

Як структурна мінливість азотистих основ відбивається на макроскопічних властивостях їхніх кристалів

Д. М. Говорун

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України
252143, Київ, вул. Академіка Заболотного, 150

Обстоюється точка зору, згідно з якою неординарні фізико-хімічні властивості кристалів азотистих основ (невпорядкованість сухої решітки, яка суттєво знижується при зволоженні та дейтеруванні, температурні аномалії діелектричної проникності та тангенса кута втрат, наявність дефектів — пасток носіїв заряду, порушення правил відбору в поляризованих коливальних спектрах тощо) зумовлені стереохімічною нежорсткістю самих основ. Кристали азотистих основ, що мають аміногрупу, та їхні кристалогідрати с, по суті, Ян-Теллерівськими кристалами з усіма фізико-хімічними наслідками, що з цього випливають. Це дозволяє пояснити мікроструктурне походження пропелерової конфігурації шарового пакування азотистих основ з аміногрупою у кристалічному стані підвищенням енергії інверсії аміногрупи до величини, що перевищує kT , при переході з вільного стану у кристалічний за рахунок порушення рп-спряження та наявністю специфічних електростатичних контактів вільної електронної пари амінного атома азоту з атомами водню чи вуглецю, що несуть на собі позитивний заряд, з верхнього або нижнього шару молекул. Аналогічні причини лежать в основі пропелерової конфігурації Уотсон-Криківських пар ДНК. Наводиться оцінка інверсної енергетики азотистих основ з аміногрупою для кристалічного стану, а також для ДНК.

Вступ. Кристалам компонентів нуклеїнових кислот (НК), зокрема азотистим основам, належить важливе місце в ієрархії модельних систем НК [1, 2]. Вивчення їхніх макроскопічних властивостей різними фізико-хімічними методами, насамперед дифракційними [3, 4] та спектроскопічними [2, 5, 6], дозволяє краще зрозуміти мікроскопічну природу міжмолекулярних взаємодій [3, 4], які визначають структурно-динамічну самоорганізацію НК, а відтак — і їхнє функціонування.

Нуклеотидні основи та їхні метильовані по глікозидному азоту аналоги утворюють у кристалічному стані квазіодноримірні шари, в яких молекули асоційовані горизонтальними водневими зв'язками типу $\text{NH}\dots\text{N}$ чи $(i)\text{NH}\dots\text{O}$. При цьому традиційно вважається, що молекули, які знаходяться у сусідніх шарах, не вступають між собою у так звані вертикальні водневі зв'язки [3]. У більшості

випадків у горизонтальних водневих зв'язках беруть участь ті ж групи атомів, що й комплементарних нуклеотидів у складі ДНК — донори і акцептори Уотсон-Криківських водневих зв'язків, а також групи атомів, що втягуються у водневі зв'язки з молекулами води гідратної оболонки ДНК [7]. Відстань між молекулами азотистих основ, які знаходяться у сусідніх шарах, практично не залежить від їхньої природи і приблизно становить 3,4 Å, що майже збігається з аналогічною величиною для макромолекули ДНК в основному конформаційному стані [1, 3].

Таким чином, кристали азотистих основ моделюють як пакування, так, очевидно, і основні типи міжмолекулярних взаємодій, які стабілізують просторову архітектуру їхніх високомолекулярних аналогів — полінуклеотидів, зокрема ДНК.

Неординарні фізико-хімічні властивості кристалів компонентів НК — аналіз літературних джерел. На відміну від класичних молекулярних кристалів з водневими зв'язками [8], кристали

компонентів НК демонструють цілу низку неординарних фізико-хімічних властивостей. Так, безводні плівки урацилу (Ura), аденіну (Ade), гуаніну (Gua), цитозину (Cyt) та ізоцитозину (isoCyt), отримані шляхом вакуумної сублімації на підкладку, мають неупорядковану (аморфну) структуру [9—12]. Про це однозначно свідчить як дифузний характер рентгенівської дифракційної картини [10, 11] цих об'єктів, так і розмитість їхніх спектрів УФ та ІЧ поглинання [9—12]. За даними рентгенографії та ІЧ спектроскопії, в інтервалі температур $10 \div 120$ °C відбувається перехід Ura із неупорядкованої аморфної у впорядковану кристалічну фазу [11].

Характерно, що для всіх без винятку сухих плівок основ ДНК при кімнатній температурі має місце поступова їхня кристалізація під впливом парів води [10—12], причому швидкість ефекту залежить як від складу плівки і насиченості водяної пари, так і від часу зволоження. Процес кристалізації — аморфізації має зворотний характер: відпалювання вологих плівок при досить високій температурі, що не спричиняє їхньої терморуйнації, призводить до аморфізації структури і навпаки [10—12].

Аналогічні процеси розвиваються і в кристалогідраті цитозину ($\text{Cyt} \cdot \text{H}_2\text{O}$), вирощеному шляхом повільного охолодження водного розчину Cyt [13]. Відпалювання його протягом години при температурі 110 °C у вакуумі ($\approx 1,33 \cdot 10^{-4}$ Н/м²) спричиняє перехід від кристалічної фази до неупорядкованої (текстурованої). Дані рентгенографії [10, 11, 13] та ІЧ [9—12] і УФ спектроскопії [9—12] свідчать про те, що при переході з аморфного в кристалічний стан не відбувається радикальної перебудови ані характерного шарувато-стрічкового просторового розташування молекул, ані просторової сітки міжмолекулярних водневих зв'язків: при зволоженні дещо збільшується енергія вертикальних стекінгових взаємодій [12] та збурюються потенціальні криві горизонтальних міжнуклеотидних водневих зв'язків, що призводить до посилення останніх [11, 12].

Кристали основ ДНК з аміногрупою мають також аномальні діелектричні властивості. Так, для Cyt і $\text{Cyt} \cdot \text{H}_2\text{O}$ характерна суттєво немонотонна температурна залежність діелектричної проникності ϵ і тангенса кута втрат δ , яка істотно залежить від орієнтації зовнішнього електричного поля E відносно кристалографічних осей [13]. Аномалії для ϵ і $\text{tg } \delta$ у кристалі $\text{Cyt} \cdot \text{H}_2\text{O}$ спостерігаються при $-50 \div -60$, 0, 60 і 100 °C [13]. Для Cyt аналогічні аномалії мають місце при 0 °C, а починаючи з $25 \div 35$ °C фіксується різке зростання як ϵ , так і $\text{tg } \delta$.

В цьому ж інтервалі температур має місце істотна залежність ϵ від напруженості E , а також суттєве зростання (до 5—10 хв) часу її релаксації [13].

Окрім того, за допомогою різних оптико-фізичних методів у безводних кристалах основ ДНК реєструються дефекти [14—19], природа яких не може бути зведена до структурних дефектів типу дислокацій. Так, зокрема, методом термостимульованої люмінесценції [17—19] встановлено, що власні (а не індуковані несконтрольованими домішками) дефекти в кристалах канонічних нуклеотидних основ, а також $\text{Cyt} \cdot \text{H}_2\text{O}$ мають молекулярне походження і відіграють роль мілких (з глибиною залягання, що не перевищує 0,1 eВ) пасток носіїв заряду — дірок [14].

Беручи до уваги істотну залежність кривих термостимульованої люмінесценції від метилювання основ (так, наприклад, у кристалі $m_2^{1,4}\text{Cyt}$ структурні дефекти взагалі не спостерігаються), автори [17—19] висловлюють припущення про зв'язок цих дефектів з прототропними таутомерами, відводячи роль вищезгаданих пасток рідким прототропним таутомерам азотистих основ з нижчим, ніж для основної таутомерної форми, адіабатичним потенціалом іонізації.

У кристалах азотистих основ спостерігається також явище контактної конформерії [20, 21] — співіснування симетрично незалежних (тобто не зв'язаних операціями просторової групи симетрії кристалу) молекул з різною конформацією: чи не найхарактернішим у цьому відношенні прикладом є квазігетеромолекулярний кристал isoCyt [22]. При переході канонічних нуклеотидних основ та деяких їхніх аналогів з вільного стану у кристалічний істотно збурюються їхні фізико-хімічні характеристики, зокрема, геометрична і електронна структури [20, 21]. Так, для модифікованої нуклеотидної основи $s^2\text{Cyt}$ відмінність геометричних розмірів молекули у кристалі в порівнянні з вільним станом сягає близько 0,35 Å [21].

Цікаві спектроскопічні закономірності зафіксовано в низькочастотному ($\nu < 200$ см⁻¹) спектрі ІЧ поглинання кристалічного цитидину при $T = 7$ K [23], а саме — істотне звуження і розщеплення коливальних смуг у порівнянні з аналогічним спектром при кімнатній температурі, причому спостережувана кількість смуг значно перевищує чисельність, передбачувану правилами відбору. Порушення класичних правил відбору спостерігали також у поляризованих низькочастотних ІЧ і Раманівських спектрах Cyt і $\text{Cyt} \cdot \text{H}_2\text{O}$ [24] і якісно пояснювали його неідеальністю (дефектністю) кристалічної решітки.

Мікроструктурне походження неординарних

макроскопічних властивостей кристалів азотистих основ. На думку автора, в основі всіх перелічених вище макроскопічних властивостей кристалів азотистих основ лежить спільна мікроскопічна причина — структурна мінливість молекулярної будови самих основ, що супроводжується дипольною нестійкістю [25], та її характерна залежність від стекінгу.

Так, азотисті основи, які мають у своєму складі аміногрупу, с, як показують квантово-хімічні розрахунки [26], типовими Ян-Теллерівськими молекулами [27] зі складною гіперповерхнею потенціальної енергії [28]. При конденсації вони утворюють Ян-Теллерівські молекулярні кристали [27] з характерними фізико-хімічними властивостями, частина яких зафіксована експериментально [9—19].

Структурною особливістю кристалів азотистих основ, як відомо, є шаруватість: молекули в них асоційовані міжмолекулярними Н-зв'язками у горизонтальні шари, а зв'язок між молекулами сусідніх (верхніх і нижніх) шарів забезпечується вертикальними взаємодіями — так званим стекінгом [1—4]. Традиційно стекінг нуклеотидних основ та їхніх Уотсон-Криківських пар як у вільному стані, так і в кристалічному розглядають як делокалізовану взаємодію плоско-паралельних структур [3]. Структурна мінливість, а саме — стереохімічна нежорсткість основ [25, 26] та пов'язані з нею ефекти [28, 29] при цьому до уваги не беруться. Врахування ж стереохімічної нежорсткості азотистих основ, насамперед пірамідального характеру аміногрупи [25, 26], з необхідністю вимагає залучення до стекінгу локальних кулонівських контактів вільної електронної пари (ВЕП) амінного атома азоту з атомами водню чи вуглецю, що мають позитивний заряд, молекул-сусідів, які знаходяться у нижньому або верхньому горизонтальному шарі.

Поодинокі випадки таких вертикальних контактів за участю ВЕП амінного атома азоту, коли позитивно зарядженим атомом, з яким взаємодіє ВЕП, є атом водню (у даному випадку їх можна класифікувати як вертикальні Н-зв'язки), описані в літературі [3, 4] та встановлена їхня роль у формуванні кристалічної ґратки. Таким контактам сприяють вертикальні π - π -взаємодії між молекулами сусідніх шарів: вони за рахунок послаблення π -спряження [26] ініціюють пірамідалізацію аміногрупи. Це в свою чергу деформує розподіл електронної густини ВЕП, витягуючи її у напрямку до атома з позитивним зарядом основи, яка знаходиться у сусідньому (верхньому чи нижньому) шарі. В кінцевому результаті стекінг (у розширено-

му його тлумаченні) посилює пірамідальність аміногрупи основи, а разом з нею — і бар'єр інверсії у порівнянні з ізольованим станом [25, 26, 28]. Такі модельні уявлення передбачають доволі сильну залежність пірамідальності аміногрупи та її інверсної енергетики від міжплощинної відстані між горизонтальними шарами молекул у кристалі: при її зростанні зменшується як пірамідальність аміногрупи, так і її інверсна енергетика. Іншими словами, процес площинної інверсії аміногруп азотистих основ у кристалічному стані характеризується сильним екситонно-фононним зв'язком — колективний перехід аміногруп з однієї потенціальної ями в іншу (у загальному випадку не еквівалентну першій) стимулюється фонами [30].

Ототожнюючи температурний інтервал, у якому в кристалі безводного Cyt фіксується різке зростання $\lg \delta$ [13], з температурою кооперативного переходу Яна-Теллера T_c [27], пов'язаного з колективною інверсією аміногруп атомів водню Cyt, за формулою, наведеною в роботі [31]:

$$E = \pi^2 k_B^2 m d^2 T_c / 2 \hbar^2, \quad (1)$$

де m — маса, що тунелює; d — відстань між потенціальними ямами; k_B і $\hbar = \hbar / 2\pi$ — постійні Больцмана і Планка, легко оцінити відповідний бар'єр площинної інверсії $E = 3,9$ ккал/моль (використано типові для біополімерів параметри $m = 2$ а. о. м., $d \approx 0,3$ Å [30]). З цієї елементарної оцінки, яка претендує лише на порядок величини, випливає дуже важливий біофізичний висновок: при переході нуклеотидних основ, що мають у своєму складі аміногрупу, з вільного стану у кристалічний бар'єр інверсії останньої значно зростає (згідно з розрахунками методом АМ1, аналогічна величина у вільному стані становить 1,4; 67 і 600 ккал/моль для Ade, Cyt і Gua відповідно [24, 26]). Причому це зростання зумовлене, в основному, вертикальними взаємодіями — стекінгом, оскільки горизонтальне спарювання нуклеотидних основ міжмолекулярними водневими зв'язками призводить лише до зниження бар'єра площинної інверсії у порівнянні з вільним станом [29]. Подібний ефект, очевидно, має місце і в кристалах Ade та Gua (про це, зокрема, свідчить яскраво виражена пірамідальність аміногрупи m^0 Ade у кристалічному стані [32] — амінопротони виходять з ефективною «площиною» зморщеного пуринового кільця на 0,25 і 0,13 Å, що значно перевищує аналогічні величини для вільного стану [24—26, 33]). По аналогії з вільним станом [24—26] можна очікувати, що енергія інверсії аміногрупи в кристалах нуклеотидних основ зростає в порядку Gua > Cyt > Ade.

При переході від Cyt до $\text{Cyt}\cdot\text{H}_2\text{O}$ бар'єр площинної інверсії аміногрупи, як показує розрахунок за наведеною вище формулою, зростає до 5 ккал/моль, оскільки температура кооперативного ефекту Яна-Теллера T_c пов'язаного з екзоциклічною вібронною координатою, збільшується при гідратації і становить 60 °С [13]. Аналогічний ефект має місце, очевидно, і в кристалах інших азотистих основ, що мають у своєму складі аміногрупу. Порівняльний аналіз структурних даних для кристалів основ ДНК [34—36] і їхніх кристалогідратів [36—40] свідчить про те, що зростання пірамідальності аміногрупи і відповідне збільшення її інверсної енергетики зумовлені не втягуванням ВЕП аміноного атома азоту у Н-зв'язки з молекулами кристалізаційної води, а посиленням (шляхом втягування інших атомних груп у Н-зв'язки з молекулами кристалізаційної води) стекінгових взаємодій кілець і порушенням тим самим π -спряження ВЕП екзоциклічного атома азоту з π -електронною системою кільця основи [26].

Невпорядкованість сухих плівок азотистих основ, що мають у своєму складі аміногрупу, отриманих шляхом вакуумної сублімації на підкладку [9—12], як і примусово обезводжених кристалогідратів, вирощених із водного розчину повільним охолодженням [13], має динамічний характер і пов'язана з наявністю у них так званої «двоємної м'якої конфігурації» [41, 42] — екзоциклічної аміногрупи. Вельми промовистим підтвердженням цього є зростання впорядкованості кристалів азотистих основ з аміногрупою при дейтеруванні [40]: дейтерування аміногрупи помітно знижує частоту її віялового коливання [24] і значно зменшує прозорість інверсного бар'єра. Цілком закономірно, що охолодження сухих плівок чи їхнє поступове зволоження супроводжується симбатним підвищенням ступеня впорядкованості кристалічної решітки — у першому випадку за рахунок «виморожування» інверсного тунелювання [29, 30] амінопротонів, у другому — за рахунок зменшення його ймовірності при гідратаційному збільшенні інверсного бар'єра. При цьому поведінка ІЧ та УФ спектрів [9—12] відповідає класичним спектральним проявам підсилення стекінгових взаємодій [5, 12] і порушення π -спряження ВЕП екзоциклічної аміногрупи з π -системою кільця [43—45]. Двогорбий вигляд спектра УФ поглинання кристалічного Gua та його залежність від температури і вологості [12] пояснюється залежністю Ян-Теллерівського розщеплення [27, 46] від цих факторів (при переході в збуджений електронний стан нуклеотидної основи з аміною групою Ade , Cyt і Gua , як показує розрахунок методами AM1 і MNDO/H ,

сплющуються). До речі, наведена в роботі [47] величина інверсної енергетики для молекули Gua у водному розчині ($E = 5,7$ ккал/моль), що ґрунтується на аналогічній інтерпретації двогорбого типу його спектра УФ поглинання, задовільно корелює з наведеною вище оцінкою ($E > 3,9$ ккал/моль). З такою трактовкою повністю узгоджується поведінка низькотемпературних ($T = 5$ К) спектрів фосфоресценції моногідратів азотистих основ, зокрема $\text{Cyt}\cdot\text{H}_2\text{O}$, при їхньому обезводженні: у спектрі фосфоресценції Cyt на відміну від $\text{Cyt}\cdot\text{H}_2\text{O}$ відсутні безфонні смуги, а сам спектр зсунутий у бік довгих хвиль на ≈ 540 cm^{-1} відносно аналогічного спектра $\text{Cyt}\cdot\text{H}_2\text{O}$ [19].

Наявність кількох аномальних точок на температурній залежності ϵ і $\text{tg } \delta$ Cyt та $\text{Cyt}\cdot\text{H}_2\text{O}$ [13], а також, як мінімум, двох чітко розділених смуг на кривій термовисвічування канонічних нуклеотидних основ та $\text{Cyt}\cdot\text{H}_2\text{O}$ [17—19], що відповідають найнижкоенергетичнішим пасткам носіїв заряду — діркам [14] (подібні ефекти слід очікувати і для інших кристалів азотистих основ, що мають у своєму складі аміногрупу), пояснюється квазігетеромолекулярністю [20, 21] цих кристалів, яка в свою чергу зумовлена стереохімічною нежорсткістю молекул, з яких вони складаються. В межах температури, де кристал за рахунок кооперативного ефекту Яна-Теллера втрачає динамічну стійкість однієї з своїх ступенів вільності — «м'якої двоємної конфігурації» [41, 42], спостерігається суттєва залежність його макроскопічних характеристик від зовнішніх сил [48]. У конкретному випадку кристалів Cyt і $\text{Cyt}\cdot\text{H}_2\text{O}$ має місце істотна залежність ϵ і $\text{tg } \delta$ від напруженості зовнішнього електричного поля E , причому цей ефект проявляється найсильніше тоді, коли напрямок поля збігається з орієнтацією дипольного моменту колективних осциляцій аміногруп (що є прямим наслідком дипольної нестійкості «м'якої конфігурації»), яка знаходиться в площині, ортогональній до ефективною площини шарів водневозв'язаних молекул [34—40].

Ян-Теллерівська природа кристалів азотистих основ, що мають у своєму складі аміногрупу, автоматично зумовлює наявність у них мономолекулярних дефектів, в ролі яких виступають конформери-інвертомери, що рсеструються різними оптико-фізичними [9—19] методами, зокрема методом термостимульованої люмінесценції [17—19]. Справді, ці дефекти інвертомерного походження мають знижений адіабатичний потенціал іонізації (згідно з розрахунками методом MNDO/H з урахуванням всіх внутрішньомолекулярних водневих зв'язків [49] зменшення потенціалу іонізації канонічних

нуклеотидних основ при переході з основного конформаційного стану у перехідний планарний стан площинної інверсії становить 0,29; 0,14 і 0,30 еВ для Ade, Cyt і Gua відповідно), причому експериментальне значення енергії залягання мільких пасок носіїв заряду ($\approx 0,1$ еВ) [17—19] узгоджується з розрахунком (0,14 еВ). Але найпереконливішим підтвердженням того, що щойно згадані дефекти, які визначають непорядкованість безводних кристалів азотистих основ, мають спільне мікроскопічне походження, пов'язане з інверсією аміногрупи, є їхнє зникнення при хоча б одноразовому метилюванні основи по аміногрупі [17—19]. Згідно з розрахунками методами AM1 і MNDO, метилювання аміногрупи нуклеотидних основ призводить до її практично повного сплюснення, унеможливаючи тим самим інверсню рухливості, а отже й пов'язану з нею непорядкованість кристалу. Сильна екситонно-фононна взаємодія в кристалах азотистих основ з аміногрупою та їхніх кристалогідратах [19] також зумовлена Ян-Теллерівською поведінкою висхідних молекул, а саме — істотною залежністю їхньої структури як від міжмолекулярних взаємодій, які стабілізують кристал, так і від електронного збудження.

Розщеплення низькочастотних коливальних смуг в ІЧ спектрі поглинання кристалічного цитидину при $T = 7$ К [23] також пов'язане з Ян-Теллерівською природою цього кристалу: воно має інверсне походження за рахунок наявності двоякого потенціалу для «м'якої конфігурації» — екзодиклічної аміногрупи (аналогічне розщеплення, зумовлене стереохімічною нежорсткістю фуранози, значно менше за експериментально спостережене через набагато більшу у порівнянні з амінопротонами «тунелюючу» масу). У адекватності такого пояснення легко переконатися, оцінивши за формулою, наведеною в роботі [50]

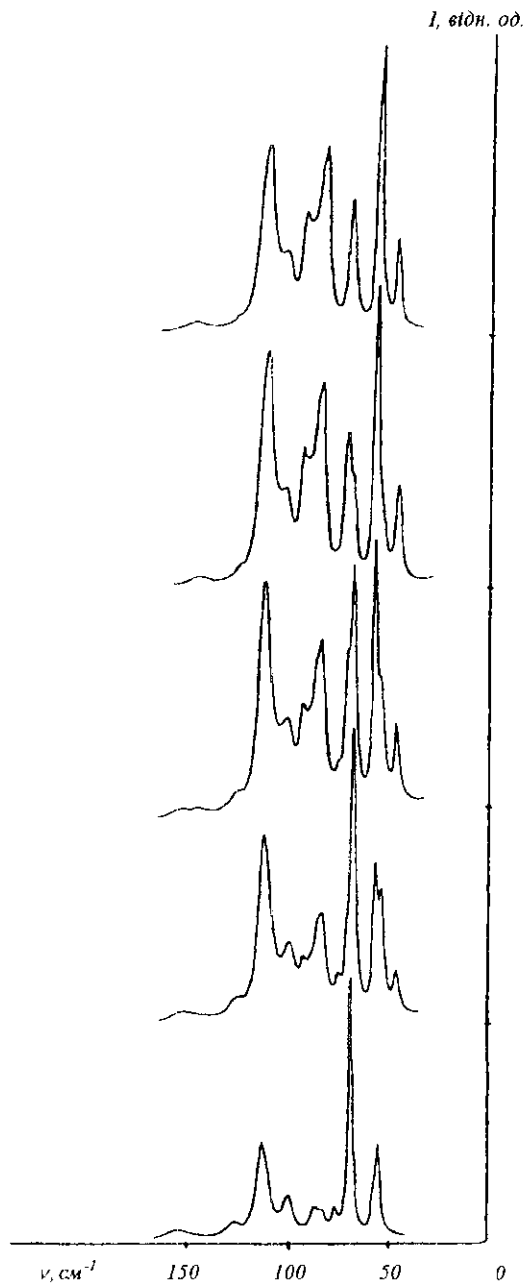
$$\Delta\nu = \nu_0 \exp(-d\sqrt{2mE/\hbar}), \quad (2)$$

тут ν_0 — частота фундаментального коливання, що має найбільше тунельне розщеплення, інші позначення збігаються з раніше використаними, тунельне розщеплення ($\nu_0 = 250$ см⁻¹, $d \approx 0,3$ Å [52], $E = 3,9$ ккал/моль, $m = 2$ а. о. м.) $\Delta\nu = 4,7$ см⁻¹, яке практично збігається з експериментальною величиною [23]. При цьому істотне звуження коливальних смуг пов'язане з «виморожуванням» ангармонійних ефектів, які при наявності «м'якої конфігурації» радикально змінюються з температурою [27, 41, 42]. Аналогічним ефектом пояснюється істотне поширення вузьких коливальних смуг при підвищенні температури, що спостерігається в діапазоні температур 5–75 К у спектрі фосфорес-

ценції Cyt·H₂O [17—19], — кристалу зі значною (≈ 5 ккал/моль) інверсною енергетикою «м'якої конфігурації».

Непорядкованість сухих плівок азотистих основ, які не мають у своєму складі аміногрупи, наприклад Ura, отриманих шляхом вакуумної сублімації на підкладку [11], має відмінне від описаного вище походження. Воно не пов'язане зі стереохімічною нежорсткістю самої основи (азотисті основи, до складу яких не входить аміногрупа, є, як відомо, стереохімічно жорсткими, а точніше кажучи, квазіжорсткими молекулами [24—26]) і зводиться до класичного поліморфізму [51]. У конкретному випадку Ura він зумовлений тим, що ця молекула утворює при самоасоціації майже ізоенергетичні димери різної будови, що стабілізуються парою циклічних Н-зв'язків типу NH...O. Відіграючи роль первинних молекулярних агломератів [51], вони породжують різні кристалічні решітки з близькою вільною енергією. Такі ж структурні властивості демонструє і метилпохідне Ura — m^oUra [51].

Явище поліморфізму має місце і в зволжених кристалах (плівках) азотистих основ: у цих об'єктах при кімнатній температурі співіснують дві решітки — непорядкована суха і впорядкованіша (через значно вищу інверсню енергетику) «кристалогідратна», причому їхня відносна питома вага залежить від ступеня зволоженості і неперервно змінюється за рахунок кооперативного ефекту [27] від нуля (суха решітка) до одиниці (кристалогідрат) з ростом концентрації сорбованої води. Такий висновок однозначно випливає з поведінки отриманих автором низькочастотних ($\nu < 200$ см⁻¹) фононних Раманівських спектрів кристалів канонічних нуклеотидних основ в залежності від ступеня їхньої зволоженості. З ростом концентрації сорбованої кристалом води відбувається поступова трансформація Раманівського спектра решіткових коливань у діапазоні частот і інтенсивностей суха решітка — кристалогідрат, причому величина цих змін залежить від основи. Найбільший ефект має місце для Gua і Cyt (див. рисунок і таблицю); для Ade, Ura та Thy він значно менший — Раманівські спектри коливань решітки сухих кристалів Ade, Ura і Thy [6, 7] практично не відрізняються від аналогічних спектрів їхніх кристалогідратів ні частотами смуг, ні їхніми відносними інтенсивностями. Єдиною відмінністю є значно підвищена інтенсивність Релеєвського крила ($\nu < 10$ см⁻¹) у Раманівських спектрах кристалогідратів у порівнянні з сухими кристалами. Така радикальна відмінність у поведінці спектрів Gua і Cyt, з одного боку, і Ade, Ura та Thy, з іншого, пояснюється



Залежність низькочастотного Раманівського спектра полікристалічного Cyt від ступеня його зволоженості (верхній спектр відповідає сухому зразку (Cyt), нижній — кристалогідрату (Cyt·H₂O)). Спектри реєструвалися за одних і тих же умов при кімнатній температурі

тим, що у першому випадку молекули кристалізаційної води зв'язані з молекулами основ значно сильнішими Н-зв'язками (оцінка за методом спек-

тральної калориметрії [52] дає величину ентальпії одного водневого зв'язку, у який вступає молекула кристалізаційної води як донор протона, $\Delta H = 3,9$ ккал/моль ($\nu_{(\text{OH})\text{крисст}} \approx 3450 \text{ см}^{-1}$ [11], $\nu_{(\text{OH})\text{газ}} = 3657 \text{ см}^{-1}$ [53]), співмірну з енергією Н-зв'язків між нуклеотидними основами в сухому кристалі [54]), ніж у другому (в цьому випадку молекули кристалізаційної води поводять себе «газоподібно» [55], оскільки вони утримуються в кристалічній решітці силами, енергія набгато менша за енергію взаємодії нуклеотидних основ між собою). У першому випадку кристалізаційна вода є рівноправним учасником тривимірної сітки кооперативних Н-зв'язків кристала; в другому — її можна розглядати як збурення сухої решітки, при цьому коливання кристалізаційної води мають локальний характер — їхні частоти набагато нижчі граничних частот коливального спектра кристала і лежать в області Релеєвського крила.

Висновки. Викладені вище міркування і аргументи дозволяють зробити кілька важливих біофізичних висновків.

При переході з вільного стану у кристалічний має місце значне підвищення інверсної енергетики азотистих основ з аміногрупою. Це з необхідністю тягне за собою некопланарну (пропелерову) конфігурацію їхньої шарової пакування [34—40], що стабілізується горизонтальними міжмолекулярними Н-зв'язками, і визначає цілу низку неординарних фізико-хімічних властивостей — неупорядкованість сухої решітки, яка суттєво знижується при зволоженні та дейтеруванні, температурні аномалії діелектричної проникності та тангенса кута втрат, наявність дефектів — пасток носіїв заряду, порушення правил відбору в поляризованих коливальних спектрах тощо.

Результати, отримані в цій праці, стосуються не лише кристалів чи співкристалізаційних компонентів НК — нуклеотидних основ, нуклеозидів, нуклеотидів і т. ін. Вони мають значно ширше біофізичне значення і проливають світло на структурно-динамічну організацію дволанцюгових полінуклеотидів, зокрема ДНК.

Так, ототожнюючи температуру ($T = 200 \text{ K}$), при якій, за даними спектроскопії розсіяння теплових нейтронів [56], відбувається «склоподібний» перехід протонної підсистеми ДНК у стан зорієнтованої плівки, з температурою кооперативного Ян-Теллєрського переходу, пов'язаного з колективною інверсією аміногруп А в Уотсон-Кріківських парах А:Т, можна оцінити відповідну енергію інверсії $E = 1,7$ ккал/моль. Для пари G:C очікується дещо вища інверсна енергетика. Ці оцінки не лише задовільно узгоджуються з аналогічними

Параметри смуг низькочастотних коливань у Раманівському спектрі полікристалів сухого (обезводженого) Cyt і його кристалогідрату $Cyt \cdot H_2O$ при кімнатній температурі, записаному за одних і тих же умов (методику реєстрації спектрів див. у роботах [6, 7])

Cyt			$Cyt \cdot H_2O$		
ν	$\Delta\nu_{1/2}$	I	ν	$\Delta\nu_{1/2}$	I
46,6	3,0	6,0	—	—	—
—	—	—	56,3	3,0	39,5
58,5	3,0	69,0	58,8	—	4,0
—	—	—	72,5	3,0	100,0
74,8	4,0	44,0	—	—	—
—	—	—	81,4	5,5	12,5
90,6	6,0	71,5	89,7	5,3	18,0
92,4	—	2,0	93,6	5,5	22,5
98,0	—	1,5	—	—	—
100,9	6,5	8,5	—	—	—
111,3	7,0	57,0	110,1	6,0	33,5
121,5	8,0	100,0	—	—	—
123,0	—	1,8	124,1	8,0	85,0
134,7	—	1,2	139,2	—	11,5
160,4	8,0	8,5	—	—	—
—	—	—	170,8	13,0	20,0

Примітка. ν — частота коливання (cm^{-1}); $\Delta\nu_{1/2}$ — істинна напівширина смуги (cm^{-1}); I — її відносна інтенсивність (відн. од.).

результатами, отриманими методом Мессбауерівської спектроскопії [30], а й встановлюють мікроскопічну природу квазівироджених конформаційних станів ДНК, які до цього часу описувалися виключно феноменологічно (див. [30] і наведену там бібліографію).

Значна величина інверсної енергетики для Уотсон-Криківських пар ДНК, що перевищує в кілька разів середню енергію теплових флуктуацій при фізіологічній температурі, дозволяє розцінювати пірамідальність аміногруп А, С і G як один з провідних структурних чинників пропелерової конфігурації пар комплементарних основ ДНК та її крупномасштабної нелінійно-динамічної поведінки [3, 56—59].

Насамкінець автор висловлює вдячність С. М. Ярмолюку за люб'язно надані для експериментальних досліджень полікристали моногідратів Cyt , Gua , Ura і Thy та тригідрату Ade .

Д. Н. Говорун

Как структурная изменчивость азотистых оснований отражается на макроскопических свойствах их кристаллов

Резюме

Отстаивается точка зрения, согласно которой неординарные оптико-физические свойства кристаллов азотистых оснований (неупорядоченность сухой решетки, существенно снижающаяся при увлажнении и дейтерировании, температурные аномалии диэлектрической проницаемости и тангенса угла потерь, наличие дефектов — ловушек носителей заряда, нарушение правил отбора в поляризованных колебательных спектрах и т. п.) обусловлены стереохимической жесткостью самих оснований. Кристаллы азотистых оснований с аминогруппой и их кристаллогидраты являются, по существу, Ян-Теллеровскими кристаллами со всеми вытекающими последствиями. Такой подход позволил автору объяснить микроструктурное происхождение пропелерной конфигурации слоистой упаковки азотистых оснований с аминогруппой в кристаллическом состоянии повышением их инверсной энергии до величины, в несколько раз превышающей kT , при переходе из свободного состояния в кристаллическое за счет нарушения рт-сопряжения и наличия специфических электростатических контактов неподеленной электронной пары аминного азота с

атомами водорода или углерода, несущими на себе положительный заряд, с верхнего или нижнего слоя молекул. Аналогичные причины лежат в основе пропеллерной конфигурации Уотсон-Криковских пар оснований ДНК. Приводятся оценки инверсионной энергетики нуклеотидных оснований с аминогруппой в кристаллическом состоянии, а также в составе ДНК.

D. M. Hovorun

How structural changeability of nitrogen bases affects macroscopic properties of their crystals

Summary

The author stands up for the idea accordingly to which uncommon optical and physical properties of nitrogen bases (unregularity of their anhydrous lattices which becomes essentially reduced under moistening and deuteration, temperature anomalies of dielectric permeability and tangent of loss angle, availability of defects — traps of charge carriers, violations of selection rules in polarized vibrational spectra etc.) are determined by stereochemical non-rigidity of the bases themselves. The nitrogen bases crystals with amino group and their hydrates are essentially Jahn-Teller crystals with all the ensuing consequences. Such approach enables the author to explain macrostructural origing of the propeller configuration of the layer package of nitrogen bases with amino group in crystal state by the increase of their inversion energy up to the values several times exceeding kT , under transition from the free state to the crystal one which is the result of the p - π -conjugation disturbance and specific electrostatic contacts of lone pair of amino nitrogen atom with positively charged hydrogen and carbon atoms from upper and lower molecular layers. Similar reason is based on the propeller configuration of Watson-Crick pairs in DNA and its wedge-like relative orientation. The evaluations of amino group inversion energies of nucleotide bases for crystals and in DNA were done.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Елинек О. Модельные системы нуклеиновых кислот // *Материалы 2-го координац. семинара Минвузов СССР—ЧССР.*—Вильнюс: Мокслал, 1986.—С. 34—42.
- Штепанек Й., Баумрук В. Спектроскопия комбинационного рассеяния света составляющих нуклеиновых кислот // *Там же.*—С. 84—92.
- Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот.—М.: Мир, 1987.—584 с.
- Sprackman M. A., Weber H. P., Craven B. M. Energies of molecular interactions from Bragg diffraction data // *J. Amer. Chem. Soc.*—1988.—110, N 3.—P. 775—782.
- Говорун Д. Н., Мищук Я. Р., Желтовский Н. В. Низкочастотные фононные спектры комбинационного рассеяния света компонентов нуклеиновых кислот: пуриновые основания // *Биополимеры и клетка.*—1990.—6, № 3.—С. 24—31.
- Говорун Д. Н., Мищук Я. Р., Желтовский Н. В. Низкочастотные фононные спектры комбинационного рассеяния света компонентов нуклеиновых кислот: пиримидиновые основания // *Там же.*—С. 31—39.
- Малеев В. Я., Семенов М. А., Гасан А. И., Кашир В. А. Физические свойства системы ДНК—вода // *Биофизика.*—1993.—38, № 5.—С. 768—790.
- Бабков Л. М., Пучковская Г. А., Макаренко С. П., Гаврылко Т. А. ИК-спектроскопия молекулярных кристаллов с водородными связями.—Киев: Наук. думка, 1989.—160 с.
- Sinsheimer R. L., Scott J. F., Loofbrow J. R. Use of thin films of sublimate for absorption spectroscopy // *Nature.*—1949.—164, N 4175.—P. 796—797.
- Scott J. F., Sinsheimer R. L., Loofbrow J. R. Factors involved in the sharpening of the ultraviolet absorption spectrum of guanine at reduced temperatures // *J. Amer. Chem. Soc.*—1959.—74, N 1.—P. 275—277.
- Гуменюк В. А., Сухоруков Б. И., Хоменко В. Г. ИК-спектроскопическое и рентгенографическое исследование влияния паров воды на структуру и переход аморфное состояние — кристалл пиримидиновых оснований нуклеиновых кислот // *Биофизика.*—1976.—21, № 4.—С. 597.
- Гуменюк В. А. Кристаллизация гуанина под влиянием воды: спектры поглощения в инфракрасном и ультрафиолетовом диапазонах // *Биофизика.*—1980.—25, № 5.—С. 793—795.
- Богатина Н. И., Чмутов В. М. Аномалии диэлектрических свойств монокристаллов моногидрата цитозина и текстурованных поликристаллов безводного цитозина // *Там же.*—1980.—25, № 4.—С. 600—604.
- Šubertová E., Štilinš E., Prosser V. Some photoelectric properties of the nucleic acid bases in thin layers // *Czech. J. Phys. B.*—1973.—23, N 3.—P. 356—367.
- Jelínek O., Tale I. A. Thermoluminescence and long afterglow of adenine in the solid state // *J. Luminescence.*—1975.—10, N 6.—P. 371—379.
- Черкасов Ю. А., Киселева М. Н., Додонова Н. Я. Квантовый выход фотогенерации носителей заряда в антрацене и основаниях нуклеиновых кислот в области энергий фотонов 3—10 эВ // *Оптика и спектроскопия.*—1978.—45, № 6.—С. 1126—1129.
- Остапенко Н. И., Скрышевский Ю. А., Кадашук А. К., Рубин Ю. В. Природа дефектных состояний в кристаллах оснований нуклеиновых кислот // *Биополимеры и клетка.*—1990.—6, № 3.—С. 65—69.
- Остапенко Н. И., Скрышевский Ю. А., Кадашук А. К., Рубин Ю. В. Термостимулированная люминесценция кристаллов оснований нуклеиновых кислот // *Изв. АН СССР. Сер. Физ.*—1990.—54, № 3.—С. 445—449.
- Скрышевский Ю. А., Остапенко Н. И., Кадашук А. К., Шпак М. Т. Проявление таутомеров в кристаллах оснований нуклеиновых кислот // *Укр. физ. журн.*—1992.—37, № 12.—С. 1828—1832.
- Зоркий П. М., Разумаева А. Е. О сосуществовании в органических кристаллах молекул, имеющих разное строение // *Журн. структур. химии.*—1979.—20, № 3.—С. 463—466.
- Разумаева А. Е., Зоркий П. М. Количественное сравнение геометрии органических молекул // *Там же.*—1980.—21, № 2.—С. 77—82.
- Sarma B. D., MacConnell J. F. The crystal and molecular structure of isocytosine // *Acta cryst.*—1965.—19, pt 5.—P. 797—806.
- Beetz S. P., Ascarelli G. The low frequency vibrations of the nucleosides: uridine, cytidine and inosine. Determination of vibrations associated with the ribose ring // *Spectrochim. acta.*—1980—36A, N 6.—P. 525—534.
- Weber I., Kirin D. Low-frequency vibrational spectra of cytidine monohydrate single crystal // *J. Mol. Struct.*—1992.—297.—P. 67—72.
- Говорун Д. М., Данчук В. Д., Мищук Я. Р. та ін. Про неплоскість та дипольну нестійкість канонічних нуклеотидних основ, метильованих по глікозидному азоту // *Доповіді НАН України.*—1995.—№ 6.—С. 117—119.
- Говорун Д. М., Мищук Я. Р., Кондратюк І. В. Про квантовохімічну природу стереохімічної нежорсткості канонічних нуклеотидних основ // *Биополимеры и клетка.*—1996.—12, № 5.—С. 5—12.
- Берсукер И. Б. Эффект Яна-Теллера и вибронные взаимодействия в современной химии.—М.: Наука, 1987.—344 с.

28. *Говорун Д. М., Міщук Я. Р., Кондратюк І. В.* Топологічні властивості гіперповерхні потенціальної енергії канонічних нуклеотидних основ // *Биополимеры и клетка.*—1996.—12, № 5.—С. 13—17.
29. *Говорун Д. М., Міщук Я. Р., Кондратюк І. В., Желтовський М. В.* Динамічна стереоізомерія Уотсон-Криківських пар нуклеотидних основ // *Доповіді НАН України.*—1995.—№ 11.—С. 121—123.
30. *Гольданский В. И.* Мессбауэровские исследования туннельных явлений в химической и биологической физике // *Успехи химии.*—1987.—56, № 10.—С. 1639—1658.
31. *Крупянский Ю. Ф., Шайтан К. В., Гольданский В. И. и др.* Исследование динамики белков методами Мессбауэровской спектроскопии // *Биофизика.*—1987.—32, № 5.—С. 761—774.
32. *MacMullan R. K., Benci P., Craven B. M.* The neutron crystal structure of 9-methyladenine at 126 K // *Acta cryst.*—1980.—B36, pt 6.—P. 1424—1430.
33. *Riggs N. V.* An *ab initio* study of the stationary structures of the major gas-phase tautomer of adenine // *Chem. Phys. Letts.*—1991.—177, N 4/5.—P. 447—450.
34. *Третьяк С. М., Миткевич В. В.* Структура аденина.—Харьков, 1989.—8 с. (Препринт / Физ.-техн. Ин-т низких температур АН УССР № 9—89).
35. *Barker D. L., Marsh R. E.* The crystal structure of cytosine // *Acta cryst.*—1964.—17, N 12.—P. 1581—1587.
36. *Bugg C. E., Thewalt U. T., Marsh R. E.* Base stacking in nucleic acid components: the crystal structures of guanine, guanosine and inosine // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1968.—33, N 3.—P. 436—440.
37. *Третьяк С. М., Миткевич В. В., Суходуб Л. Ф.* Структури аденина, его алкилпроизводных и их кристаллогидратов // *Тез. докл. 7-го Всесоюз. симпоз.*—Пушино, 1986.—С. 125—126.
38. *Третьяк С. М., Миткевич В. В., Суходуб Л. Ф.* Тригидрат аденина: структура при 295 К и 105 К // *Кристаллография.*—1986.—32, № 5.—С. 1268—1271.
39. *MacCluke R. J., Craven B. M.* New investigations of cytosine and its monohydrate // *Acta cryst.*—1973.—29B, pt 6.—P. 1234—1238.
40. *Weber H. P., Craven B. M., MacMullan R. K.* The structure of deuterated cytosine monohydrate at 82 K by neutron diffraction // *Ibid.*—1980.—B36, pt 3.—P. 645—649.
41. *Перишин В. К., Перишин Вл. К., Зорский П. М.* Мезофазы—молекулярные системы с частичным порядком: структура, механизм образования, полиморфизм // *Пробл. кристаллохимии.*—М.: Наука, 1988.—С. 30—82.
42. *Клинггер М. И.* Низкотемпературные свойства и локализованные электронные состояния стекол // *Успехи физ. наук.*—1987.—152, № 4.—С. 623—652.
43. *Шорыгин П. П.* Комбинационное рассеяние света и сопряжение // *Успехи химии.*—1971.—40, № 4.—С. 694—739.
44. *Шорыгин П. П., Бурштейн К. Я.* Сопряжение и периодическая система элементов // *Там же.*—1991.—60, № 1.—С. 3—44.
45. *Ромм И. П., Гурьянова Е. Н.* рл-сопряжение в ароматических соединениях элементов V и VI группы // *Там же.*—1986.—55, № 2.—С. 225—250.
46. *Govorun D. M., Kondratyuk I. V., Mishchuk Ya. R., Zheltovsky N. V.* The manifestation of Jahn-Teller effect in electronic absorption spectra of nucleic acids and their congeners // *Международ. науч. конф. «Физика и химия орг. люминофоров 95»* (9—13 октября 1995 г.): *Тез. докл.*—Харьков, 1995.—С. 126.
47. *Mishra P. C.* Vibrational structures and intensity distributions in the electronic absorption spectra of nucleic acid bases: evidence for nonplanarity of guanine // *J. Mol. Struct.*—1986.—144, N 2.—P. 309—317.
48. *Чалый А. В.* Влияние внешнего электромагнитного поля на процессы упорядочения в средах с биохимическими реакциями // *Исследование взаимодействия электромагнитных волн миллиметрового и субмиллиметрового диапазонов с биологическими объектами.*—Киев: Наук. думка, 1989.—С. 66—74.
49. *Говорун Д. М., Міщук Я. Р., Кондратюк І. В., Желтовський М. В.* Внутрішньомолекулярні кооперативні водневі зв'язки в нуклеотидних основах // *Доповіді НАН України.*—1996.—№ 8.—С. 141—144.
50. *Смоляков Б. П., Хаймович Е. П.* Динамические процессы в диэлектрических стеклах при низких температурах // *Успехи физ. наук.*—1982.—136, № 2.—С. 317—343.
51. *Зорский П. М.* Новый взгляд на строение органического кристалла // *Журн. физ. химии.*—1994.—68, № 6.—С. 966—974.
52. *Иогансен А. В.* Инфракрасная спектроскопия и спектральное определение энергии водородной связи // *Водородная связь.*—М.: Наука, 1981.—С. 112—155.
53. *Девярых Г. Г., Сенников П. Г.* Спектроскопическое определение и изучение молекулярного состояния примеси воды в высокочистых летучих неорганических веществах // *Успехи химии.*—1995.—64, № 9.—С. 872—887.
54. *Говорун Д. М., Міщук Я. Р., Желтовський М. В.* Дослідження методом спектральної калориметрії енергетики міжмолекулярних зв'язків в кристалах і співкристалізатах нуклеотидних основ // *Тези доп. XI Укр. школи-семінару «Спектроскопія атомів і кристалів»* (Харків, 10—16 травня 1993 р.).—Київ, 1993.—С. 70.
55. *Габуда С. П., Ржавин А. Ф.* Ядерный магнитный резонанс в кристаллогидратах и гидратированных белках.—Новосибирск: Наука, 1978.—160 с.
56. *Grimm H., Rupprecht A.* Inelastic neutron scattering studies of oriented DNA // *Nonlinear excitations in biomolecules* (Les Houches School, May 30 to June 4, 1994) / Ed. M. Peygand.—Berlin: Springer, 1994.—P. 101—115.
57. *Якушевич Л. В.* Динамика ДНК // *Молекуляр. биология.*—1989.—23, № 3.—С. 652—662.
58. *Франк-Каменецкий М. Д.* Флуктуационная подвижность ДНК // *Там же.*—1983.—17, № 3.—С. 639—652.
59. *Журкин В. Б.* Локальная подвижность двойной спирали ДНК. Сравнение конформационных расчетов с экспериментом // *Там же.*—1983.—17, № 3.—С. 622—638.

Надійшла до редакції 02.04.97