



УДК 577.164.131:577.323.2:541.651

ПРОСТРАНСТВЕННОЕ И ЭЛЕКТРОННОЕ СТРОЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ПИРИДОКСИНОВЫХ И ПИРИДОКСАЛЕВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НУКЛЕИНОВЫХ ОСНОВАНИЙ

*Морозов Ю. В., Боковой В. А., Бажулина Н. П.,
Чехов В. О., Швырков В. Н., Карнейский А. М.**

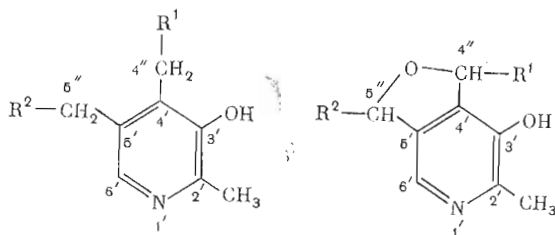
Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва;

** Научно-производственное объединение «Витамины», Москва*

Методом молекулярной механики рассчитана геометрия наиболее вероятных конформеров ряда пиридоксिनowych и пиридоксалеvых производных нуклеиновых оснований. Для всех исследованных соединений независимо от их полного и таутомерного состояния нуклеиновый и пиридоксильный фрагменты молекулы оказались расположенными в различных плоскостях. Для наиболее вероятных конформеров проведены квантово-химические расчеты электронного строения, которые показали, что у всех ионных и таутомерных форм первый электронный переход ($S_0 \rightarrow S_1$) практически полностью локализован на пиридоксильном фрагменте, а второй ($S_0 \rightarrow S_2$) на нуклеиновом. Это говорит о слабом взаимодействии между π -электронными системами этих фрагментов и позволяет предположить, что люминесцентное и фотохимическое поведение рассматриваемых соединений будет определяться, как правило, поведением пиридоксильного (пиридоксалевого) фрагмента. Люминесцентное исследование подтвердило высказанное предположение.

Настоящая работа продолжает начатое нами исследование [1] физико-химических свойств негликозидных аналогов нуклеиновых оснований, у которых углеводный остаток замещен на молекулу пиридоксина (PN) или пиридоксалея (PL), и посвящена рассмотрению их пространственного и электронного строения.

В приведенных структурных формулах изученных в настоящей работе соединений в случае производных пиридоксалея для удобства сохранена нумерация атомов, принятая для самого пиридоксалея.



4PNUra: $R^1 = \text{Ura}$; $R^2 = \text{OH}$

4PNCyt: $R^1 = \text{Cyt}$; $R^2 = \text{OH}$

4PNAde: $R^1 = \text{Ade}$; $R^2 = \text{OH}$

4PNBim: $R^1 = \text{Bim}$; $R^2 = \text{OH}$

5PNUra: $R^1 = \text{OH}$; $R^2 = \text{Ura}$

5PNCyt: $R^1 = \text{OH}$; $R^2 = \text{Cyt}$

5PNAde: $R^1 = \text{OH}$; $R^2 = \text{Ade}$

5PNBim: $R^1 = \text{OH}$; $R^2 = \text{Bim}$

Bim=1-бензимидазол

4PLUra: $R^1 = \text{Ura}$; $R^2 = \text{H}$

4PLMeUra: $R^1 = \text{MeUra}$; $R^2 = \text{H}$

5PLUra: $R^1 = \text{H}$; $R^2 = \text{Ura}$

5PLMeUra: $R^1 = \text{H}$; $R^2 = \text{MeUra}$

Надстрочные знаки «+», «±», «0» и «-» в сокращенных названиях будут в дальнейшем указывать ионное состояние соответствующих молекулярных фрагментов (схемы). В частности, обозначение 5PN±Ade⁰ показывает, что адениновый фрагмент существует в виде нейтральной формы,

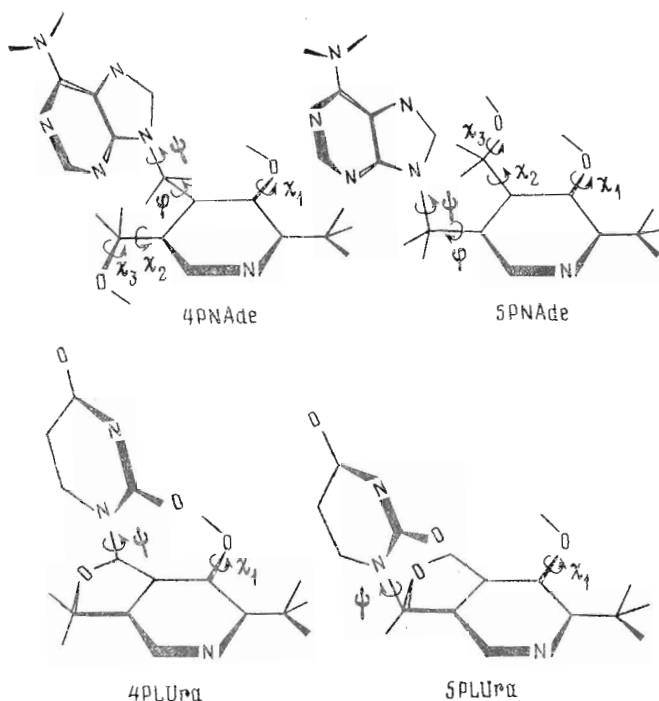
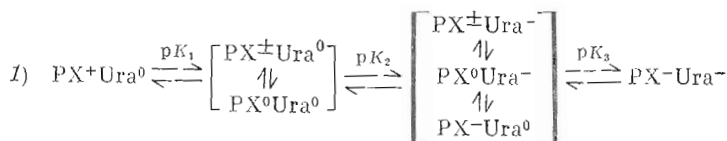


Рис. 1. Некоторые из возможных конформаций для 4(5)PNAdе и 4(5)PLUra

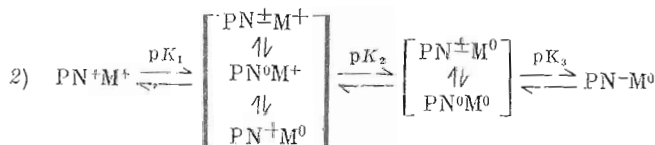
а пиридоксировый — в виде биполярного иона. Для катионов пиридоксина и пиридоксала дополнительный протон локализован около N1', а у биполярных ионов и анионов депротонирована 3-оксигруппа [2]. У анионов урацила депротонирован молекулярный фрагмент N3—H, а у катионов цитозина, аденина и бензимидазола дополнительный протон локализован соответственно около атомов N3, N1 и N3 [3, 4].

Анализ УФ-спектров показал [1], что при различных значениях pH изученные соединения присутствуют в растворах в виде разных ионных и таутомерных форм (схемы).

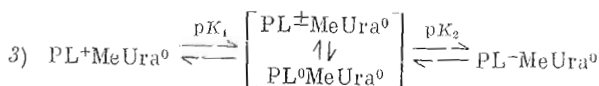
Схемы кислотно-основных и таутомерных равновесий (1—3) исследованных соединений*



PX — пиридоксин или пиридоксаль



M — цитозин, аденин или бензимидазол



* Поскольку характер равновесий не зависит от места присоединения нуклеинового основания к пиридоксину или пиридоксалу, цифры перед сокращенными названиями опущены.

Для всех ионных и таутомерных форм исследованных соединений проведены конформационные расчеты методом атом-атомных потенциалов. При этом для 4'-замещенных пиридоксина двугранные углы варьировали вдоль связей $C4'-C4''(\varphi)$, $C4''-R(\psi)$, $C3'-O3'(\chi_1)$, $C5'-C5''(\chi_2)$ и $C5''-O5''(\chi_3)$, а для 5'-замещенных — вдоль связей $C5'-C5''(\varphi)$, $C5''-R(\psi)$, $C3'-O3'(\chi_1)$, $C4'-C4''(\chi_2)$ и $C4''-O4''(\chi_3)$; для 4'-замещенных пиридоксаля — вдоль связей $C4''-R(\psi)$ и $C3'-O3'(\chi_1)$ и, наконец, для 5'-замещенных пиридоксаля — вдоль связей $C5''-R(\psi)$ и $C3'-O3'(\chi_1)$ (рис. 1).

Все расчетные величины получены при значении $\epsilon = 2$ и величине торсионного потенциала для 3'-оксигруппы 10 ккал/моль. Выбор этих значений производился на основании следующих соображений.

В рамках использованного метода для «эффективного» учета влияния среды обычно вводится некоторая, условно называемая диэлектрической проницаемостью константа ϵ , являющаяся фактически лишь параметром, с помощью которого электростатическое взаимодействие всех несвязанных атомов молекулы, моделируемых точечными зарядами, ослабляется в одинаковой степени. Значение этого параметра находится для каждого класса молекул на основании критерия наилучшего совпадения расчетных данных для большего числа молекул с экспериментом. Для полипептидов Момани с соавт. [5] нашли, что оптимальное значение $\epsilon = 2$. В случае полинуклеотидов Ильичева и соавт. [6] пришли к выводу, что оптимальная величина ϵ невелика и лежит в интервале 1—4, причем результаты расчета слабо зависят от изменения ϵ в этом интервале. Для изучаемых нами молекул прямые экспериментальные данные об их конформации отсутствуют. Однако косвенные данные говорят о том, что для похожих молекул влияние электростатического взаимодействия на их конформационное поведение весьма существенно. Так, конформации различных ионных форм оксидов пиридоксаля и пиридоксаль-5'-фосфата могут быть правильно поняты лишь при учете этих взаимодействий [7]. Наряду с этим конформационное поведение 3-метил-4-N-гидрокси(метокси)цитидина также в значительной степени контролируется электростатическими взаимодействиями [8], т. е. и для этих соединений значение ϵ должно быть невелико. В связи с этим мы во всех расчетах приняли $\epsilon = 2$, по произвели при этом специальную проверку того, как зависят конформации изучаемых молекул от ϵ в интервале от 1 до 10. Эти расчеты показали, что в пределах типичной ошибки метода расчета, которую, судя по многочисленным сопоставлениям экспериментальных и расчетных данных [9, 10], можно принять равной примерно 1 ккал/моль, ни положение минимумов энергии, ни относительный порядок их следования, ни общая картина конформационных карт при варьировании ϵ от 1 до 4 не меняются.

На рис. 2 приведены конформационные карты для некоторых из исследованных соединений. Видно, что независимо от ионного состояния молекул для производных пиридоксина имеется четыре устойчивые конформации, а для производных пиридоксаля, у которых значение φ фиксировано при 120° , — две. Из расчетов видно, что энергетически выгодные значения ψ для производных пиридоксаля совпадают с таковыми для производных пиридоксина при $\varphi = 120^\circ$.

Следует отметить, что для протонированной 3'-гидроксигруппы вариация ϵ от 1 до 10 практически не меняет ни положения минимумов энергии, ни их относительную глубину. Если же гидроксил депротонирован, то его отклонение на расстояние $\sim 3 \text{ \AA}$ с отрицательно заряженным атомом O2 пиримидинов или N3 аденина представляется весьма маловероятным. Действительно, вероятность существования конформера IV (наименее вероятного и при $\epsilon = 10$) при уменьшении ϵ еще больше повышается. Этот факт, с нашей точки зрения, имеет принципиальное значение не только для анализа рассмотренной ситуации. Он указывает также на то, что при проведении конформационных расчетов сравнительно небольших молекул необходимо существенное внимание уделять воз-

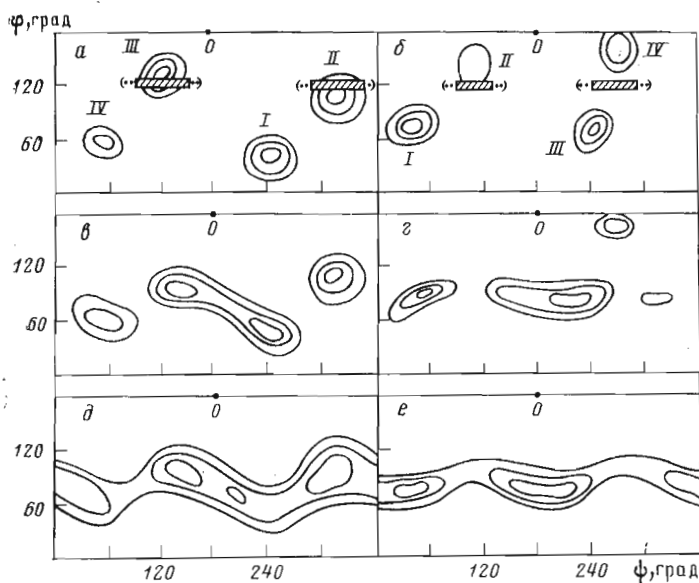


Рис. 2. Конформационные карты для $4PN^0Cyt^0$ и $4PL^0Ura^0$ (а), $5PN^{\pm}Cyt^0$ и $5PL^{\pm}Ura^0$ (б), $4PN^0Bim^0$ (в), $5PN^{\pm}Bim^0$ (г), $4PN^0Ade^0$ (д), $5PN^{\pm}Ade^0$ (е). Эквипотенциальные кривые проведены через 1 ккал/моль. Римскими цифрами помечены соответствующие конформеры (см. табл. 1—3). Штрихованными прямоугольниками обозначены области выгодных значений ϕ для $4PL^0Ura^0$ и $5PL^{\pm}Ura^0$, точки со скобками около них показывают, как изменяется область ϕ для других ионных форм

можным электростатическим взаимодействиям, т. е. величина ε должна быть относительно небольшой.

Остановимся теперь на значении торсионного потенциала для 3'-гидроксигруппы I_t . При $I_t = 0$ ккал/моль конформационные расчеты предсказывают возможность образования внутримолекулярной водородной связи между 3'-гидроксилом и атомом O2. При этом гидроксигруппа поворачивается вокруг связи $C3'-O3'$, что нарушает сопряжение электронной пары, локализованной на p -орбитали атома $O3'$, с π -электронной системой пиридинового цикла. Квантово-химические расчеты показывают, что в этом случае следует ожидать гипсохромного сдвига наиболее длинноволновой полосы поглощения пиридоксинового (пиридоксалевого) фрагмента рассматриваемых молекул примерно на 0,4 эВ. В то же время имеющиеся у нас спектроскопические данные [1] говорят о том, что независимо от ионного состояния исследованных соединений их наиболее длинноволновые полосы поглощения по сравнению с соответствующими полосами поглощения пиридоксина имеют bathochromный сдвиг примерно на 0,1 эВ. Этот факт резко противоречит возможности существования водородной связи у конформера III. Увеличение I_t до 3,6 ккал/моль, рекомендованное в работе [5], практически не меняет картину. Это свидетельствует о том, что значение I_t должно быть взято значительно большим и не позволяющим 3'-гидроксигруппе выходить из плоскости пиридинового цикла. Мы приняли значение $I_t = 10$ ккал/моль, что обеспечивает выполнение этого условия.

Таким образом, анализ возможных конформеров для 1-(пиридоксил-4")пиримидинов с учетом всех сделанных замечаний показывает, что во всех случаях, когда гидроксил в положении 3'-пиридинового ядра депротонирован, наиболее вероятно существование конформеров I и II. Если же гидроксил не ионизован, то возможно появление и конформера III (табл. 1). Следует отметить, что конформер I может быть дополнительно стабилизирован внутримолекулярной водородной связью между 5"-гидроксигруппой и атомом O2.

Рассмотрение конформационных карт (рис. 2) показывает, что переходы между устойчивыми состояниями 1-(пиридоксил-4")пиримидинов

Значения двугранных углов φ и ψ (град) и относительной потенциальной энергии (W , ккал/моль) для возможных конформеров 4''-производных пиридоксина

Ионная форма	Конформационные параметры	Конформеры															
		4PNUGa				4PNCyt				4PNAdc				PNBim			
		I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
PN+Nuc+	φ ψ W	-	-	-	-	51 247	406 305	146 127	55 68	95 299	92 171	96 131	63 68	65 226	112 302	99 132	57 70
PN ⁰ Nuc+	φ ψ W	-	-	-	-	51 247	413 310	119 124	57 65	93 298	76 205	96 140	63 71	64 226	114 307	109 129	58 63
PN [±] Nuc+	φ ψ W	-	-	-	-	45 250	93 299	113 124	30 67	86 310	35 232	93 129	40 69	41 251	92 296	94 136	32 56
PN+Nuc ⁰	φ ψ W	51 243	113 305	120 128	54 68	52 243	113 305	120 128	54 68	96 296	94 175	95 152	62 73	65 224	114 303	118 129	55 63
PN ⁰ Nuc ⁰	φ ψ W	51 247	115 306	121 127	54 63	51 247	415 311	116 127	55 68	95 299	75 204	97 142	62 69	65 224	114 302	116 128	55 62
PN [±] Nuc ⁰	φ ψ W	51 247	111 306	119 128	54 60	51 247	415 311	116 127	55 68	95 299	75 204	97 142	62 69	65 224	114 302	116 128	55 62
PN-Nuc ⁰	φ ψ W	50 248	106 306	123 128	43 57	51 252	415 311	116 124	50 38	10 233	114 301	119 141	61 80	70 245	115 303	118 127	67 70
PN ⁰ Nuc-	φ ψ W	52 246	117 311	120 125	54 56	52 248	403 299	123 130	47 42	80 234	113 298	119 142	61 62	70 245	115 303	118 129	67 70
PN [±] Nuc-	φ ψ W	54 247	121 306	128 131	54 60	54 247	415 311	124 124	50 38	10 233	114 301	119 141	61 80	70 245	115 302	118 127	67 70
PN-Nuc-	φ ψ W	53 247	120 311	125 125	29 5,3	53 247	415 311	125 125	29 5,3	53 247	415 311	125 125	29 5,3	53 247	415 311	125 125	29 5,3

Значения двугранных углов φ и ψ (град) и относительной потенциальной энергии (W , ккал/моль) для возможных конформеров 5"-производных пиридоксина

Исходная форма	Конформационные параметры	Конформеры															
		5PN ψ ga				5PN ψ yt				5PNade				5PNBim			
		I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
PN ⁺ Nuc ⁺	φ	63	129	58	473	70	112	62	163	60	87	60	163	60	87	60	196
	ψ	51	117	233	266	45	97	230	285	54	154	230	285	54	154	230	257
	W	2,2	3,7	0,0	4,8	0,0	2,8	1,5	3,0	1,5	4,0	0,0	3,0	1,5	4,0	0,0	5,4
PN ⁰ Nuc ⁺	φ	59	150	57	176	61	83	62	170	74	87	62	170	74	87	62	194
	ψ	47	110	234	260	54	156	213	273	48	156	229	273	48	156	229	262
	W	0,5	3,2	0,0	2,9	0,3	2,1	0,0	2,4	2,0	3,7	0,0	2,4	2,0	3,7	0,0	3,4
PN [±] Nuc ⁺	φ	76	166	78	93	77	86	71	168	80	89	75	168	80	89	75	198
	ψ	45	93	232	325	51	156	193	277	53	156	219	277	53	156	219	257
	W	0,3	1,2	0,0	2,2	0,6	0,3	0,0	2,4	0,8	0,9	0,0	2,4	0,8	0,9	0,0	1,5
PN ⁺ Nuc ⁰	φ	61	161	62	168	73	82	58	170	78	163	60	170	78	163	60	170
	ψ	45	116	231	254	53	160	204	268	50	103	224	268	50	103	224	276
	W	2,1	1,9	0,0	2,7	2,1	3,6	0,0	3,4	0,7	1,5	0,0	3,4	0,7	1,5	0,0	1,7
PN ⁰ Nuc ⁰	φ	61	163	61	176	72	87	58	170	74	164	60	170	74	164	60	170
	ψ	43	106	233	266	51	156	208	273	48	100	225	273	48	100	225	277
	W	0,1	0,6	0,0	1,6	0,7	2,2	0,0	2,2	0,6	1,5	0,0	2,2	0,6	1,5	0,0	1,4
PN [±] Nuc ⁰	φ	76	130	75	175	76	130	73	173	77	86	75	167	80	89	75	167
	ψ	43	111	230	269	45	111	232	266	52	156	194	274	53	155	224	281
	W	0,5	1,7	0,0	1,0	0,8	1,1	0,0	0,9	1,2	0,5	0,0	2,3	0,0	1,2	0,0	1,2
PN ⁻ Nuc ⁰	φ	61	133	75	173	66	137	75	169	59	86	60	178	79	89	70	172
	ψ	47	104	236	274	33	101	236	277	49	158	224	264	52	155	219	280
	W	0,0	3,1	3,2	2,9	0,0	2,2	2,7	1,7	0,0	2,9	0,3	2,7	0,1	1,6	0,0	0,9
PN ⁰ Nuc ⁻	φ	60	159	60	173	60	159	60	173	60	159	60	173	60	159	60	173
	ψ	48	109	232	269	48	109	232	269	48	109	232	269	48	109	232	269
	W	0,0	2,4	0,4	2,6	0,0	2,4	0,4	2,6	0,0	2,4	0,4	2,6	0,0	2,4	0,4	2,6
PN [±] Nuc ⁻	φ	55	127	75	176	55	127	75	176	55	127	75	176	55	127	75	176
	ψ	47	110	233	264	47	110	233	264	47	110	233	264	47	110	233	264
	W	1,9	0,0	0,6	1,5	1,9	0,0	0,6	1,5	1,9	0,0	0,6	1,5	1,9	0,0	0,6	1,5
PN ⁻ Nuc ⁻	φ	78	135	77	163	78	135	77	163	78	135	77	163	78	135	77	163
	ψ	46	98	236	288	46	98	236	288	46	98	236	288	46	98	236	288
	W	0,4	0,8	2,2	0,0	0,4	0,8	2,2	0,0	0,4	0,8	2,2	0,0	0,4	0,8	2,2	0,0

затруднены стерически из-за взаимодействия атома O2 с пиридиновым циклом.

Для 4PNAdе в отличие от пиримидиновых производных вполне вероятно существование всех четырех конформеров (табл. 1), при этом переходы между ними более вероятны, так как отрицательный заряд на N3 аденина для соответствующих ионных форм всегда несколько меньше, чем на атоме O2 пиримидинов, и, кроме того, атом N3 расположен несколько дальше от пиридоксильного фрагмента, чем атом O2. Для 9-(пиридоксил-4'')гипоксантина, у которого молекулярный фрагмент C2—N3—C4—N9—C8 аналогичен таковому аденина, можно ожидать столь же незатрудненных переходов.

Для 4PNBim расчеты показывают, что наиболее вероятными являются конформеры I — III (табл. 1), причем переходы между ними более вероятны, чем для 1-(пиридоксил-4'')пиримидинов, и менее вероятны, чем для 9-(пиридоксил-4'')пуринов. Это связано с тем, что атом N3 пуринов (за исключением некоторых ионных и таутомерных форм ксантина) депротонирован, тогда как к соответствующему атому углерода бензимидазола присоединен протон, что затрудняет переходы. Следует отметить, что заряд этого молекулярного фрагмента C—N у 4PNBim близок к нулю, поэтому ионизация 3'-гидроксигруппы не должна сказываться на вероятности существования различных конформеров, и, следовательно, вариация ϵ также не должна практически влиять ни на положения минимумов энергии, ни на их относительную глубину, что полностью согласуется с результатами наших расчетов.

Можно считать, что при $\sim 300\text{K}$ конформеры с энергией большей, чем энергия наиболее устойчивого из них, на величину, превышающую 1—1,5 ккал/моль, присутствуют в растворах в небольших количествах. Поскольку расчеты энергий конформаций носят относительный характер, можно полагать, что расчет качественно правильно передает порядок следования конформеров в соответствии со значениями их энергий, и поэтому мы будем условно считать, что если наиболее устойчивый конформер обладает расчетной потенциальной энергией на 1—1,5 ккал/моль ниже, чем энергии остальных конформеров, то он является основным, в противном случае в растворе одновременно присутствуют в сравнимых количествах два или более различных конформеров.

Рассмотрим теперь результаты конформационных расчетов для 5''-производных пиридоксина (табл. 2). Для них также возможно (с точностью до зеркальной симметрии) существование четырех устойчивых конформеров. Наиболее вероятны из них конформеры I и III, для которых характерно образование внутримолекулярной водородной связи между гидроксилом в положении 3' и 4''-гидроксигруппой. Для менее вероятного конформера II возможно образование водородной связи между 4''-гидроксигруппой и атомом O2.

Вероятность перехода из одной конформации в другую наиболее благоприятна для 5PNAdе, а наиболее затруднены переходы для производных пиримидинов. Степень разрешенности этих переходов, как и для 4''-производных пиридоксина, зависит от наличия или отсутствия стерических препятствий. Здесь следует, однако, заметить, что величины энергетических барьеров для 4''-производных пиридоксина, как правило, выше, чем для его 5''-производных.

Для 4''-производных пиридоксалия (табл. 3), как уже отмечалось, основные конформационные минимумы энергии аналогичны таковым для 4''-производных пиридоксина. При этом в случае ионизованной 3'-гидроксигруппы урацильный цикл разворачивается так, чтобы были максимально разведены отрицательно заряженные атомы O2 и O3' ($\psi \sim 320^\circ$). Когда атом N1' протонирован, то предпочтительны конформации с O2, повернутым в его сторону ($\psi \sim 120^\circ$), а его депротонирование делает более выгодной отвернутую конформацию.

Так как для 5''-производных пиридоксина наиболее предпочтительны конформации с $\phi \sim 60^\circ$, то для 5''-производных пиридоксалия, (табл. 3), у которых $\phi = 120^\circ$, они, естественно, не реализуются. Для ионных

Значения двугранного угла ψ (град) и относительной потенциальной энергии

Соединение	Конформационные параметры	Ионные формы					
		PL+Ura ⁰		PL±Ura ⁰		PL ⁰ Ura ⁰	
		I	II	I	II	I	II
4PLUra	ψ	126	278	121	310	111	280
	W	0,0	0,7	0,0	1,4	0,7	0,0
5PLUra	ψ	126	266	120	275	120	277
	W	0,0	1,3	0,2	0,0	0,3	0,0

форм с ионизованной 3'-гидроксигруппой наиболее вероятны конформации с атомом O2, отвернутым от пиридинового цикла ($\psi \sim 280-300^\circ$), если же гидроксил нейтрален, то пиримидиновый цикл разворачивается на 180° ($\psi \sim 120^\circ$).

Здесь надо заметить, что, говоря о наиболее вероятных конформерах, обычно предполагают, что отсутствуют какие бы то ни было межмолекулярные взаимодействия. В реальных случаях, когда возможны взаимодействия обсуждаемых соединений с биологическими структурами, по-видимому, вероятность появления редких конформеров будет заметно возрастать.

Прежде чем перейти к анализу электронной структуры пиридоксина и пиридоксальных производных нуклеиновых оснований, следует сделать одно важное замечание: для всех ионных и таутомерных форм рассмотренных соединений в основном состоянии их электронная структура (фрагментарно) оказалась очень близкой к таковой у пиридоксина или пиридоксала [11, 12] и соответствующего нуклеинового основания [3]. Кроме того, как будет показано ниже, изменения электронной структуры, которые имеют место при возбуждении молекулы, также могут быть достаточно подробно проанализированы, исходя из известных изменений для пиридоксина (пиридоксала) и соответствующих пиримидиновых или пуриновых оснований. Поэтому, отсылая заинтересованных читателей к цитированной литературе, мы рассмотрим здесь электронную структуру лишь для 4PN⁻Cyt и 5PN⁻Ade. Однако все сделанные выводы будут качественно справедливыми и для других исследованных соединений.

На рис. 3 приведены молекулы 4PN⁻Cyt⁰ и 5PN⁻Ade⁰. Около каждого из атомов даны значения полных зарядов в состояниях S_0 , S_1 и S_2 . Анализ этих данных и их сопоставление с результатами расчетов электронной структуры пиридоксина и соответствующего нуклеинового основания в аналогичном квантово-химическом приближении позволяет сделать ряд выводов.

Независимо от ионного и таутомерного состояния рассматриваемых соединений первый электронный переход оказался практически полностью локализованным на пиридоксильном (пиридоксальном) фрагменте молекулы, а второй — на нуклеиновом основании. В состоянии S_1 величины зарядов на атомах нуклеинового основания практически такие же, как в S_0 , тогда как на пиридоксильном фрагменте происходит существенное изменение зарядов. В состоянии же S_2 наблюдается обратная картина. Следует также отметить, что полученные в результате расчета изменения величин зарядов оказались очень близкими к аналогичным изменениям, полученным собственно для пиридоксина (пиридоксала) и нуклеинового основания.

Так как в состоянии S_1 электронное возбуждение локализовано главным образом на пиридоксильном (пиридоксальном) фрагменте, можно ожидать, что флуоресцентно-фотохимическое поведение обсуждаемых соединений в S_1 должно быть качественно аналогичным таковому пиридоксина (пиридоксала). Независимо от суммарного заряда нуклеинового фрагмента при возбуждении катионов (по пиридоксильному фрагменту)

(W, ккал/моль) для возможных конформеров 4PLUra и 5PLUra

Ионные формы							
PL±Ura ⁻		PL ^o Ura ⁻		PL-Ura ^o		PL-Ura ⁻	
I	II	I	II	I	II	I	II
122	320	121	278	115	318	111	325
0,0	2,2	2,1	0,0	0,4	0,0	1,5	0,0
124	268	120	281	116	305	111	312
1,0	0,0	0,0	0,3	1,5	0,0	3,8	0,0

должна, по-видимому, преимущественно реализоваться фотореакция ионизации 3'-гидроксигруппы и во флуоресценции будет проявляться свечение главным образом биполярных ионов. При возбуждении же других ионных форм пиридоксильного фрагмента во флуоресценции должно проявляться их свечение.

Более сложно обстоят дела с прогнозированием фосфоресцентного поведения рассматриваемых соединений. Как правило, в состоянии T_1 возбуждение также локализовано на пиридоксильном фрагменте и во фосфоресценции должно проявляться свечение ионных форм именно этого фрагмента. Однако в ряде случаев, например 4PN^oAde^o, говорить о месте локализации электронного возбуждения на основе квантово-химических расчетов в настоящее время не представляется возможным. Дело в том, что точность рассчитанных величин энергий триплетного состояния низкая, а для обоих фрагментов предсказываются довольно близкие значения, поэтому решить этот вопрос можно лишь экспериментально.

С точки зрения необратимых фотохимических реакций в состоянии S_1 у изученных соединений наиболее фотореакционноспособным будет, по-видимому, как и у пиридоксина [13], молекулярный фрагмент N1'—C6', по которому может внедряться кислород с последующим разрывом пиридинового цикла.

Хотя в состоянии S_2 возбуждение практически полностью локализовано на нуклеиновом фрагменте и при этом происходит очень существенное ослабление двойной связи C5=C6 пиримидина, говорить о возможности реакций фотогидратации или фотодимеризации [3] нужно с большой осторожностью, так как вероятность таких фотореакций у рассмотренных соединений будет конкурировать с вероятностью безызлучательного размена энергии электронного возбуждения через состояние S_1 .

Люминесцентное и фотохимическое поведение обсуждаемых соединений будет нами специально рассмотрено в отдельном сообщении, однако, предворяя это сообщение, заметим, что эксперимент полностью подтвердил все квантово-химические предсказания. Чтобы проиллюстрировать это, остановимся кратко на приведенных на рис. 4 спектрах люминесценции 4PN^oAde в воде и этаноле при 293 и 77К. При 293К в воде доминирует свечение биполярных ионов (речь идет о пиридоксильном фрагменте) и анионов. При возбуждении в спектральном интервале 280—290 нм наблюдается также и слабое свечение нейтральных молекул и катионов, причем степень его проявления зависит от типа нуклеозида и места его присоединения. В этаноле при 293К люминесцентная картина качественно аналогична, но сильно возрастает вклад в общее свечение флуоресценции нейтральных молекул. При 77К излучательный канал становится основным в процессе дезактивации возбужденных молекул. Проявляется флуоресценция всех форм, однако свечение катионов конкурирует с активно реализующейся фотореакцией депротонизации 3'-гидроксигруппы. Как уже отмечалось, для обсуждаемых соединений нижним, как правило, является триплетный уровень пиридоксильного фрагмента и фосфоресценция принадлежит этому хромофору. Тем не менее в случае 4PN^oAde^o

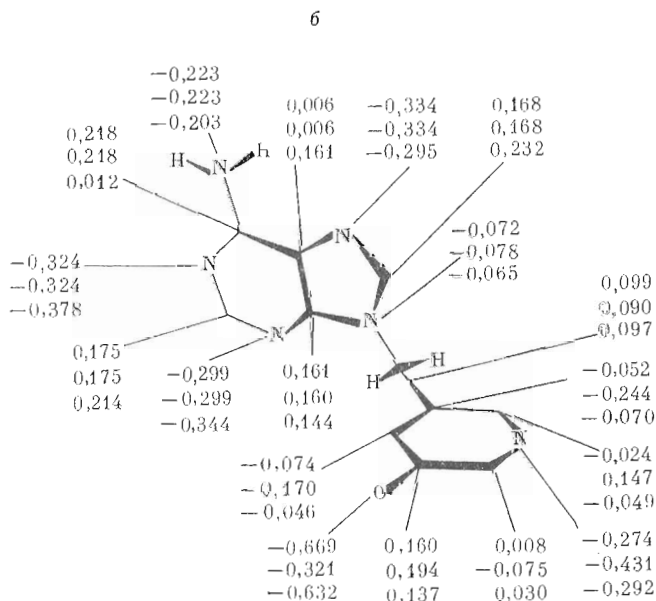
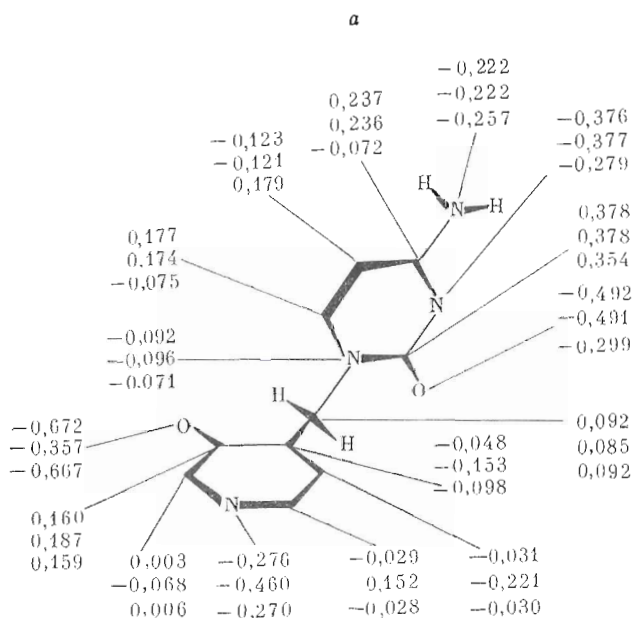


Рис. 3. Наиболее вероятные конформеры для анионов: а — 1-(пиридоксил-4'') цитозина и б — 9-(пиридоксил-5'') аденина. Около атомов указаны (сверху вниз) полные заряды в состояниях S_0 , S_1 и S_2

нижним оказался триплетный уровень нуклеозида и наблюдается его флуоресценция. На рис. 4 приведен спектр флуоресценции собственно аденозина в качестве свидетеля, весьма близкий к спектру флуоресценции $4PN^0Ado^0$. В заключение следует отметить, что относительный вклад флуоресценции в суммарное свечение для нейтральных молекул и анионов (см. рис. 4) сравним по величине с вкладом флуоресценции, а для катионов и биполярных ионов — заметно меньше.

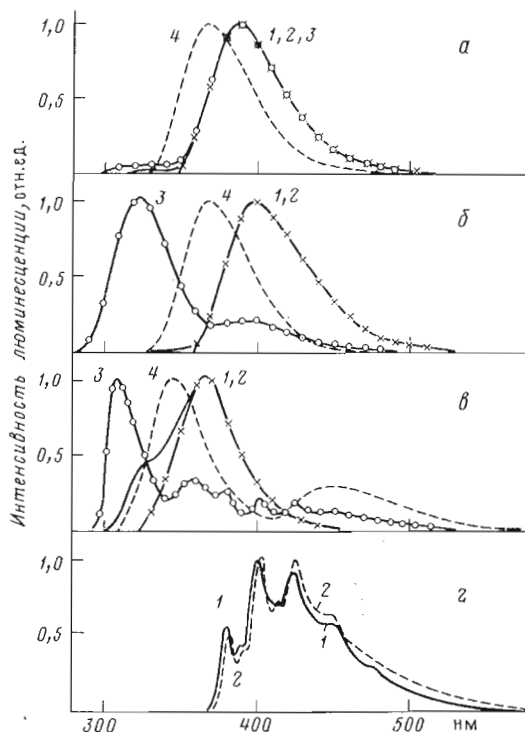


Рис. 4. Спектры люминесценции 9-(пиридоксил-4'') аденина в воде при 293 К (а), в этаноле при 293 (б) и 77 К (в): 1 — кислые растворы ($\lambda_{\text{возб}} = 295$ нм); 2 — нейтральные ($\lambda_{\text{возб}} = 335$ нм); 3 — нейтральные ($\lambda_{\text{возб}} = 290$ нм); 4 — щелочные ($\lambda_{\text{возб}} = 315$ нм); г — спектры фосфоресценции в нейтральном этаноле при 77 К ($\lambda_{\text{возб}} = 290$ нм); 1 — 9-(пиридоксил-4'') аденин; 2 — аденозин

Экспериментальная часть

Расчеты электронной структуры и спектров исследованных молекул в приближении ППДП/С* производили в двух вариантах: 1) с использованием параметризации и способа учета различия между интегралами π - и σ -типов, предложенных в работе [14], — ППДП/С(А); 2) при той же параметризации, но с учетом различия в перекрытвании между АО π - и σ -типов в локальной системе координат — ППДП/С(В), что позволяет применить метод ППДП/С для расчета электронной структуры и спектров неплоских молекул. Буквенные обозначения в группе методов ППДП/С взяты нами из работы [15], где все эти методы подробно рассмотрены и приведен комплекс программ, их реализующих.

Координаты атомов изученных молекул определяли в результате их конформационных расчетов, при проведении которых учитывали вклад в потенциальную энергию невалентных взаимодействий, водородных связей, торсионной энергии, а также электростатического взаимодействия. Невалентные взаимодействия оценивали с помощью метода атом-атомных потенциалов типа Леннард-Джонса с использованием системы параметров, предложенных в работе [16]. Электростатический вклад рассчитывали в монопольном приближении с учетом эффективной диэлектрической проницаемости. Заряды на атомах были рассчитаны с помощью метода ППДП/С. Для водных растворов энергию водородных связей, оцениваемую с помощью потенциала типа 6—12 [17], принимали уменьшенной по сравнению с обычными значениями ψ , в соответствии с данными работы [18], равной 1,5 ккал/моль. Для всех торсионных углов, кроме χ_1 (см. рис. 1), значения барьеров вращения принимали равными нулю, так как они весьма малы [5]. В случае (пиридоксил-4'')-производных нуклеиновых оснований за нули отсчета углов принимали *транс*-положения следующих связей: χ_1 — C2'—C3'—O3'—H; χ_2 — C6'—C5'—C5''—O5''; χ_3 — C5'—C5''—O5''—H; φ — C5'—C4'—C4''—N1(N9); ψ — C4'—C4''—N1(N9)—C2(C4). Для (пиридоксил-5'') производных — *транс*-положения связей: χ_1 — C2'—C3'—O3'—H; χ_2 — C5'—C4'—C4''—O4''; χ_3 — C4'—C4''—O4''—H; φ — C6'—C5'—C5''—N1(N9); ψ — C5'—C5''—N1(N9)—C2(C4). Увеличение угла вращения соответствует движению по часовой стрелке дальней связи, если смотреть вдоль оси вращения. При замене пиридоксинового фрагмента на пиридоксальевый варьируются углы χ_1 и ψ . Способ отсчета угла при этом сохраняется.

* ППДП/С — полное пренебрежение дифференциальным перекрытванием, спектроскопическая параметризация.

ЛИТЕРАТУРА

1. Морозов Ю. В., Божовой В. А., Бажулина Н. П., Федорова Л. И., Чехов В. О., Карклит Л. В., Карпейский А. М., Степанова С. В., Гунар В. И. // Биоорганическая химия. 1987. Т. 13. № 5. С. 685—695.
2. Morozov Yu. V. // Pyridoxal phosphate: chemical, biochemical and medical aspects. Part A. V. 1A/Ed. Dr. Dolphin D. N. Y.— L.: Wiley and Sons, 1986. P. 131—222.
3. Бородавкин А. В., Будовский Э. И., Морозов Ю. В., Савин Ф. А., Симуква Н. А. // Итоги науки и техники. Сер. Молекулярная биология. Т. 14. М.: ВИНТИ, 1977. 228 с.
4. Бажулина Н. П., Морозова Ю. В., Савин Ф. А., Федорова Л. И., Чехов В. О. // Биоорганическая химия. 1985. Т. 11. № 1. С. 49—59.
5. Motanu F. A., McGuire R. F., Burgess A. V., Scheraga H. A. // J. Phys. Chem. 1975. V. 79. № 22. P. 2361—2381.
6. Ильичева И. А., Кистер А. Э., Дашевский В. Г., Есипова Н. Г., Туманян В. Г. // Биофизика. 1978. Т. 23. № 5. С. 947—950.
7. Bazhulina N. P., Kirpichnikov M. P., Morozov Yu. V., Savin F. A. // Molec. Photochem. 1974. V. 6. № 1. P. 43—67.
8. Morozov Yu. V., Savin F. A., Chekhov V. O., Budowsky E. J., Yakovlev D. Yu. // J. Photochem. 1982. V. 20. № 3. P. 229—252.
9. Дашевский В. Г. Конформации органических молекул. М.: Химия, 1974, 432 с.
10. Дашевский В. Г. Конформационный анализ органических молекул. М.: Химия, 1982. 272 с.
11. Савин Ф. А., Морозов Ю. В., Бажулина Н. П. // Молекулярная биология. 1973. Т. 7. № 7. С. 674—682.
12. Савин Ф. А., Морозов Ю. В. // Молекулярная биология. 1975. Т. 9. № 2. С. 296—303.
13. Морозов Ю. В., Бажулина Н. П. // Люминесцентный анализ в медико-биологических исследованиях. Рига: РМИ, 1980. С. 105—115.
14. Del Bene J., Jaffé H. H. // J. Chem. Phys. 1968. V. 48. № 4. P. 1807—1813.
15. Баранов В. И., Савин Ф. А., Грибов Л. А. Программы расчета электронно-колебательных спектров многоатомных молекул. М.: Наука, 1983. 192 с.
16. Scott R. A., Scheraga H. A. // J. Chem. Phys. 1966. V. 45. № 6. P. 2091—2101.
17. Poland D., Scheraga H. A. // Biochemistry. 1967. V. 6. № 12. P. 3791—3800.
18. Schellman J. A. // Compt. rend. trav. lab. Carlsberg. Ser. chim. 1955. V. 29. № 14—15. P. 223—259.

Поступила в редакцию
26.IX.1986

SPACIAL AND ELECTRON STRUCTURE OF SOME PYRIDOXINE AND PYRIDOXAL DERIVATIVES OF NUCLEIC BASES

MOROZOV YU. V., BOKOVOI V. A., BAZHULINA N. P.,
CHEKHOV V. O., SCHVYRKOV V. N., KARPEISKY A. M.*

*Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences of the USSR;
All-Union Vitamins Research Institute, Moscow

By means of conformational analysis we have established the spacial structure of the most probable conformers of some pyridoxine and pyridoxal derivatives of nucleic bases. For all the compounds studied, irrespective of their ionic and tautomeric states, their nucleic and pyridoxyl moieties appeared to be non-coplanar. The quantum chemical calculations for the most probable conformers showed that for all ionic and tautomeric forms the first electronic transition ($S_0 \rightarrow S_1$) was almost completely located at the pyridoxal fragment, and the second one ($S_0 \rightarrow S_2$), at the nucleic fragment. This demonstrates a weak interaction between π -electronic systems of these fragments and allows to expect that the luminescence and photochemical behaviour of the compounds under study will be determined, as a rule, by the behaviour of the pyridoxine (pyridoxal) fragment. A luminescence study supported the above-mentioned supposition.