інтенсивності цих коливань. Самоасоціація молекул супроводжується також перерозподілом інтенсивностей спектральних смуг в УФ та ВУФ діапазонах.

Автори щиро вдячні проф. Б. П. Мінаєву за надану допомогу при виконанні розрахунків.

I. A. Petrushko, M. I. Sukhoviya

Stacking self-association of cytosine and its manifestation in optical spectra

Summary

Geometrical and optical characteristics of cytosine stacking complexes have been studied by means of multi-configurational method in the frame of semiempirical Hamiltonian AM1 with full geometry optimization. An analysis of the bond lengths, spatial angles, vibration frequencies and electronic spectra in cytosine monomer, dimer and tetramer shows the changes in all aforementioned physical characteristics upon the complexing. The calculation predicts a high-frequency shift of the  $\text{NH}_2$ -group valence vibrations. Intensity distribution of the electronic spectra bands of different cytosine complexes strongly depends on the number of molecules in

the complex. A biophysical significance of the received results is discussed.

**Key words:** cytosine complexes, physical characteristics, theoretical study.

*И. А. Петрушко, М. И. Суховия*

Стопочная самоассоциация цитозина и ее проявления в оптических спектрах

Резюме

С использованием многоконфигурационной теории самосогласованного поля с оптимизацией геометрии в рамках гамильтониана AM1 проведено квантово-химическое изучение геометрических и оптических характеристик стопочных комплексов цитозина. Анализ длин связей, пространственных углов, частот колебательных и электронных спектров в мономере, димере и тетрамере цитозина свидетельствует о том, что эти физические свойства молекул изменяются при комплексообразовании. В частности, расчеты предсказали высокочастотный сдвиг валентных колебаний  $\text{NH}_2$ -группы, что согласуется с экспериментальными данными. Распределение интенсивностей полос в электронных спектрах зависит от количества молекул в комплексах цитозина. Обсуждается биофизическая значимость полученных результатов

**Ключевые слова:** комплексы цитозина, физические характеристики, теоретическое изучение.

#### ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Krasnokutski S. A., Ivanov A. Y., Izvekov V., Sheina G. G., Blagoi Yu. P. FTIR matrix-isolation study of uridine, thymidine, ribose and glucose // *J. Mol. Struct.*—1999.—482.—P. 249—252.
2. Maleev V., Semenov M., Kruglova E., Bolbukh T., Gasan A., Bereznyak E., Shestopalova A. Spectroscopic and calorimetric study of DNA with a new series of actinidin derivatives // *J. Mol. Struct.*—2003.—645.—P. 145—158.
3. Говорун Д. М. Як структурна мінливість азотистих основ відбивається на макроскопічних властивостях їх кристалів // *Біополімери і клітина.*—1998.—12, № 5.—С. 421—427.
4. Круглова Е. Б., Довбешко Г. И., Крутько Н. А., Пашук Е. П., Карпенко Н. А., Алесина М. Ю., Красницкая А. А. Исследование структурных повреждений в молекулах ДНК из гамма-облученных крыс // *Вестн. ХНУ.*—№ 450.—Биофиз. вестн.—1999.—Вып. 4.—С. 92—95.
5. Электронное строение, спектроскопия и реакционная способность молекул. Нуклеиновые основания, витамины В6 и их аналоги / Под ред. Ю. В. Морозова, Н. П. Бажулиной.—М.: Наука, 1989.—288 с.
6. Hobza P., Sponer J. Structure, energetics and dynamics of the nucleic acid base pairs: nonempirical *ab initio* calculations // *Chem. Revs.*—1999.—99.—P. 3247—3276.
7. Sivanesan D., Babu K., Shidhar R., Subramanian V., Ramasami T. Does a stacked DNA base pair hydrate better than a hydrogen-bonded one?: An *ab initio* study // *J. Phys. Chem. A.*—2000.—104.—P. 10887—10894.
8. Nir E., Hunig I., Kleinermanns I., de Vries M. S. The nucleobase cytosine and the cytosine dimer investigated by double resonance laser spectroscopy and *ab initio* calculations // *Phys. Chem. Chem. Phys.*—2003.—5.—P. 4780—4785.
9. Петрушко І. А., Цуд Н. М., Суховія М. І. Інфрачервона спектроскопія впливу ультрафіолету на структуру плівки цитозину, гуаніну та їх комплексу // *Вісн. ХНУ.*—№ 637.—Біофіз. вісн.—2004.—Вип. 1—2 (14).—С. 23—26.
10. Виноградов И. П., Земских В. В., Додонова Н. Я. Спектры поглощения оснований нуклеиновых кислот (110+300 нм) и их люминесценция, возбуждаемая в вакуумной ультрафиолетовой области // *Оптика и спектроскопия.*—1974.—36, № 3.—С. 596—599.
11. Суховия М. И., Славик В. Н., Шафранюш И. И., Шимон Л. Л. Особенности взаимодействия молекул нуклеиновых кислот с электронами малых энергий // *Биополімери і клітина.*—1991.—7, № 6.—С. 77—82.
12. Новиков В. В. Электромагнитная биоинженерия // *Биофизика.*—1998.—43, № 4.—С. 588—594.
13. Данилов В. И. Влияние гидратации на таутомерию оснований нуклеиновых кислот: компьютерное моделирование методом Монте-Карло // *Вестн. ХНУ.*—№ 466.—Биофиз. вестн.—1999.—Вып. 5.—С. 11—20.

УДК 577.3

Надійшла до редакції 16.02.05