



УДК 541.65, 535.347, 577.15

ВРАЩАТЕЛЬНЫЕ СИЛЫ ПЕРЕХОДОВ 271 и 360 НМ
И ГЕОМЕТРИЯ ВНУТРИМОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА FAD
И ЕГО АНАЛОГОВ*Морозов В. А., Мищенко В. В., Рубчинская Ю. М.**Всесоюзный научно-исследовательский витаминный институт, Москва*

В диполь-дипольном приближении проведен расчет вращательных сил электронных переходов 271 и 360 нм в молекуле FAD. Расчет показал необходимость учета взаимодействия не только соседних по частоте дипольных моментов переходов в изоаллоксазиновом и адениновом компонентах молекулы, но и более удаленных по частоте переходов. Вариация четырех параметров, определяющих геометрию внутримолекулярного комплекса FAD и его аналогов — вертикальное расстояние между ароматическими основаниями в динуклеотиде, смещение центров тяжести их друг относительно друга, поворот изоаллоксазинового основания относительно аденинового вокруг вертикальной оси и вращение первого основания вокруг его центра тяжести — позволяет объяснить наблюдаемые закономерности в спектрах КД FAD и его аналогов, отличающихся длиной фосфатной цепи.

При изучении спектров КД молекулы FAD было показано, что в области 200—300 нм этот спектр состоит из пар полос противоположного знака с примерно равной интенсивностью [1]. Такой спектр КД характерен для молекул, имеющих два разделенных в пространстве хромофора, ориентированных определенным образом друг относительно друга. Оптическая активность FAD в области 200—300 нм обеспечивается наличием двух хромофоров, один из которых относится к изоаллоксазиновому (с переходами 217, 230, 271 нм), а другой — к адениновому (с переходами 207, 240, 260 нм) компоненту внутримолекулярного комплекса [1]. Теория оптической активности, обусловленной диполь-дипольным взаимодействием двух хромофоров молекулы, дает следующее выражение для вращательной силы пары электронных переходов 1 и 2 [2]:

$$R_{12} = - \frac{2\pi}{hc} \frac{\nu_1 \nu_2}{\nu_2^2 - \nu_1^2} d_1^2 d_2^3 \frac{\vec{e}_2 \times \vec{e}_1 \vec{r}_{12}}{r_{12}^3} \left[\vec{e}_1 \vec{e}_2 - \frac{3(\vec{e}_1 \vec{r}_{12})(\vec{e}_2 \vec{r}_{12})}{r_{12}^2} \right], \quad (1)$$

где h — постоянная Планка; c — скорость света; \vec{e}_1, \vec{e}_2 — единичные векторы диполей переходов; d_1, d_2 — величины диполей переходов; \vec{r}_{12} — вектор, связывающий центры тяжести хромофоров; ν_1, ν_2 — частоты переходов. Индекс 1 будет относиться к аденину, а индекс 2 — к изоаллоксазину; рассматриваемые переходы будут указываться соответствующей длиной волны в нанометрах.

Используя выражение (1), в работе [1] была вычислена величина R_{12} для трех пар соседних по частотам переходов. Геометрия внутримолекулярного комплекса, образуемого адениновым и изоаллоксазиновым осно-

ваниями в молекуле FAD, описывалась следующим образом:

$$\begin{aligned} \vec{e}_{1(260)} &= -0,64\vec{i} + 0,77\vec{j}; \quad \vec{e}_{2(271)} = -0,77\vec{i} - 0,64\vec{j}; \\ \vec{e}_{1(240)} &= 0,98\vec{i} - 0,18\vec{j}; \quad \vec{e}_{2(230)} = -1,0\vec{j}; \\ \vec{e}_{1(207)} &= 0,86\vec{i} + 0,50\vec{j}; \quad \vec{e}_{2(217)} = 0,80\vec{i} - 0,60\vec{j}; \end{aligned} \quad (2)$$

$$\vec{r}_{12} = \vec{i}x' \cos \Phi + \vec{j}x' \sin \Phi + \vec{k}z \quad (\text{при } x' = 0,7\text{\AA}, \Phi = 15^\circ, z = 4,5\text{\AA}),$$

где $\vec{i}, \vec{j}, \vec{k}$ — единичные векторы декартовой системы координат.

Расчеты [1] с использованием (1), (2) привели к значениям вращательных сил, удовлетворительно согласующимся с экспериментальными. Например, для пары полос 260—271 нм получено $R_{12} = -18 \cdot 10^{-40}$ CGSE.

Недавно были изучены спектры аналогов FAD, отличающихся длиной фосфатной цепи (от одного до четырех звеньев) [3]. Было установлено, что при увеличении длины цепи от двух (FAD) до четырех звеньев происходит плавное уменьшение интенсивности всех полос. В случае же монофосфорного эфира в области 360 нм отмечается некоторое увеличение интенсивности по сравнению со спектром FAD, а в области меньше 300 нм — значительное изменение формы спектра с обращением знака пары полос 260—271 нм.

Основная цель настоящей работы — связать наблюдаемые изменения вращательных сил в аналогах FAD с определенным изменением геометрии внутримолекулярного аденин-изоаллоксазинового комплекса.

Прежде всего отметим, что в случае FAD вычисление вращательных сил с учетом взаимодействия двух ближайших полос, как это было сделано ранее [1], недостаточно. Наши расчеты для геометрии комплекса (2) при тех же d_1 и d_2 , что и в работе [1], привели к следующим величинам R_{12} (далее везде R_{12} приводится в единицах 10^{40} CGSE):

$$R_{260,271} = 20,3; \quad R_{240,271} = -22,6; \quad R_{207,271} = -16,1. \quad (3)$$

Из (3) следует, что оптическая активность перехода изоаллоксазина 271 нм определяется взаимодействием этого перехода не только с ближайшим переходом аденина 260 нм, но и взаимодействием с переходами 240 и 207 нм. Это, очевидно, связано с тем, что, хотя более удаленные по частотам переходы слабее взаимодействуют между собой (уменьшение частотного множителя в выражении (1)), различия в ориентациях диполей друг относительно друга и их величины могут легко компенсировать влияние этого фактора на величину вращательной силы. Из (3) вращательная сила полосы 271 нм равна $R_{260,271} + R_{240,271} + R_{207,271} = -18,4$, что удовлетворительно согласуется с экспериментальным значением. Это позволяет считать, что конформация комплекса аденин — изоаллоксазин в водных растворах FAD действительно соответствует геометрии комплекса (2).

Тот факт, что связь с далекими по частоте переходами аденина оказывает существенное влияние на оптическую активность перехода 271 нм изоаллоксазина, наводит на мысль о возможности аналогичного происхождения оптической активности перехода 360 нм изоаллоксазина. Действительно, расчеты по выражениям (1) и (2) при

$$\vec{e}_{2(360)} = \vec{i}, \quad d_{2(360)} = 2,6 \cdot 10^{-18} \text{ CGSE} \quad (4)$$

привели к следующим результатам:

$$R_{260,360} = -12,7; \quad R_{240,360} = -0,7; \quad R_{207,360} = 5,6. \quad (5)$$

Направление диполя $\vec{e}_{2(360)}$ и величина $d_{2(360)}$ определены по данным работ [4, 5].

Таким образом, вращательная сила перехода 360 нм по (5) равна $R_{260,360} + R_{240,360} + R_{207,360} = -7,8$. Это превышает примерно в 3 раза экспериментальное значение вращательной силы [3]. Такое расхождение, по-видимому, можно объяснить уменьшением вращательной силы

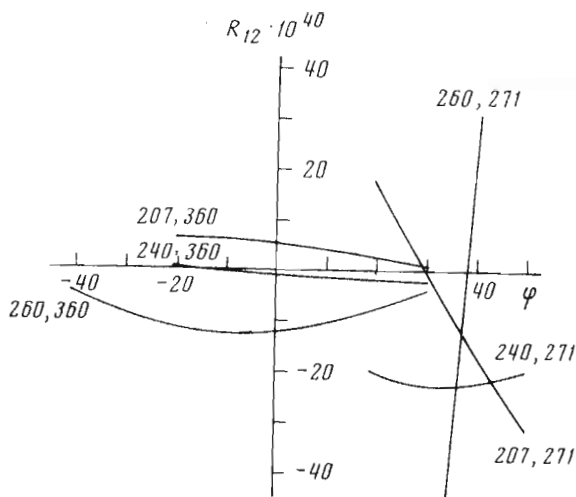


Рис. 1. Зависимость вращательных сил от угла φ (271, 360 нм — электронные переходы в изоаллоксазиновом, 207, 240, 260 нм — в адениновом компоненте молекулы FAD и его аналогов)

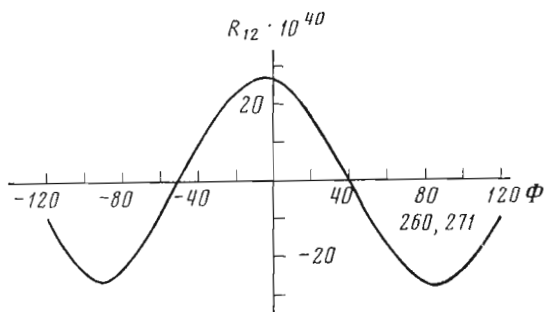


Рис. 2. Зависимость вращательной силы пары электронных переходов 260—271 нм от угла Φ

полосы при 360 нм из-за наложения соседней полосы противоположного знака в области 330 нм или завышенным значением $d_{2(360)}$. В отношении определения величины $d_{2(360)}$ нет полной уверенности, поэтому мы ограничимся использованием результата (5) только для относительного сравнения вкладов переходов 260, 240 и 207 нм аденина в общее значение вращательной силы перехода 360 нм изоаллоксазина. Из (5) следует, что при расчете вращательной силы перехода 360 нм, как и перехода 271 нм, нельзя ограничиться учетом только ближайшей соседней полосы аденина. Как будет видно из дальнейшего, рассмотрение вращательной силы перехода 360 нм оказывается полезным при изучении чувствительности оптической активности рассматриваемого комплекса к изменению параметров, определяющих его геометрию.

В следующем разделе работы проведено изучение чувствительности вращательных сил переходов 271 и 360 нм к изменению геометрии комплекса.

Как видно из (2), геометрия комплекса определяется величиной расстояния между плоскостями оснований z , смещением центра тяжести изоаллоксазинового фрагмента относительно аденинового по оси x на величину x' , углом поворота центра тяжести изоаллоксазинового кольца вокруг вертикальной оси z , обозначаемого Φ , и, наконец, углом поворота изоаллоксазинового кольца вокруг центра тяжести, который обозначен буквой φ . Последний поворот сводится, очевидно, лишь к изменению взаимной ориентации диполей переходов

Пусть

$$\vec{e}_2 = \vec{i} \cos \varphi + \vec{j} \sin \varphi. \quad (6)$$

Подставляя \vec{e}_2 в виде (6) в выражение (1) и оставляя без изменения все остальные параметры, определяющие геометрию комплекса, получаем

$$\begin{aligned} R_{260, 271} &= 763,2 (0,97 \sin^2 \varphi + 0,21 \sin \varphi \cos \varphi - 0,47), \\ R_{240, 271} &= 50,6 (0,36 \sin^2 \varphi - 0,86 \sin \varphi \cos \varphi - 0,16), \\ R_{207, 271} &= 105,5 (-0,81 \sin^2 \varphi - 0,44 \sin \varphi \cos \varphi + 0,40). \end{aligned} \quad (7)$$

Для значений $R_{260, 360}$, $R_{240, 360}$, $R_{207, 360}$ множители перед угловыми коэффициентами равны соответственно 27; 4,2; 14.

В случае геометрии комплекса (2) для $\vec{e}_{2(271)}$ имеем $\varphi = 39^\circ 40'$, а для $\vec{e}_{2(360)}$ $\varphi = 0$. Зависимости выражений R от φ по (7) вокруг $\varphi = 39$ и 0° приведены на рис. 1.

Величины R_{12} как функции угла Φ при всех остальных параметрах, определяемых по (2), имеют следующий вид:

$$\begin{aligned} R_{260, 271} &= 763,2(-0,07 \sin^2 \Phi - 0,01 \sin \Phi \cos \Phi + 0,03), \\ R_{240, 271} &= 50,6 (-0,05 \sin^2 \Phi + 0,03 \sin \Phi \cos \Phi - 0,45), \\ R_{207, 271} &= 105,5 (0,01 \sin \Phi \cos \Phi - 0,16), \\ R_{260, 360} &= 27 (-0,03 \sin^2 \Phi - 0,04 \sin \Phi \cos \Phi - 0,46), \\ R_{240, 360} &= 4,2 (-0,01 \sin^2 \Phi - 0,002 \sin \Phi \cos \Phi - 0,16), \\ R_{207, 360} &= 14,0 (0,03 \sin^2 \Phi - 0,02 \sin \Phi \cos \Phi + 0,40). \end{aligned} \quad (8)$$

Как видно из (8), все R_{12} , кроме $R_{260, 271}$, практически не зависят от Φ . Зависимость $R_{260, 271}$ от Φ по (8) приведена на рис. 2.

При изменении расстояния между плоскостями оснований на величину Δ по сравнению с величиной $4,5 \text{ \AA}$ для комплекса FAD \vec{r}_{12} следует брать в виде $\vec{r}_{12} = \vec{i} 0,67 + \vec{j} 0,18 + \vec{k} (4,5 + \Delta)$. Тогда, например, для $R_{260, 271}$ и $R_{260, 360}$ как функций Δ получаем

$$\begin{aligned} R_{260, 271} &= 15\,966 \frac{0,56\Delta + 2,52}{(\Delta^2 + 9\Delta + 20,74)^{3/2}}, \\ R_{260, 360} &= -565 \frac{0,49\Delta^3 + 6,65\Delta^2 + 29,65\Delta + 43,8}{(\Delta^2 + 9\Delta + 20,74)^{3/2}}. \end{aligned} \quad (9)$$

Зависимости R_{12} от Δ приведены на рис. 3.

При смещении центра тяжести изоаллоксазинового фрагмента по оси x на величину, отличающуюся от $x' = 0,7 \text{ \AA}$ на δ , r_{12} следует брать в виде $\vec{r}_{12} = \vec{i} 0,97 (0,7 + \delta) + \vec{j} 0,26 (0,7 + \delta) + \vec{k} 4,5$. Тогда, например, для $R_{260, 271}$ и $R_{260, 360}$ как функций δ получаем

$$\begin{aligned} R_{260, 271} &= 15\,966 \frac{5,14\delta^2 + 7,20\delta + 2,52}{(\delta^2 + 1,4\delta + 20,74)^{3/2}}, \\ R_{260, 360} &= -565 \frac{-1,99\delta^2 - 2,8\delta + 43,9}{(\delta^2 + 1,4\delta + 20,74)^{3/2}}. \end{aligned} \quad (10)$$

Зависимости R_{12} от δ приведены на рис. 4.

Итак, изменение геометрии аденин-изоаллоксазинового комплекса приводит к изменению вращательных сил переходов 271 и 360 нм, которые можно определить по формулам (7) — (10). При этом, как видно, из рис. 1—4, наибольшей чувствительностью к изменению геометрии комплекса обладает $R_{260, 271}$.

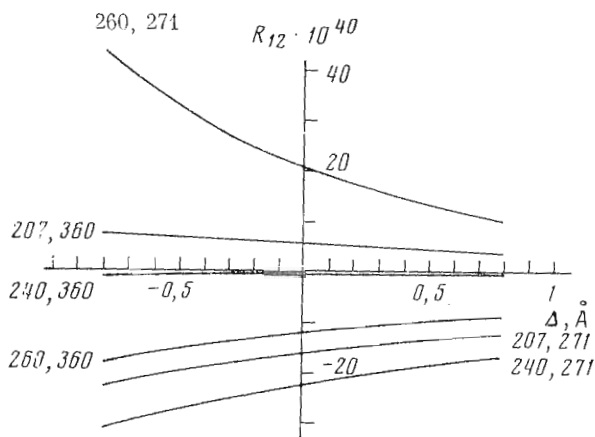


Рис. 3. Зависимость вращательных сил электронных переходов от вертикального расстояния Δ

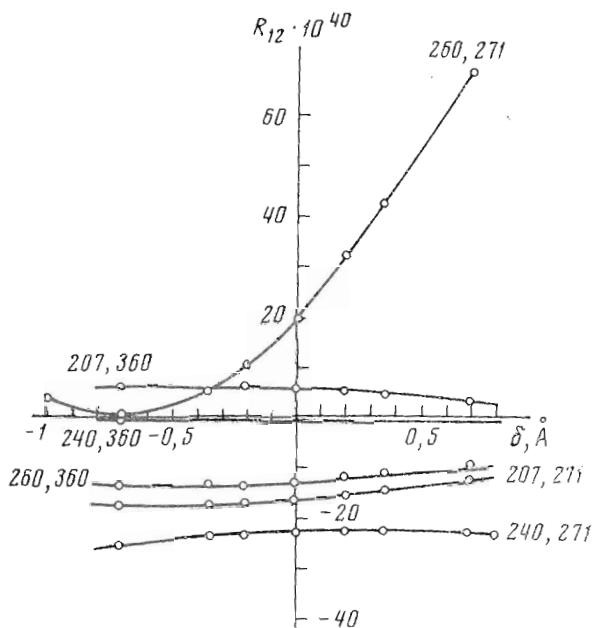


Рис. 4. Зависимость вращательных сил электронных переходов от смещения центра тяжести изоаллоксазинового основания относительно аденинового по оси δ

Исходя из полученных результатов, можно предложить следующее полуколичественное объяснение изменения вращательных сил в аналогах FAD по сравнению с молекулой FAD.

В водном растворе монофосфорного эфира аденин-изоаллоксазиновый комплекс характеризуется несколько большим значением угла φ или (ψ) несколько большим значением δ , чем комплекс FAD. Например, если угол φ больше 40° примерно на $3-4^\circ$, то, как видно из рис. 1, $R_{260,271}$ увеличивается примерно в 2-3 раза, а изменение $R_{240,271}$ и $R_{207,360}$ намного меньше, так что в результате для значения вращательной силы перехода 271 нм получается обращение знака вращения, что и наблюдалось экспериментально [3] для монофосфорного эфира по сравнению с FAD. Такой

же эффект получается при изменении x' на величину $\delta \simeq 0,3-0,4\text{\AA}$, как это видно из рис. 4. Эти изменения φ и x' , приводящие к существенному изменению вращательной силы перехода 271 нм, мало влияют на величину вращательной силы перехода 360 нм (рис. 1 и 4). Из рис. 3 видно, что небольшое увеличение вращательной силы перехода 360 нм, наблюдаемое ранее [3], можно объяснить уменьшением величины z ($\Delta \simeq -0,5\text{\AA}$).

Таким образом, комплекс для монофосфорного эфира характеризуется несколько увеличенным значением угла φ ($\varphi \simeq 43^\circ$) и (или) несколько увеличенным значением x' ($\delta \simeq 0,3-0,4\text{\AA}$), а также несколько уменьшенным значением z ($\Delta \simeq -0,5\text{\AA}$). Уменьшение вращательных сил в аналогах FAD с тремя и четырьмя звеньями фосфорной цепи, согласно полученным результатам, можно объяснить увеличением значений z . Как видно из рис. 3, увеличение z ($\Delta > 0$) приводит к плавкому уменьшению всех значений R_{12} и тем самым к уменьшению вращательных сил переходов 271 и 360 нм.

Для количественной оценки изменений геометрии комплекса в аналогах FAD по сравнению с FAD необходимо иметь точные экспериментальные значения вращательных сил перехода 271 нм в аналогах FAD. Однако определение этих значений связано с существенными трудностями принципиального характера. Эти трудности обусловлены тем, что полосы 260 и 271 нм в значительной степени перекрываются, а существующая теория применима, строго говоря, лишь для изолированных полос. В работе [1] проведено разделение полос при предположении, что полоса имеет гауссову форму. Однако такое допущение, справедливое для полос поглощения, не может быть принято для полос спектра КД, обусловленного диполь-дипольным взаимодействием, так как очевидно, что при перекрывающихся полосах поглощения форма соответствующих полос в спектре КД искажается. Кроме того, как показано недавно [6-9], при перекрывании полос поглощения необходимо учитывать такие специфические эффекты, как влияние недиагональности матрицы безызлучательного затухания и влияние запаздывающего взаимодействия, которые приводят к искажению формы линий в спектре КД. При этом требуется ввести обобщение самого понятия вращательной силы в виде «матрицы вращательной силы», элементы которой определяются, вообще говоря, другой зависимостью от геометрии расположения взаимодействующих диполей, чем по (1). Для того чтобы иметь возможность учесть эти эффекты в реальных спектрах КД, необходимо развить теорию [6-9] на случай явного учета колебательной структуры полос электрошных переходов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Miles D. W., Urry D. W. (1968) *Biochemistry*, 7, 2791.
2. Tinoco I., Jr. (1962) *Adv. Chem. Phys.*, 4, 113.
3. Мищенко В. В., Шапиро Т. А., Рубинская Ю. М., Христианович Д. С., Хомутова Е. Д., Березовский В. М. (1973) *ЖОХ*, 43, 2547.
4. Sun M., Moore T. A., Song P. S. (1972) *J. Amer. Chem. Soc.*, 94, 1730.
5. Song P. S. (1969) *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 158, 410.
6. Морозов В. А. (1974) *Оптика и спектр.*, 37, 113.
7. Морозов В. А. (1974) *Оптика и спектр.*, 37, 435.
8. Морозов В. А., (1974) *Оптика и спектр.*, 37, 1094.
9. Морозов В. А. (1975) *Оптика и спектр.*, 38, 972.

Поступила в редакцию
21.V.1975 *

* Статья из портфеля редакции журнала «Молекулярная биология»; дата поступления — 30.XII.1974 г.

THE ROTATIONAL STRENGTH OF THE TRANSITIONS 271 AND 360 NM
AND THE GEOMETRY OF THE INTRAMOLECULAR COMPLEX OF
FAD AND ITS ANALOGUES

MOROSOV V. A., MISTCHENKO V. V., RUBCHINSKAYA Ju. M.

All-Union Vitamin Research Institute, Moscow

The calculation of the rotational strength of electronic transitions 271 and 360 nm in the FAD molecule has been carried out in dipole-dipole approximation. It showed the necessity of taking into account the interaction not only which close in frequency but also with remote transition in isoalloxazine and adenine moieties of the molecule. The change of four parameters (namely, vertical distance between aromatic bases in the dinucleotide, mutual displacement of their weight centres, turning of isoalloxazine base around vertical axis and turning of the base around its weight centre) which determine the geometry of intramolecular complex of FAD and its analogues permits to explain some characteristics of the circular dichroism spectra of FAD and its analogues, differing from FAD in phosphate bridge length.
