

*Краткие сообщения*

## Конформационное равновесие молекул 2'-дезоксиаденозина, изолированных в инертных матрицах Ar

А.Ю. Иванов

*Физико-технический институт низких температур им. Б.И. Веркина НАН Украины  
пр. Ленина, 47, г. Харьков, 61103, Украина  
E-mail: ivanov@ilt.kharkov.ua*

Статья поступила в редакцию 25 декабря 2013 г., после переработки 28 января 2014 г.,  
опубликована онлайн 21 апреля 2014 г.

В диапазоне  $3800\text{--}180\text{ см}^{-1}$  с разрешением  $0,3\text{ см}^{-1}$  получены ИК фурье-спектры молекул 2'-дезоксиаденозина (dA), изолированных в низкотемпературных матрицах Ar. Квантово-механическими методами MP2 и DFT/B3LYP проведены расчеты заселенности основных структурных изомеров dA. Установлено, что dA выдерживает длительное испарение при температуре 440 К без термического разложения. Впервые показано, что заселенность *syn*-конформеров dA с внутримолекулярной водородной связью O5'H–N3 в газовой фазе и в матрице составляет около  $(76 \pm 5)\%$ . При замораживании в матрице *syn*-конформеры с внутримолекулярной водородной связью O5'H–N3 и C3'-эндо структурой дезоксирибозного кольца полностью переходят в подмножество *syn*-конформеров с C2'-эндо структурой дезоксирибозного кольца. Из этого подмножества *syn*-конформеров в матрице могут стабилизироваться две структуры, которые отличаются углом поворота O3'H группы. В отличие от пиримидиновых нуклеозидов, конформеры dA с внутримолекулярными водородными связями O3'H–O5' или O5'H–O3' не были обнаружены.

У діапазоні  $3800\text{--}180\text{ см}^{-1}$  з розділенням  $0,3\text{ см}^{-1}$  отримані ІЧ фур'є-спектри молекул 2'-дезоксиаденозину (dA), ізольованих у низькотемпературних матрицях Ar. Квантово-механічними методами MP2 та DFT/B3LYP проведено розрахунки основних структурних ізомерів dA. Встановлено, що dA витримує тривале випаровування при температурі 440 К без термічного розкладання. Вперше показано, що заселеність *syn*-конформерів dA з внутрішньомолекулярним водневим зв'язком O5'H–N3 у газовій фазі та у матриці становить біля  $(76 \pm 5)\%$ . При заморожуванні у матриці *syn*-конформери з внутрішньомолекулярним водневим зв'язком O5'H–N3 та C3'-ендо структурою дезоксирибозного кільця повністю переходять до підмножини *syn*-конформерів з C2'-ендо структурою дезоксирибозного кільця. З цієї підмножини *syn*-конформерів у матриці можуть стабілізуватись дві структури, які відрізняються кутом оберту O3'H групи. На відміну від піримідинових нуклеозидів, конформери dA з внутрішньо-молекулярними водневими зв'язками O3'H–O5' або O5'H–O3' не були виявлені.

PACS: **33.15.–e** Свойства молекул;  
**33.20.–t** Молекулярные спектры.

Ключевые слова: нуклеозиды, аденозин, матричная изоляция, ИК фурье-спектроскопия.

### 1. Введение

Несмотря на большой интерес современной науки к изучению фрагментов биополимерных молекул в газовой фазе [1–4], экспериментальные работы, посвященные инфракрасной спектроскопии пуриновых

нуклеозидов, весьма немногочисленны [3,4]. Низкое давление насыщенных паров и термическая нестабильность гликозидной связи препятствуют переводу этих молекул в газовую фазу. Поэтому даже для высокочувствительного метода резонансно усиленной

двухфотонной ионизации (R2PI) использовано лазерное испарение биомолекул [4].

Ранее нами показано, что возможно получить молекулярные пучки ряда пиримидиновых нуклеозидов в термодинамически равновесных условиях при испарении из ячейки Кнудсена [5–8]. В настоящей работе объектом исследования были изолированные в Ag матрицах молекулы пуринового нуклеозида 2'-дезоксиаденозина (dA), который является структурной единицей ДНК. Согласно квантово-химическим расчетам, в газовой фазе пуриновые нуклеозиды могут иметь много конформационных изомеров [9,10]. Метод матричной изоляции позволяет выявить энергетически наиболее выгодные структуры, поскольку в них переходит большинство низкобарьерных изомеров в процессе замораживания в матрице. Для отнесения характеристических полос наиболее заселенных конформеров dA в экспериментальных ИК фурье-спектрах, кроме *ab initio* расчетов методами DFT и MP2, использовалось УФ облучение матриц.

## 2. Методы эксперимента и расчетов

Характеристика различных этапов эксперимента была дана в ряде наших работ [5–8,11]. ИК фурье-спектры dA регистрировались в диапазоне 3800–180 см<sup>-1</sup> с аподизированным разрешением 0,3 см<sup>-1</sup>. Молекулярные потоки dA (Sigma, чистота > 99%) и Ar, а также концентрация dA в матрице (matrix to sample ratio = *M/S*) измерялись с помощью низкотемпературных кварцевых микровесов [12]. Для испарения dA температуру ячейки Кнудсена стабилизировали на уровне 440 К. Осаждение аргоновых матриц производили на плоское медное зеркало при температуре 6 К. Чистота инертного газа (Ar) превышала 99,99%. Сдвиг конформационного равновесия молекул dA в матрице выполнялся с помощью широкополосного УФ облучения дейтериевой лампой H4141SV (Hitachi). Для анализа влияния УФ облучения на ИК фурье-спектры dA использована аппроксимация полос поглощения с помощью программы «Fityk» [13].

Квантово-механические расчеты выполнялись с помощью программы Firefly (версия 7.1.F) [14], которая частично использует алгоритмы программы GAMESS (US) [15]. Расчеты выполнены на Core-Quad рабочей станции, а также Linux-грид-кластере ФТИНТ им. Б.И. Веркина. Для оптимизации молекулярных структур и расчета колебательных спектров dA использован метод теории возмущений MP2 и метод теории функционала плотности DFT/B3LYP с базисными наборами cc-pVDZ и 6-311++G(df,pd). Выбор метода DFT/B3LYP/6-311++G(df,pd) обеспечивал хорошую корреляцию между частотами полос поглощения расчетных и экспериментальных спектров [16]. Для расчета частот также был использован метод DFT-D3(BJ) с эмпирической дисперсионной коррекцией [17,18].

## 3. Результаты и обсуждение

Несмотря на более высокую температуру испарения, чем у пиримидиновых нуклеозидов, в спектрах 2'-дезоксиаденозина отсутствуют признаки термического разложения, которое можно установить по узким полосам поглощения соответствующего основания. Сравнение экспериментальных спектров dA и 2'-дезоксисуридина (dU) показывает, что частоты валентных колебаний свободных от внутримолекулярных водородных связей групп O5'H и O3'H практически не сдвигаются (рис. 1(a)). Однако в спектре dA резко уменьшается интенсивность полосы поглощения колебания  $\nu$ O5'H. Кроме того, в отличие от инфракрасных спектров dU [5], в спектре dA появляется широкая интенсивная полоса поглощения с максимумом на 3262 см<sup>-1</sup> (рис. 1(б)). Такие полосы поглощения характерны для OH колебаний, участвующих в образовании водородной связи. Низкая температура матрицы при напылении (6 К) и разбавление (*M/S* = 500) препятствуют образованию существенного количества межмолекулярных ассоциатов. Ранее мы наблюдали рост заселенности минорных конформеров пиримидиновых нуклеозидов после УФ облучения матриц [7,8]. Под действием УФ облучения изменяется конформационный баланс в матрице: интенсивность полосы 3262 см<sup>-1</sup> падает (рис. 1(б)) и растет интенсивность полосы свободного колебания  $\nu$ O5'H минорных конформеров (рис. 1(a)). Поэтому полосу 3262 см<sup>-1</sup> (рис. 1(б)) можно отнести к колебанию группы O5'H, образующей внутримолекулярную водородную связь.

Расчеты методами MP2/cc-pVDZ и DFT/B3LYP/6-311++G(df,pd) показывают, что наиболее низкую энергию имеют *syn*-конформеры. В *syn*-конформациях шестичленное кольцо пурина нависает над сахарным кольцом, поэтому может образовываться внутримолекулярная водородная связь O5'H–N3 (рис. 1). Подмножество таких *syn*-конформеров представлено четырьмя структурами, которые отличаются конформацией дезоксирибозного кольца (C2'-эндо или C3'-эндо) и углом поворота ( $\epsilon$ ) группы O3'H. Чтобы сопоставить экспериментальные и расчетные колебательные спектры, для расчета из этих структур необходимо выбрать именно те, которые фиксируются в матрице. Известно, что высота барьера меньше 8 кДж/моль может приводить к сдвигу конформационного равновесия в процессе замораживания при 10–12 К [6–8]. Поэтому, согласно оценочным расчетам высоты барьеров (рис. 2(a)), C3'-эндо конформации будут переходить в C2'-эндо при замораживании в матрице. УФ облучение матрицы не приводит к росту заселенности C3'-эндо конформаций. Ранее подобный результат был получен при исследовании *syn*-конформеров dU [6,7]. Для торсионного угла  $\epsilon$  барьер значительно выше, и в матрице при 6 К с практически равной заселенностью

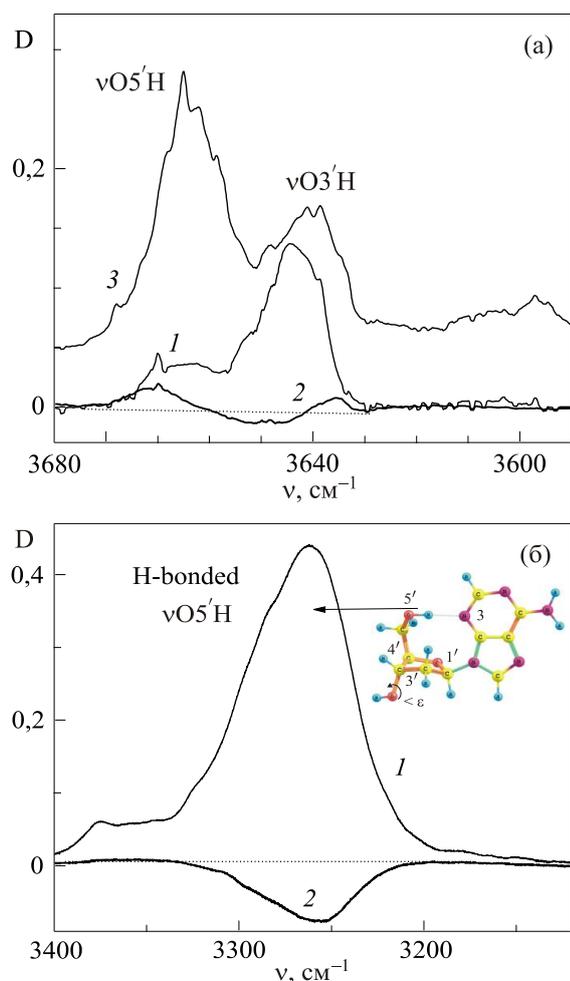


Рис. 1. (Онлайн в цвете) Экспериментальные ИК фурье-спектры области свободных (а) и водородно-связанных (б) валентных колебаний  $\nu\text{OH}$  молекул 2'-дезоксиаденозина в Ar матрице: спектр после напыления ( $T = 6$  К,  $M/S = 500$ ) (1); разностный спектр после 40 мин УФ облучения матрицы (2); приведенный для сравнения спектр 2'-дезоксисуридина (3).

могут фиксироваться две конформации: dA\_s2\_0 и dA\_s2\_1 (рис. 2(б)). Расчеты колебательных спектров методом DFT/B3LYP/6-311++G(df,pd) для этих двух структур демонстрируют хорошее согласие с экспериментальным спектром (табл. 1). Использование метода DFT-D3(BJ) заметно улучшает согласие с экспериментом для частоты колебания  $\nu\text{O5'H}$  (табл. 1). Следовательно, в матрице подмножество *syn*-конформеров с внутримолекулярной водородной связью O5'H-N3 представлено исключительно конформерами с C2'-эндо структурой дезоксирибозного кольца.

Конформации с C3'-эндо дезоксирибозным кольцом могут стабилизировать внутримолекулярные водородные связи O3'H-O5' и O5'H-O3'. В спектре dU характеристические полосы поглощения подобных конформаций расположены в диапазоне 3620–3590  $\text{cm}^{-1}$  (рис. 1(а)). Полосы поглощения конформаций dA с такими внутримолекулярными водородными связями тоже должны

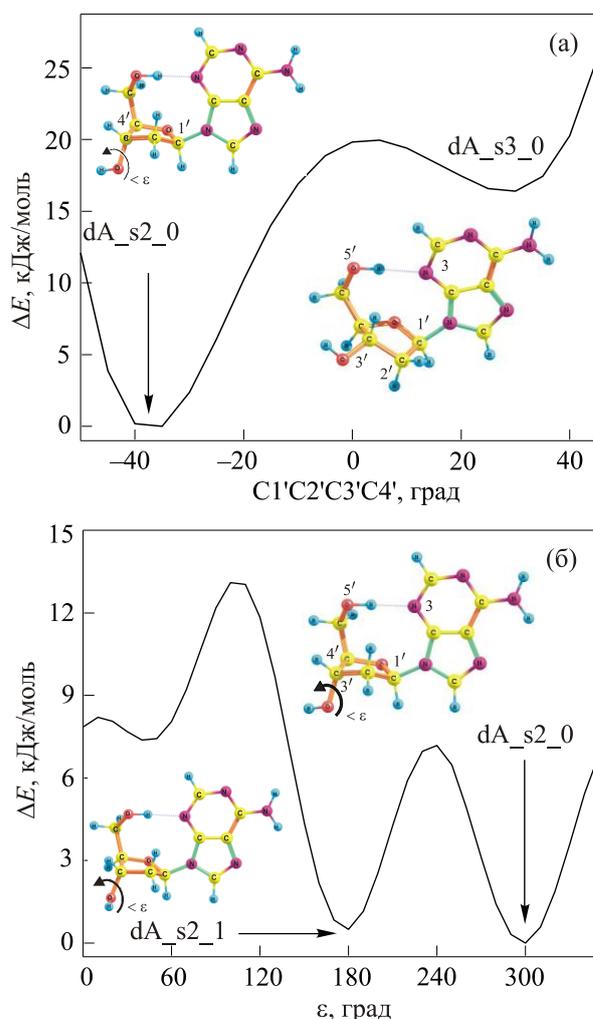


Рис. 2. (Онлайн в цвете) Энергетические профили конформеров dA, рассчитанные методом MP2/cc-pVDZ для соответствующих координат: торсионный угол C1'C2'C3'C4' (а), торсионный угол  $\epsilon$  (б).

попадать в этот диапазон. Например, полоса поглощения  $\nu\text{O3'H}$  конформации dA\_s3\_0 (табл. 1). Однако в отличие от спектров dU, в ИК фурье-спектрах dA отсутствуют полосы поглощения вблизи 3600  $\text{cm}^{-1}$  (рис. 1(а)). УФ облучение также не приводит к росту заселенности этих конформаций в Ar матрице (рис. 1(а)).

УФ облучение матрицы дает возможность оценить заселенность двух подмножеств конформеров: с внутримолекулярной водородной связью O5'H-N3 и со свободной группой O5'H. Разностные спектры после УФ облучения показывают, что убывание интенсивности  $I_{\text{HВ}}$  полосы 3262  $\text{cm}^{-1}$  в 24 раза сильнее, чем рост интенсивности  $I_{\text{А}}$  полосы 3665  $\text{cm}^{-1}$ , которая относится к конформациям со свободной O5'H группой. Аппроксимация полос поглощения функциями Гаусса и Лоренца также позволяет оценить изменения интенсивностей полос после УФ облучения и демонстрирует близкий результат (23,5). Экспериментальная погрешность такой оценки не превышает  $\pm 5\%$ . Отношение

Таблица 1. Экспериментальные частоты полос поглощения ( $\text{см}^{-1}$ ) диапазона валентных колебаний  $\nu\text{OH}$ ,  $\nu\text{NH}$  в матрицах Ar и частоты некоторых конформеров dA, рассчитанные методом DFT/B3LYP/6-311++G(df,pd)\*

Колебание	Syn-конформеры		Anti-конформеры		Матрица
	dA_s2_0	dA_s2_1	dA_a2_0	dA_a3_1	
$\nu\text{O}5'\text{H}$	–	–	3662	3668	3665
$\nu\text{O}3'\text{H}$	3640 3643 <sup>D3</sup>	3642 3645 <sup>D3</sup>	3643	–	3644
$\nu\text{O}3'\text{H}$ –водородная связь с $\text{O}5'\text{H}$	–	–	–	3598	–
$\nu\text{NH}_{2\text{as}}$	3556 3358 <sup>D3</sup>	3557 3559 <sup>D3</sup>	3559	3561	3557
$\nu\text{NH}_{2\text{sym}}$	3430 3431 <sup>D3</sup>	3430 3432 <sup>D3</sup>	3433	3434	3439
$\nu\text{O}5'\text{H}$ –водородная связь с N1	3308 3273 <sup>D3</sup>	3286 3250 <sup>D3</sup>	–	–	3262

Примечание: \* — все расчетные частоты умножены на корректирующий коэффициент 0,9505.

<sup>D3</sup> — расчет методом DFT-D3(BJ)/B3LYP/6-311++G(df,pd).

интенсивностей этих полос для расчетных спектров конформаций dA\_s2\_0, dA\_s2\_1 и dA\_a2\_0 хорошо согласуется с экспериментом:  $I_{\text{HB}}/I_{\text{A}} = 22,1-23,6$ . Следовательно, измерив интегральные интенсивности полос 3262 и 3665  $\text{см}^{-1}$ , можно оценить заселенность syn-конформеров с внутримолекулярной водородной связью  $\text{O}5'\text{H}-\text{N}1$  на уровне  $(76 \pm 5)\%$ . Заселенность всего подмножества syn-конформеров может быть еще выше, так как некоторые минорные syn-конформеры имеют свободную  $\text{O}5'\text{H}$  группу. Необходимы более подробные расчеты энергий и колебательных спектров для оценки вклада минорных конформеров в полосу 3665  $\text{см}^{-1}$ . Важно отметить, что соотношение заселенности между syn- и anti-подмножествами конформеров должно сохраняться при замораживании газовой фазы в матрице, поскольку барьер вращения вокруг гликозидной связи весьма высок [7].

#### 4. Выводы

Молекулы 2'-дезоксиаденозина выдерживают длительное испарение при температуре 440 К без разрыва гликозидной связи.

Заселенность syn-конформеров с внутримолекулярной водородной связью  $\text{O}5'\text{H}-\text{N}1$  в газовой фазе находится на уровне 76%. В матрице подмножество syn-конформеров представлено конформерами с  $\text{C}2'$ -эндо структурой дезоксирибозного кольца.

В отличие от пиримидиновых 2'-дезоксинуклеозидов в матрицах практически отсутствуют конформеры dA с внутримолекулярными водородными связями  $\text{O}3'\text{H}-\text{O}5'$  и  $\text{O}5'\text{H}-\text{O}3'$ .

Работа выполнена при финансовой поддержке национальной академии наук Украины (грант №0110U007895), а также Государственного фонда фундаментальных исследований Украины (грант

№ 54.1/044). Автор благодарит Ю.В. Рубина и С.Г. Степаньяна за обсуждение работы, а также Л.Ф. Белоуса за помощь в проведении расчетов на GRID-кластере Физико-технического института низких температур им. Б.И. Веркина НАН Украины.

1. J.P. Simons, R.A. Jockusch, P. Carcabal, I. Hunig, R.T. Kroemer, N.A. Macleod, and L.C. Snoek, *Intern. Rev. Phys. Chem.* **24**, 489 (2005).
2. M.S. de Vries and P. Hobza, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **58**, 585 (2007).
3. E. Nir, Ch. Plutzer, K. Kleinermanns, and M. de Vries, *Eur. Phys. J. D* **20**, 317 (2002).
4. F. Schinle, P.E. Crider, M. Vonderach, P. Weis, O. Hampe, and M.M. Kappes, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **15**, 6640 (2013).
5. A.Yu. Ivanov, S.A. Krasnokutski, G. Sheina, and Yu.P. Blagoi, *Spectrochim. Acta A* **59**, 1959 (2003).
6. A.Yu. Ivanov and V.A. Karachevtsev, *Fiz. Nizk. Temp.* **33**, 772 (2007) [*Low Temp. Phys.* **33**, 590 (2007)].
7. А.Ю. Иванов, *ФНТ* **34**, 962 (2008) [*Low Temp. Phys.* **34**, 762 (2008)].
8. A.Yu. Ivanov, *Fiz. Nizk. Temp.* **36**, 571 (2010) [*Low Temp. Phys.* **36**, 478 (2010)].
9. C. Zhang and Y. Xue, *J. Mol. Struct.: Theo Chem.* **802**, 35 (2007).
10. Р.О. Жураківський, Д.М. Говорун, *Біополімери і клітина*, **23**, 45 (2007).
11. A.Yu. Ivanov, A.M. Plokhotnichenko, E.D. Radchenko, G.G. Sheina, and Yu.P. Blagoi, *J. Mol. Struct.* **372**, 91 (1995).
12. A.Yu. Ivanov and A.M. Plokhotnichenko, *Instr. Experim. Techn.* **52**, 308 (2009).
13. M. Wojdyr, *J. Appl. Cryst.* **43**, 1126 (2010).
14. A.A. Granovsky, *Firefly, version 7.1G*, <http://classic-chem.msu.su/gran/firefly/index.html> (2009).

15. M.W. Schmidt, K.K. Baldrige, J.A. Boatz, S.T. Elbert, M.S. Gordon, J.H. Jensen, S. Koseki, N. Matsunaga, K.A. Nguyen, S. Su, T.L. Windus, M. Dupuis, and J.A. Montgomery, *J. Comput. Chem.* **14**, 1347 (1993).
16. A.Yu. Ivanov, Yu.V. Rubin, S.A. Egupov, L.F. Belous, and V.A. Karachevtsev, *Fiz. Nizk. Temp.* **39**, 704 (2013) [*Low Temp. Phys.* **39**, 546 (2013)].
17. S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, and H. Krieg, *J. Chem. Phys.* **132**, 154104 (2010).
18. S. Grimme, S. Ehrlich, and L. Goerigk, *J. Comput. Chem.* **32**, 1456 (2011).

#### The conformational equilibrium of 2'-deoxyadenosine molecules isolated in the inert Ar matrices

A.Yu. Ivanov

The FTIR spectra of 2'-deoxyadenosine (dA) molecules isolated in low-temperature Ar matrices were obtained in the range of 3800–180 cm<sup>-1</sup> with resolution 0.3 cm<sup>-1</sup>. The populations of main structural isomers of dA were estimated by using of the MP2 and

DFT/B3LYP methods of quantum-mechanical calculations. It was established that dA may be evaporated over a long period at 440 K without thermodestruction. For the first time, it was established that the populations of the dA *syn*-conformers is close to (76 ± 5)% in the gas phase and matrices. At a frozen in matrix the *syn*-conformers with the intramolecular *H*-bond O5'H–N3 and C3'-endo structure of the deoxyribose ring transfer to the subset of *syn*-conformers with the C3'-endo structure of the deoxyribose ring. Only two structures from this subset with the different rotation angle of the O3'H group may be frozen in the matrices. Unlike the pyrimidine nucleosides the dA conformers with the intramolecular *H*-bond O3'H–O5' or O5'H–O3' were not found.

PACS: **33.15.-e** Properties of molecules;  
**33.20.-t** Molecular spectra.

Keywords: nucleosides, adenosine, matrix isolation, FTIR spectroscopy.