

Вплив метилювання та взаємодії з карбоксильною групою амінокислот на УФ спектри пуринових нуклеотидних основ та нуклеозидів.

3. Гіпоксантин і ксантин

А. В. Степанюгін, І. М. Коломієць, А. Л. Потягайло, С. А. Тригубенко¹,
Т. В. Богдан¹, С. П. Самійленко

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна

¹Національний університет «Києво-Могилянська академія»
Вул. Григорія Сковороди, 2, Київ, 04070, Україна

Вивчено УФ спектри поглинання у зневодненому ДМСО гіпоксантину, ксантину, їхніх нуклеозидів та низки метилпохідних і простежено їхні зміни при взаємодії з нейтральною та депротонованою карбоксильною групою амінокислот. Напівемпіричним квантовохімічним методом MNDO/H показано, що взаємодія з карбоксилат-іоном фіксує гіпоксантин у рідкісній енольній формі та зміщує таутомерну рівновагу $N7H \leftrightarrow N9H$ ліворуч, а у випадку ксантину провокує перехід $N7H \rightarrow N9H$, котрий блокується метилзаміщенням основи в положенні 3. Суттєву зміну УФ спектрів ксантину, 3-метилксантину, 9-метилксантину та ксантозину при взаємодії з карбоксилат-іоном зумовлено значним внеском перенесення протона в утворення комплексів від основи до ліганду, причому 9-метилксантин та ксантозин виявилися частково депротонованими вже за рахунок розчинника. Встановлено, що метилзаміщення положення 7 у 7-метилінозині та 7-метилксантозині призводить до практичної відсутності взаємодії з карбоксилат-іоном та виникнення нової здатності утворювати міцні комплекси з нейтральною карбоксильною групою. Заміщення групи $S8H$ на N у 8-азаХап не змінює специфічності взаємодії цієї основи з двома формами карбоксильної групи.

Вступ. Перші дві роботи [1, 2] з серії дослідження УФ спектрів поглинання похідних пуринових основ та їхніх комплексів з карбоксильною групою амінокислот у зневодненому диметилсульфоксиді (ДМСО) були присвячені аденінові (Ade) та гуанінові (Gua) відповідно. Предметом даної публікації є вивчення за ідентичних експериментальних умов мінорних нуклеотидних основ гіпоксантину (Нур) та ксантину (Хап), їхніх нуклеозидів та метилпохідних.

Добре відомою є біологічна роль Хап, Нур і їхніх нуклеозидів ксантозину (Х) та інозину (І) відповідно. В організмі вони утворюються внаслідок деградації нуклеїнових кислот. Так, Нур і Хап є

продуктами дезамінування Ade та Gua, що може, зокрема, викликати мутагенний ефект у ДНК [3, 4]. Крім того, Нур окислюється металоферментом ксантиноксидазою до Хап, котрий також є її субстратом і окислюється нею в положенні 8, даючи в результаті сечову кислоту — кінцевий продукт деградації пуринових основ в організмі. Водночас Хап і Нур можуть виступати як попередники канонічних нуклеотидних основ.

Принагідно відзначимо видатну роль українського вченого, члена Наукового Товариства ім. Т. Г. Шевченка, академіка І. Я. Горбачевського в синтезі і дослідженні сечової кислоти [5, 6] та встановленні джерел і шляхів її утворення в організмі [7]. Ним також вперше отримано кристалічну форму Хап [8].

© А. В. СТЕПАНЮГІН, І. М. КОЛОМІЄЦЬ, А. Л. ПОТЯГАЙЛО,
С. А. ТРИГУБЕНКО, Т. В. БОГДАН, С. П. САМІЙЛЕНКО,
2001

Нур є мінорною основою, яка входить до складу антикодонових триплетів деяких транспортних РНК [9]. У невеликій кількості Нур і Хап присутні майже в усіх органах.

Ці основи цікаві також з огляду на їхню фармакологічну активність. Метилпохідні Хап (кофеїн, теобромін, теофілін) широко використовуються завдяки добре відомому гіпотензивному та спазмолітичному ефектові. Виявилося, що інозин має різноманітну терапевтичну дію у складі комплексних лікарських препаратів (див., наприклад, роботу [10] та посилання в ній). Є інформація щодо його антивірусної активності у випадку зараження вірусом імунодефіциту людини [11].

В літературі значно менше публікацій присвячено цим двом мінорним основам, ніж канонічним пуриновим основам Ade, Gua та їхній вихідній сполуці — пуринові [12—23].

Таутомерія та іонізація Хап і його похідних вивчалися за допомогою УФ спектроскопії [24, 25] і ЯМР [25]. При цьому було показано, що молекула незарядженого Хап у водному розчині існує як таутомер N7H. Дослідження іонізації Нур за допомогою УФ спектроскопії [26] засвідчило для нейтральної молекули таутомерну форму N9H.

Однак результати пізніших досліджень [27] вказують на те, що як Хап, так і Нур у водних розчинах є переважно таутомерами N7H. Дослідження за допомогою рентгенівської дифракції кристалічної солі Хап [28] свідчить про його таутомерну форму N9H у твердому стані.

Низку публікацій присвячено теоретичному дослідженню таутомерії Хап та Нур [29—38], а також аналога Нур 2-азагіпоксантину [39]. У роботах [29, 30] наведено результати досліджень повних молекулярно-д्वітерійонних таутомерних сімейств Хап і Нур напівемпіричним квантовохімічним методом AM1. Показано, що Хап у газовій фазі та в розчині у зневодненому ДМСО існує як дикето-таутомер N7H. Це узгоджується з результатами розрахунків *ab initio* високих рівнів наближення [35, 36]. Для Нур, за розрахунками [29, 30], у газовій фазі таутомерна рівновага N9H ↔ N7H зміщена з невеликою перевагою ліворуч, що збігається з даними ЯМР для розчину в ДМСО. Проте розрахунки *ab initio* [36, 38] надають невелику перевагу (меншу за 1 ккал/моль) кето-таутомерові N7H.

За допомогою ІЧ спектроскопії матрично-ізоляваного Нур [40] встановлено, що його основний кето-таутомер має 5 % домішку енольного. Рентгеноструктурний аналіз застосували для вивчення кристалічної структури інозину [41] і натрієвої солі дезоксиінозину [42]. Експериментально отримано значення перших потенціалів іонізації для Нур у газовій фазі [43].

Кислотно-лужній рівновазі Нур і Хап у газовій фазі присвячено роботи [44—47]. ЯМР-спектроскопію використовували для дослідження I та лікувального препарату інозиплексу, створеного на його основі [10]. Для вивчення біологічної функції I в антикодоновій петлі було синтезовано аналоги аланінової транспортної РНК, де I заміщено на Ade та Gua [48].

Взаємодію Хап, Нур, їхніх нуклеозидів та низки метилпохідних з іонізованою та нейтральною карбоксильною групою амінокислот у зв'язку з проблемою білково-нуклеїнового впізнавання досліджено у зневодненому ДМСО за допомогою комплексу спектроскопічних методів [49, 50].

Аналіз літератури, присвяченої дослідженням Хап, Нур та їхніх похідних різними методами в різних агрегатних станах, засвідчує їхню спорядичність. Звідси випливає необхідність систематичного вивчення зазначених біологічно важливих сполук у рамках єдиного методу за ідентичних експериментальних умов для коректного відстеження зміни електронної будови при заміщенні та комплексоутворенні за допомогою УФ спектроскопії поглинання, яка є одним із найчутливіших інструментів дослідження електронної структури молекул.

Матеріали і методи. В роботі використано основи та їхні похідні: гіпоксантин (Нур), ксантин (Хап), 3-метилксантин ($m^3\text{Хап}$), 9-метилксантин ($m^9\text{Хап}$) фірми «Fluka» (Швейцарія); інозин (I) фірми «Reanal» (Угорщина); дезоксиінозин (dI) фірми «Aldrich» (США); 1-метилінозин ($m^1\text{I}$), 7-метилінозин ($m^7\text{I}$), 7-метилксантозин ($m^7\text{X}$) фірми «Serva» (Німеччина); ксантозин (X) фірми «Sigma» (США); аналог Хап 8-азаксантин (8-azaХап) фірми «Reanal». Дейтерований диметилсульфоксид (ДМСО) фірми «Fluka» висушували над молекулярними ситами 4 та 5 Å фірми «Serva».

Взаємодію зазначених основ та нуклеозидів з нейтральною карбоксильною групою вивчали в сумішах з N-ацетиласпарагіновою кислотою (ac-Asp), метиловим ефіром N-ацетиласпарагінової кислоти (ac-Asp-OMe), N-ацетилгліцином (ac-Gly) фірми «Serva», з N-ацетилглутаміновою кислотою (ac-Glu) фірми «Sigma», а з депротонованою карбоксильною групою (карбоксилат-іоном) — у сумішах з NaAc фірми «Реаким» (Росія) та синтезованими А. Г. Терентьевим натрієвою сіллю N-формілгліцину (f-N-GlyONa) та N-формілглутамінової кислоти (f-Glu(ONa)₂).

Щоб впевнитися у відсутності впливу іонів натрію на спектри досліджуваних основ та нуклео-

зидів, вивчали їхню взаємодію з перхлоратом натрію фірми «Реакхим».

Спектри УФ поглинання основ та їхніх комплексів реєстрували на спектрофотометрі MPS-2000 фірми «Shimadzu» (Японія) у кварцових кюветах з довжиною оптичного шляху 1 мм. Концентрація основ та їхніх похідних становила $5 \cdot 10^{-4}$ М, концентрація лігандів — $5 \cdot 10^{-3}$ М. Диференційні спектри (ДС) отримували за методикою роботи [1].

Геометричні, електронні та енергетичні характеристики комплексів таутомерних форм Нур та Хап з карбоксилат-іоном у вільному стані розраховували напівемпіричним квантовохімічним методом MNDO/H у режимі оптимізації всіх структурних параметрів з нормою градієнта $\leq 0,01$.

Результати і обговорення. У табл. 1 та 4 представлено довжини хвиль максимумів (λ_{\max}) та оптичні густини (D) у безводному ДМСО похідних гіпоксантинового та ксантинового ряду відповідно у присутності та за відсутності лігандів з нейтральною та іонізованою карбоксильною групою амінокислот. Для порівняння наводяться літературні дані [24—26, 51—53] для водних розчинів при різних значеннях рН: довжина хвилі максимуму поглинання λ_{\max} , коефіцієнти поглинання в максимумі ϵ_{\max} або оптична густина D , а також значення pK . Табл. 2 та 5 дають змогу простежити за еволюцією УФ спектрів досліджуваних сполук при взаємодії з низкою лігандів, які містять нейтральну чи депротоновану карбоксильну групу.

Гіпоксантин. В УФ спектрі Нур (рис. 1, а) спостерігається одна інтенсивна смуга поглинання 253 нм, батохромно зміщена на 4 нм порівняно з його нейтральним водним розчином (табл. 1).

При порівнянні УФ спектра Нур із спектрами I, dI та m^I (табл. 1, рис. 1, б—г) впадає в око поява потужного довгохвильового плеча 270 нм у випадку нуклеозидів. При цьому основна смуга гіпсохромно зміщена на 1 нм. Оскільки нуклеозиди є структурно зафіксованими таутомерами N9H, то таку чітко виражену різницю між спектрами незаміщеної основи та нуклеозидів можна інтерпретувати як суттєве зміщення таутомерної рівноваги N7H \leftrightarrow N9H ліворуч, що збігається з даними для водних розчинів [27] та теоретичною оцінкою для газової фази роботи [36], де надається перевага таутомерові N7H. Однак теоретична оцінка впливу гідратації тієї ж роботи [36] вказує на подібну стабільність таутомерів N7H та N9H або ж перевагу останнього у водному розчині в залежності від використаного методу.

Попередню оцінку за допомогою ЯМР [29, 30] зроблено на користь таутомера N9H у ДМСО, виходячи з подібності ЯМР спектрів Нур і dI.

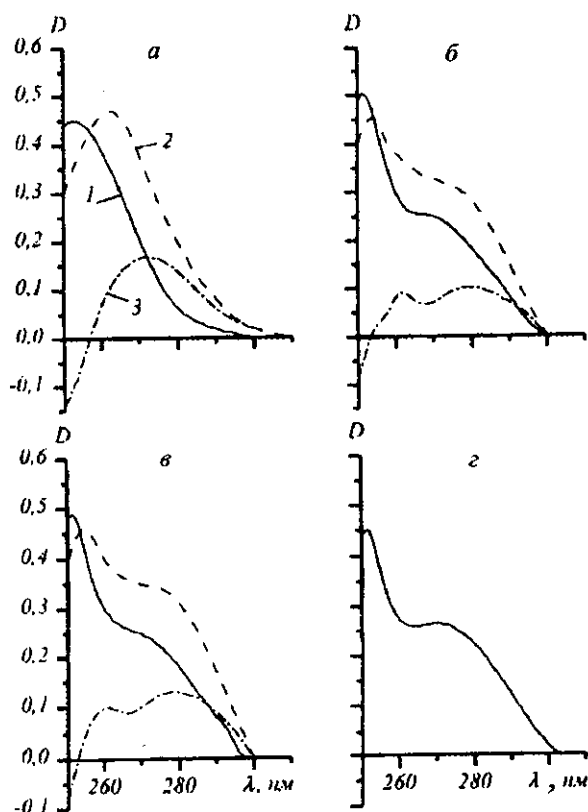


Рис. 1. УФ спектри поглинання в ДМСО: а — 0,5 мМ Нур (1), його суміші з 5 мМ NaAc (2), ДС суміші (3); б — 0,5 мМ I (1), його суміші з 5 мМ NaAc (2), ДС суміші (3); в — 0,5 мМ dI (1), його суміші з 5 мМ NaAc (2), ДС суміші (3); г — 0,5 мМ m^I

Причина протиріччя між даними УФ та ЯМР може також критися в низькій чутливості хімізсувів протонів Нур до зазначеного таутомерного переходу або в концентраційному ефекті (концентрації Нур в УФ та ЯМР дослідженнях відрізнялися щонайменше у 5 разів).

Характер зміни УФ спектра Нур при додаванні NaAc такий самий, як при переході від нейтральних до лужних рН (табл. 1): батохромний зсув смуг поглинання на 10 нм, величина якого засвідчує значний вплив утворення комплексу з карбоксилат-іоном на електронну систему основи та на ймовірну участь імінопротонів, що збігається з відсутністю їхніх сигналів у спектрі ЯМР комплексу Нур з NaAc у роботі [50].

Оскільки, виходячи з даних УФ спектроскопії та ЯМР [50], достатньо ймовірну схему взаємодії

Таблиця 1

Характеристика УФ спектрів і значення рК гіпоксантину, інозину та їхніх метилохідних

Сполука	рК _b	рК _a	У Н ₂ O [24--26]		
			рН	λ _{max} , нм	ε _{max} · 10 ⁻³ /D*
Нур	—	8,8	0	248	10,8
	2,0	8,9	—	—	—
	—	8,6	6	249,5	10,7
	—	12,5	11	259	11,1
	—	12,1	14	263	11,5
m ¹ Нур	2	8,9	1	249	9,4
	—	8,8	5	251	9,4
	—	9,1	11	260	9,7
m ⁷ Нур	2,1	8,9	0	250	10,2
	—	9,4	5	256	9,5
	—	—	11	262	10,6
	—	—	0	251	10,9
	1,2	8,8	3	248	12,2
I	—	8,9	6	248,5	12,3
	—	—	—	—	—
	—	—	11	253	13,1
	—	—	—	—	—
	—	—	1	249	11,3
dI	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—
	—	—	2	249	13,2
	—	—	—	—	—
m ¹ I	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—
	—	—	2	250	10,4
	—	—	—	—	—
	—	—	6	249	10,7
m ⁷ I	—	—	—	—	—
	—	—	12	249	10,7
	—	—	—	—	—
m ⁷ I	—	6,4	1	252	0,74
	—	—	7	264	0,67
	—	—	—	—	—

*Оптична густина; **плече.

Нур з карбоксилат-іоном запропонувати не вдалося, за допомогою напівемпіричного квантовохімічного методу MNDO/H розраховано енергетичні характеристики комплексів з карбоксилат-іоном низки таутомерів Нур (рис. 2, табл. 3).

Виявилося, що енергетично найбільш вигідним є комплекс I (рис. 1, табл. 3), в якому Нур фіксується у формі N7H-енолу. В другому за енергетичною шкалою комплексі II, котрий на 5,76 ккал/моль перевищує енергію першого, Нур є

У Н ₂ O [51—53]			Сполука та її суміш	У зневодненому ДМСО (наші дані)	
pH	λ_{\max} , нм	$\epsilon_{\max} \cdot 10^{-3}/D$		λ_{\max} , нм	D
—	—	—	Нур + ac-Asp	253	0,452
—	—	—	—	—	—
7	249	—	Нур	253	0,452
10	258	—	—	—	—
—	—	—	Нур + NaAc	263	0,468
—	—	—	—	—	—
7	250,5	—	—	—	—
9	260	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
7	255,5	—	—	—	—
11	262	—	—	—	—
1	249	0,67	I + ac-Asp	252	0,504
—	—	—	—	270**	0,262
7	249	0,69	I	252	0,504
—	—	—	—	270**	0,262
13	253	0,75	I + NaAc	254	0,454
—	268	0,63	—	275**	0,323
—	—	—	dI + ac-Asp	252	0,487
—	—	—	—	270**	0,255
—	—	—	dI	252	0,487
—	—	—	—	270**	0,255
—	—	—	dI + NaAc	254	0,455
—	—	—	—	275**	0,323
—	—	—	m ¹ I + ac-Asp	252	0,445
—	—	—	—	270**	0,264
—	—	—	m ¹ I	252	0,115
—	—	—	—	270**	0,264
—	—	—	m ¹ I + NaAc	252	0,445
—	—	—	—	270**	0,264
—	—	—	m ⁷ I + ac-Asp	259	0,430
—	—	—	m ⁷ I	287	0,384
—	—	—	m ⁷ I + NaAc	287	0,395

N1H-енолом. Інші комплекси ще менш енергетично вигідні. Отже, згідно з теоретичною оцінкою, карбоксилат-іон здатний перевести Нур з кето-форми в рідкісну енольну.

Взаємодії Нур з ac-Asp не зафіксовано за допомогою УФ спектроскопії (табл. 1, 2).

Інозин та дезоксіінозин. УФ спектри I та dI є дуже подібними (табл. 1, рис. 1, б, в). Як зазначено

Таблиця 2

Зміни смуг УФ поглинання гіпоксантину, інозину та їхніх метилпохідних у зневодненому ДМСО в присутності нейтральної і депротонованої карбоксильної групи амінокислот

Сполука	+ ac-Asp			+ ac-Glu		+ ac-Gly	
	λ_{\max} (D)*	λ_{\max} (D)	λ_{\max} (ΔD)	λ_{\max} (D)	λ_{\max} (ΔD)	λ_{\max} (D)	λ_{\max} (ΔD)
Нур	253 (0,452)	253 (0,452)	—	253 (0,452)	—	253 (0,452)	—
	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—
I	252 (0,504)	252 (0,504)	—	252 (0,504)	—	252 (0,504)	—
	270** (0,262)	270** (0,262)	—	270** (0,262)	—	270** (0,262)	—
	—	—	—	—	—	—	—
dI	252 (0,478)	252 (0,478)	—	252 (0,478)	—	252 (0,478)	—
	270** (0,255)	270** (0,255)	—	270** (0,255)	—	270** (0,255)	—
	—	—	—	—	—	—	—
m ¹ I	252 (0,445)	252 (0,445)	—	252 (0,445)	—	252 (0,445)	—
	270** (0,264)	270** (0,264)	—	270** (0,264)	—	270** (0,264)	—
m ⁷ I	—	250 (0,430)	252 (+0,271)	266 (0,308)	258 (+0,094)	—	258 (+0,035)
	287 (0,384)	—	292 (-0,306)	284 (0,264)	292 (-0,138)	286 (0,352)	293 (-0,040)

Сполука	+ f-GlyONa		+ f-Glu(ONa) ₂		+ NaAc	
	λ_{\max} (D)	λ_{\max} (ΔD)	λ_{\max} (D)	λ_{\max} (ΔD)	λ_{\max} (D)	λ_{\max} (ΔD)
Нур	255 (0,418)	—	254 (0,423)	—	263 (0,468)	267 (0,162)
	—	—	—	—	—	282 (0,094)
	—	—	—	—	—	292 (0,050)
I	252 (0,478)	—	253 (0,456)	—	254 (0,454)	263 (0,084)
	—	—	—	—	272 (0,323)	282 (0,097)
	—	—	—	—	—	292 (0,062)
dI	253 (0,494)	259 (0,019)	253 (0,476)	—	254 (0,455)	262 (0,112)
	270** (0,270)	280 (0,017)	270** (0,263)	—	275** (0,343)	283 (0,134)
	—	—	—	—	—	293 (0,084)
m ¹ I	—	—	252 (0,445)	—	252 (0,445)	—
	270** (0,264)	—	270** (0,264)	—	270** (0,264)	—
m ⁷ I	—	271 (0,008)	—	266 (0,017)	—	275 (0,008)
	286 (0,384)	300 (0,011)	286 (0,390)	300 (-0,006)	287 (0,395)	303 (-0,009)

*Оптична густина; **плече.

вище, вони представлені інтенсивною короткохвильовою смугою 252 нм та широким довгохвильовим плечем 270 нм.

Комплекси нуклеозидів з NaAc характеризуються невеликим гіпохромізмом та батохромним зсувом на 2 нм смуги 252 нм, а також значним гіперхромізмом плеча 270 нм та його батохромним

зсувом на 5 нм. Загалом, характер змін в УФ спектрах I та dI при взаємодії з NaAc нагадує зміни у водному розчині I при переході від нейтральних до лужних рН, що вказує на утворення комплексу з карбоксилат-іоном.

Цікаво відзначити важливий з фізіологічної точки зору приклад взаємодії I та карбоксилат-іона

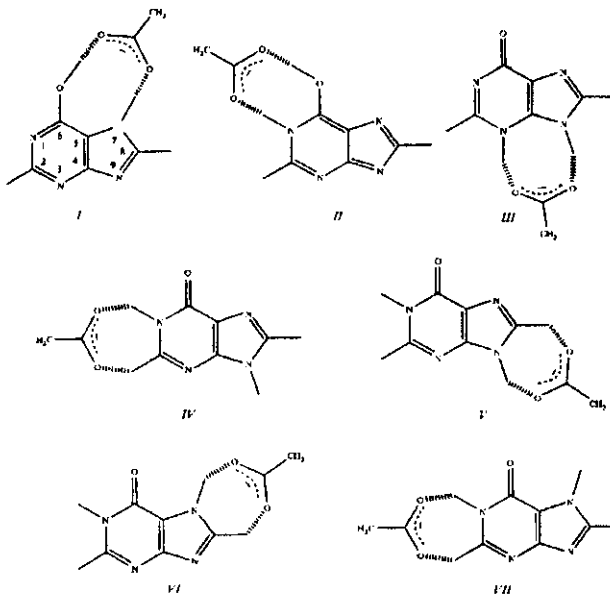


Рис 2. Схеми комплексів, утворюваних прототропними таутомерами Нур з карбоксилат-іоном, за даними MNDO/H (комплекси пронумеровано в порядку їхньої енергетичної вигідності)

Glu, а саме — взаємопідсилення їхньої дії на рецептори солоного та гіркого смаку язика [54]. Кожна зокрема із вказаних сполук має слабкий смак м'яса, а їхній суміші притаманний дуже сильний м'ясний смак. Цілком імовірно, що для такого підсилення смакових якостей вирішальним є утворення комплексу між двома компонентами цієї смакової композиції.

У присутності лігандів з нейтральною карбоксильною групою в УФ спектрах I та dI не спостерігалось будь-яких змін (табл. 2), що узгоджується з даними [10] щодо конформаційних та динамічних властивостей I у складі антивірусного препарату інозиплексу (суміш I з параацетамідобензойною та диметиламіноізопропанолом) у ДМСО. В цій роботі також не зафіксовано взаємодії I з недисоційованою карбоксильною групою параацетамідобензойної кислоти.

1-метилінозин. Як видно з даних рис. 1, з, метилювання іміногрупи N1H інозину мало впливає на його спектр. Єдиним наслідком є більш виражена форма плеча 270 нм та незначний гіпохромізм смуги 252 нм у спектрі м⁷I. УФ спектр м⁷I не зазнає жодних змін у присутності лігандів з обома формами карбоксильної групи, що вказує на

важливу роль його іміногрупи в комплексоутворенні.

7-метилінозин. УФ спектр м⁷I радикально відрізняється від УФ спектра Нур та нуклеозидів I і dI (табл. 1, рис. 3). Його єдина інтенсивна смуга 287 нм батохромно зміщена на 34 нм у порівнянні з Нур та на 35 нм відносно основної смуги 252 нм в УФ спектрах нуклеозидів. Це свідчить про кардинальну перебудову пуринового кільця при метилюванні його положення N7, що значно збільшує полярність молекули. Очевидно, позитивний заряд зосереджений переважно на атомі N7 імідазольного кільця.

Слід зауважити до того ж, що смуга поглинання м⁷I 264 нм у нейтральному водному розчині (табл. 1) зміщена лише на 23 нм у бік коротких хвиль, що свідчить про суттєво різну взаємодію м⁷I з водою та ДМСО як розчинниками.

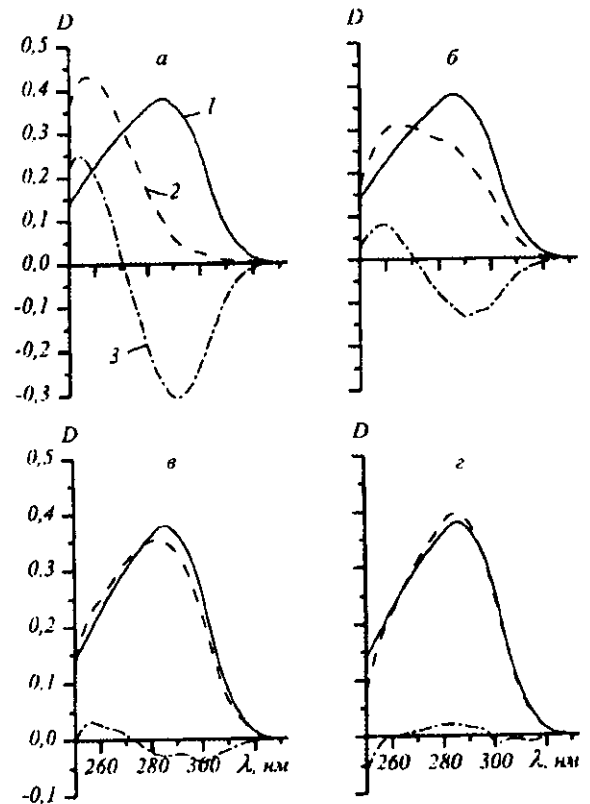


Рис 3. УФ спектри поглинання в ДМСО: а — 0,5 мМ м⁷I (1), його суміші з 5 мМ ac-Asp (2), ДС суміші (3); б — 0,5 мМ м⁷I (1), його суміші з 5 мМ ac-Glu (2), ДС суміші (3); в — 0,5 мМ м⁷I (1), його суміші з 5 мМ ac-Gly (2), ДС суміші (3); г — 0,5 мМ м⁷I, його суміші з 5 мМ NaAc (2), ДС суміші (3)

Таблиця 3

Енергетичні характеристики (ккал/моль) комплексів карбоксилат-іона з прототропними таутомерами гіпоксантину, розраховані за допомогою методу MNDO/H у вакуумі (див. рис. 2)

Комплекс	Теплота утворення комплексу	Відносна енергія комплексу	Енергія міжмолекулярної взаємодії
I	-151,84	0	57,53
II	-146,08	5,76	51,77
III	-144,32	7,52	58,53
IV	-137,75	14,09	37,78
V	-135,87	15,97	35,90
VI	-134,43	17,41	36,97
VII	-134,10	17,74	36,60

У присутності ас-Asp смуга поглинання 287 нм гіпсохромно зсувається на 28 нм (рис. 3, а). Оскільки в роботі [26] показано, що в присутності нейтральної карбоксильної групи в ДМСО m^7I існує в катіонній формі, то можна припустити, що вільний m^7I перебуває в цвітеріонній формі, котра за рахунок перенесення протона від карбоксильної групи ас-Asp на атом N1 (рис. 4, схема I) переходить у катіонну.

Зауважимо, що, як і у випадках m^1A , m^3A [1] та m^7G [2], інтенсивність ДС m^7I в присутності лігандів з нейтральною карбоксильною групою знижується в ряду ас-Asp > ас-Glu > ас-Gly (табл. 3).

Про слабку взаємодію m^7I з карбоксилат-іоном свідчить ДС дуже низької інтенсивності (табл. 1, 3; рис. 3, г) в його суміші з NaAc. За даними ЯМР [50], карбоксилат-іон утворює слабкий водневий зв'язок з m^7I із залученням протона C8H.

Ксантин. В УФ спектрі Хап (рис. 5, а) спостерігається одна інтенсивна смуга поглинання з максимумом 271 нм. При близькому до нейтрального значенні рН 7,25 у водному розчині їй відповідає смуга 269 нм (табл. 4). На основі даних УФ спектроскопії [27] зроблено висновок стосовно того, що у водних розчинах Хап переважно знаходиться у формі таутомера N7H. У роботах [29, 30] зіставлення хімсусів у спектрах ЯМР та розрахованих напівемпіричним квантовохімічним методом енергій депротонування відповідних протонів свідчить про те, що і в ДМСО Хап існує як таутомер N7H. У присутності NaAc максимум смуги поглинання батохромно зсувається на 5 нм, тобто в тому ж напрямі, що й у водних розчинах при переході від нейтральних рН до лужних (табл. 4). Спостерігається також гіперхромізм УФ поглинання. Все це вказує на утворення комплексу Хап

з карбоксилат-іоном. У роботі [50] показано, що при взаємодії Хап з карбоксилат-іоном у спектрі ЯМР в ДМСО зникають сигнали всіх імінопротонів, що вказує на їхню дотичність до утворення комплексу, проте не є достатнім для висновку щодо його будови. Для цього були розраховані за допомогою напівемпіричного методу MNDO/H енергетичні характеристики комплексів з карбоксилат-іоном низки прототропних таутомерів Хап (табл. 6). В результаті показано, що в газовій фазі енергетично найбільш вигідним є комплекс I, утворюваний таутомером дикето-N9H (рис. 6, схема I). Це означає, що депротонувана карбоксильна група амінокислот при взаємодії з Хап провокує таутомерний перехід N7H → N9H.

Комплекс II (рис. 6, схема II), утворюваний рідкісним таутомером 2-кето-6-енол-N3H, N7H програє першому в енергетичному плані менш ніж 2,5 ккал/моль. А в розчині у ДМСО перевага першого комплексу може зменшитися і встановитися рівновага між цими двома комплексами, що, ймовірно, є причиною відсутності в спектрі ЯМР сигналів усіх трьох імінопротонів [50]. Показано, що в кристалі натрієвої солі Хап [4] з депротонуваною групою N3H знаходиться у вигляді таутомера N9H. Цілком можливо, що перенесення протона з іміногрупи N3H також робить внесок у формування комплексу I (рис. 6, схема I), що узгоджується із зсувом протона C8H на 0,379 м. ч. у бік сильного поля в спектрі ЯМР еквімолярної суміші Хап з NaAc [50].

Надто слабкий ДС Хап у суміші з ас-Asp (рис. 5, а) свідчить про те, що у зневодненому ДМСО з нейтральною карбоксильною групою амінокислот він практично не взаємодіє.

3-метилксантин. УФ спектр m^3 Хап (рис. 5, б,

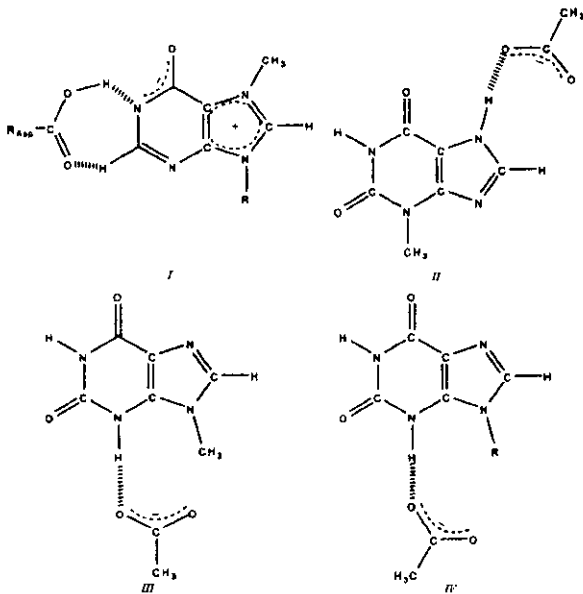


Рис. 4. Схеми взаємодії: I — m^7I з ac-Asp; II — m^3Xap з NaAc; III — m^9Xap з NaAc; IV — X з NaAc

г) за формою та інтенсивністю дуже подібний до спектра Xap, від якого відрізняється батохромним зсувом максимуму смуги поглинання 274 нм на 3 нм (табл. 4, 6). У роботах [29, 30] способом, зазначеним вище для Xap, показано, що в ДМСО m^3Xap також існує переважно як таутомер N7H. При близькому до нейтрального значенні рН 8 у водному розчині максимум поглинання зміщений на 1 нм у бік коротких хвиль.

Присутність NaAc у розчині призводить до батохромного зсуву смуги поглинання m^3Xap на 4 нм та відчутного гіперхромізму. Характер зміни УФ спектра m^3Xap при взаємодії з карбоксилат-іоном такий же, як і при переході до лужних значень рН.

Для встановлення схеми взаємодії m^3Xap з карбоксилат-іоном було використано також дані ЯМР з роботи [50]. Порівняння зміщень сигналів протонів N1H та C8H у комплексах m^3Xap і m^9Xap з NaAc в ДМСО (-0,790 та -0,563 м. ч., -1,690 та -0,280 м. ч. відповідно) разом із зникненням сигналу N7H у комплексі m^3Xap з NaAc вказують на те, що в утворенні комплексу бере участь саме іміногрупа N7H (рис. 7, схема I), а не N9H, як у

випадку Xap. Останнє означає, що таутомерний стан m^3Xap не змінюється при комплексоутворенні. Величини високопольних зсувів протонів N1H та C8H [50] вказують на значний внесок у стабілізацію комплексу перенесення протона іміногрупи N7H до карбоксилат-іона.

Малоінтенсивний ДС суміші m^3Xap з ac-Asp (рис. 5, г) свідчить про його слабку взаємодію з нейтральною карбоксильною групою амінокислот у зневодненому ДМСО.

9-метилксантин. Для УФ спектра m^9Xap є характерним гіпсохромний зсув на 8 нм максимуму поглинання смуги 263 нм відносно незаміщеної основи та поява низькоінтенсивного довгохвильового поглинання ≈ 295 нм на хвості основної смуги. Оскільки m^9Xap є структурно зафіксованим таутомером N9H, то значна різниця в положенні макси-

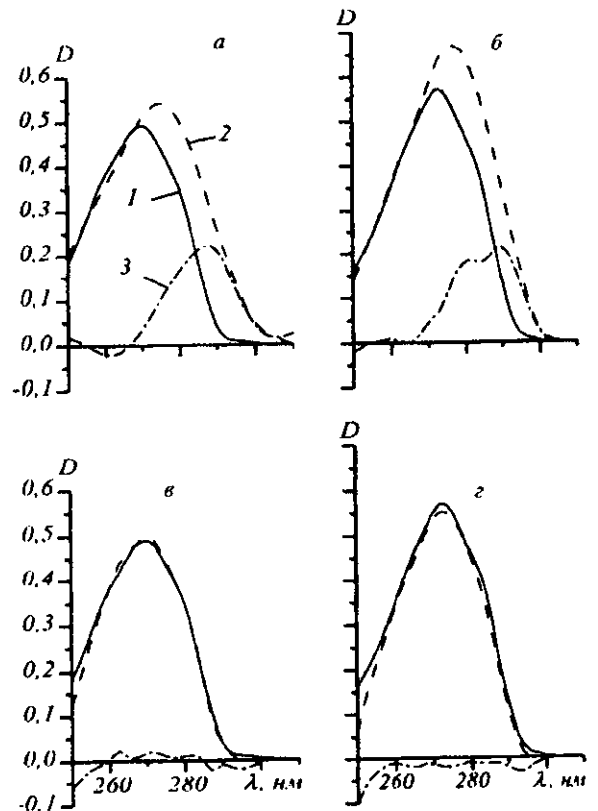


Рис. 5. УФ спектри поглинання: а — 0,5 мМ Xap (1), його суміші з 5 мМ NaAc (2), ДС суміші (3); б — 0,5 мМ m^3Xap (1), його суміші з 5 мМ NaAc (2), ДС суміші (3); в — 0,5 мМ Xap (1), його суміші з 5 мМ ac-Asp (2), ДС суміші (3); г — 0,5 мМ m^3Xap (1), його суміші з 5 мМ ac-Asp (2), ДС суміші (3)

Таблиця 4
Характеристики УФ спектрів і значення рК ксантину, ксантозину та їхніх метилпохідних

Сполука	рК _b	рК _a	У Н ₂ O [24, 25]		
			рН	λ _{max} , нм	ε _{max}
Хан	—	—	0	260	9
	0,8	7,5	6	267	10
	—	7,44	—	—	—
	—	—	—	—	—
	—	11,1	10	240	8
	—	—	—	277	9
	—	—	—	—	—
m ¹ Хан	—	—	1	235	0,
	1,3	7,7	—	265	0,
	—	—	—	—	—
	—	12,05	—	—	—
	—	—	13	245	0,
m ³ Хан	—	—	—	283	0,
	—	8,1	5	272	10
	0,8	8,32	8	273	11
	—	8,5	10	275	12
	—	—	12	276	12
	—	11,3	13	276	12
	—	11,9	14	276	12
m ⁷ Хан	—	8,4	2	268	9
	0,8	8,5	6	269	10
	—	8,3	—	—	—
m ⁹ Хан	—	13	14	284	9
	2,0	6,3	1	260	—
	—	—	—	—	—
	—	—	14	245	—
	—	—	—	278	—
X	—	—	3	235	8
	2,5	5,7	—	263	8,
	—	6,0	—	—	—
	—	5,5	8	248	10
	—	—	—	278	8
	—	—	—	—	—
	—	—	14	252	8
m ⁷ X m ^{2,9} Хан	—	—	—	276	9
	—	—	1	262	—
	—	—	—	—	—

ВПЛИВ МЕТИЛЮВАННЯ НА УФ СПЕКТРИ ПУРИНОВИХ ОСНОВ

У Н ₂ O [51—53]			У зневодненому ДМСО (наші дані)		
pH	λ_{max} , нм	$\epsilon_{\text{max}} \cdot 10^{-3}/D$	Сполука та її суміш	λ_{max} , нм	D
5,9	267	9,5	Хан + ас-Асп	271	0,504
7,25	269	9,0	—	—	—
8	242	7,6	Хан	271	0,492
—	272	8,4	—	—	—
10,8	242	8,1	Хан + NaAc	276	0,536
—	278	8,6	—	—	—
13	242	5,5	—	—	—
—	283	9,0	—	—	—
—	—	—	—	—	—
4,2	265	0,50	—	—	—
7,5	250	0,34	—	—	—
—	270	0,42	—	—	—
10,8	245	0,39	—	—	—
—	278	0,41	—	—	—
—	—	—	m ³ Хан + ас-Асп	274	0,551
—	—	—	—	—	—
—	—	—	m ³ Хан	274	0,560
—	—	—	—	—	—
—	—	—	m ³ Хан + NaAc	278	0,663
—	—	—	—	—	—
6	268	9,9	—	—	—
8	271	8,3	—	—	—
8,8	280	7,2	—	—	—
14	289	8,9	—	—	—
—	—	—	m ⁹ Хан + ас-Асп	263	0,473
—	—	—	m ⁹ Хан	263	0,482
—	—	—	—	295**	0,040
—	—	—	m ⁹ Хан + NaAc	260	0,550
—	—	—	—	286**	0,458
3,8	263	8,9	X + ас-Асп	262	0,503
5,5	258	8,3	—	—	—
—	270	7,7	X	262	0,482
6,6	250	9,5	—	295**	0,025
—	278	8,4	X + NaAc	259	0,601
10,8	248	10,2	—	283	0,434
—	278	8,8	—	—	—

Закінчення табл. 4

Сполука	pK_b	pK_a	у H ₂ O [24, 25]		
			pH	λ_{max} , нм	$\epsilon_{max} \cdot 10^{-3}/D$
m^7X	—	—	—	—	—
$m^{2,9}Xap$	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—

*Оптична густина; **плече.

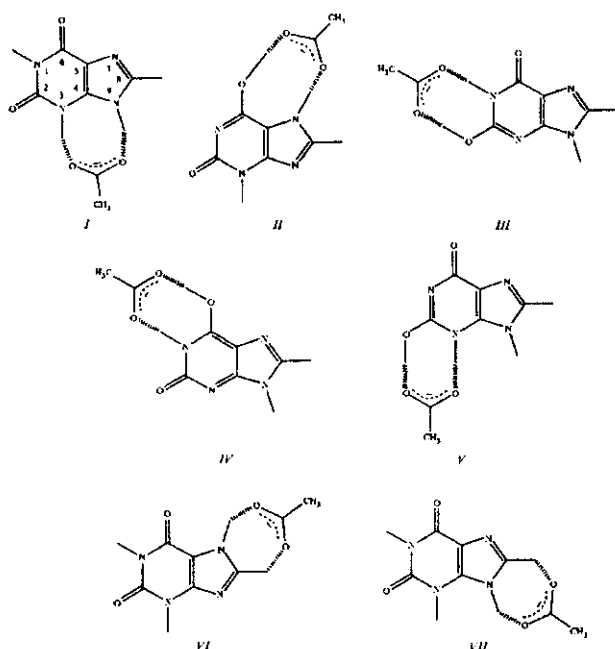


Рис. 6. Схеми комплексів, утворюваних прототропними таутомерами Хап з карбоксилат-іоном, за даними MNDO/H (комплекси пронумеровано в порядку їхньої енергетичної вигідності)

мумів поглинання m^9Xap та Хап підтверджує встановлений раніше [29, 30] факт його існування в зневодненому ДМСО у формі N7H таутомера.

Природу довгохвильового поглинання з макси-

мумом 295 нм можна зрозуміти, виходячи з його відсутності в УФ спектрах m^9Xap у суміші з усіма лігандами, що містять нейтральну карбоксильну групу (табл. 5, рис. 7, в). Цей факт легко пояснити, якщо припустити, що в ДМСО невелика частка m^9Xap є депротонованою і протонується за рахунок протона нейтральної карбоксильної групи. Враховуючи вищенаведені дані ЯМР для m^9Xap [50], можна зробити висновок стосовно того, що в m^9Xap депротонується іміногрупа N3H.

До речі, в спектрі m^9Xap у водних розчинах при кислих значеннях pH (табл. 4) також спостерігається лише одна смуга 260 нм.

В УФ спектрі суміші m^9Xap з NaAc (рис. 7, а) спостерігається гіпсохромно зміщена на 3 нм відносно вільної основи смуга 260 нм та нова інтенсивна смуга 286 нм.

Для водного розчину m^9Xap при лужних pH (табл. 4) також характерним є присутність в УФ спектрі двох смуг поглинання — 245 та 278 нм. Отже, можна зробити висновок про те, що при взаємодії m^9Xap з NaAc відбувається перенесення протона N3H на карбоксилат-іон (рис. 4, схема III), а висока інтенсивність смуги 286 нм свідчить про його суттєвий внесок у формування комплексу.

Ксантозин. УФ спектр X і його трансформація при взаємодії з нейтральною та депротонованою карбоксильною групою подібні до УФ спектра і його змін при комплексоутворенні у випадку m^9Xap (рис. 7, б, г; табл. 4, 5). Його інтенсивній смузі 262 нм та смузі низької інтенсивності 295 нм у водних розчинах при нейтральних та лужних pH відповідають дві смуги 250 і 278 нм (табл. 4).

При додаванні лігандів, які містять нейтральну карбоксильну групу (табл. 5, рис. 7, г) смуга, 295 нм зникає. Отже, як і в разі m^9Xap , в ДМСО

У Н ₂ O [51—53]			У зневодненому ДМСО (наші дані)		
pH	λ_{max} , нм	$\epsilon_{\text{max}} \cdot 10^{-3}/D$	Сполука та її суміш	λ_{max} , нм	D
—	—	—	—	301	0,291
—	—	—	m ⁷ X + NaAc	263	0,387
—	—	—	—	299	0,291
—	—	—	8-azaXap + ac-Asp	269	0,284
—	—	—	8-azaXap	269	0,291
—	—	—	8-azaXap + NaAc	267	0,366

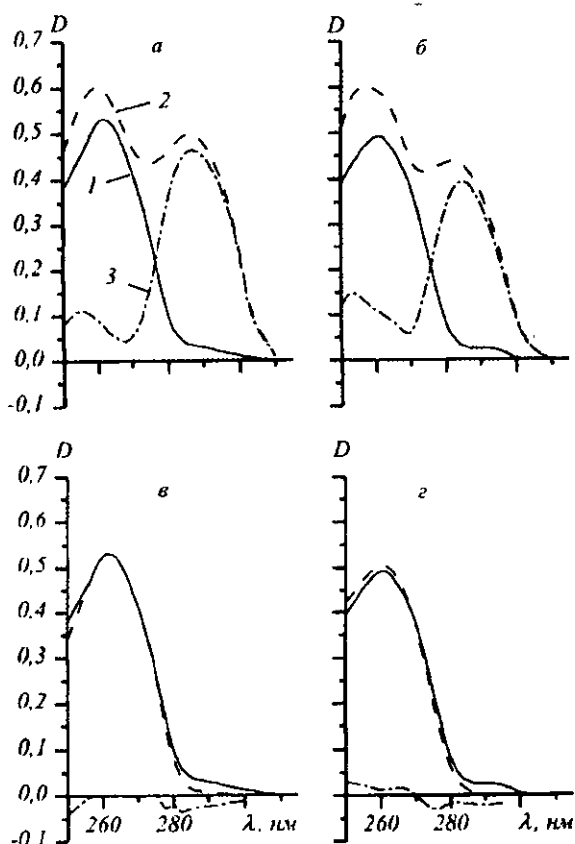


Рис. 7. УФ спектри поглинання: а — 0,5 мМ m⁷Xap (1), його суміші з 5 мМ NaAc (2), ДС суміші (3); б — 0,5 мМ X (1), його суміші з 5 мМ NaAc (2), ДС суміші (3); в — 0,5 мМ m⁷Xap (1), його суміші з 5 мМ ac-Asp (2), ДС суміші (3); г — 0,5 мМ X, його суміші з 5 мМ ac-Asp (2), ДС суміші (3)

невелика частина молекул X є депротонованою і протонується за рахунок протона нейтральної карбоксильної групи. Цією ж причиною зумовлено відсутність довгохвильового компонента спектра і у водних розчинах X при кислих рН (табл. 5).

У присутності NaAc, як і у випадку m⁹Xap, у спектрі УФ поглинання X спостерігається гіпсохромний зсув смуги 262 нм на 3 нм та інтенсивна нова смуга 283 нм, що свідчить про депротонування значної частини молекул X при взаємодії з карбоксилат-іоном. Спираючись на дані ЯМР роботи [50], можна стверджувати, що за взаємодію та перенесення протона відповідає іміногрупа N3H (рис. 4, схема IV).

Цікавим з точки зору фізіології прикладом взаємодії метилпохідних ксантину з карбоксильною групою амінокислот є вплив на смакові рецептори язика, до складу яких входять білки з високим вмістом дисоційованих карбоксильних груп Asp і Glu, молекул кофеїну та теоброміну, що надають гіркуватого присмаку каві та шоколадові [54]. Вважають, що похідні Xap відновлюють карбоксильні групи Asp та Glu, індукуючи зміну конформації білкових молекул.

У здатності похідних Xap бути інгібіторами фосфодіестерази, яка дезактивує АТФ, вбачають молекулярний механізм їхньої стимулюючої дії на організм людини [54].

7-метилксантозин. В УФ спектрі m⁷X спостерігається інтенсивна смуга 263 нм та менш інтенсивна — 301 нм (рис. 8, а, б). Метилування атома N7 молекули X призводить до значного зменшення його здатності взаємодіяти з карбоксилат-іоном, про що свідчить дуже низька інтенсивність його ДС у присутності NaAc (табл. 4, 5;

Таблиця 5

Зміни смуг УФ поглинання ксантину, ксантозину та їхніх метилохідних у зневодненому ДМСО в присутності нейтральної та депротонованої карбоксильної групи амінокислот

Сполука	λ_{\max} (D)*	+ ac-Asp		+ ac-Glu		+ ac-Gly	
		λ_{\max} (D)	λ_{\max} (ΔD)	λ_{\max} (D)	λ_{\max} (ΔD)	λ_{\max} (D)	λ_{\max} (ΔD)
Хан	271 (0,492)	271 (0,504)	271 (-0,013)	271 (0,490)	—	271 (0,507)	268 (0,015)
	—	—	—	—	—	—	—
m ¹ Хан	—	—	—	—	288 (-0,015)	—	268 (0,015)
	274 (0,560)	274 (0,551)	—	274 (0,552)	—	274 (0,567)	—
	—	—	281 (-0,019)	—	282 (-0,018)	—	283 (-0,007)
m ⁷ Хан	—	—	291 (-0,022)	—	290 (-0,021)	—	292 (-0,017)
	263 (0,482)	263 (0,473)	—	263 (0,473)	—	263 (0,473)	—
	295** (0,025)	—	288 (-0,044)	—	288 (-0,043)	—	288 (-0,041)
Х	262 (0,489)	262 (0,503)	—	262 (0,498)	—	262 (0,486)	—
	295** (0,025)	—	287 (-0,020)	—	286 (-0,016)	290 (0,012)	285 (-0,012)
m ⁷ Х	263 (0,419)	263 (0,405)	272 (-0,003)	263 (0,422)	264 (0,007)	263 (0,415)	265 (0,002)
	301 (0,291)	302 (0,259)	292 (-0,038)	302 (0,289)	284 (-0,018)	302 (0,285)	284 (-0,020)
	—	—	310 (-0,029)	—	—	—	—
8-azaХан	269 (0,291)	269 (0,284)	257 (-0,008)	269 (0,287)	—	269 (0,291)	—
	—	—	287 (0,011)	—	—	—	—

Сполука	+ f-GlyONa		+ f-Glu(ONa) ₂		+ NaAc	
	λ_{\max} (D)	λ_{\max} (ΔD)	λ_{\max} (D)	λ_{\max} (ΔD)	λ_{\max} (D)	λ_{\max} (ΔD)
Хан	271 (0,494)	265 (-0,005)	271 (0,492)	—	276 (0,536)	263 (-0,021)
	—	278** (0,013)	—	—	—	278** (0,148)
m ¹ Хан	—	288 (0,043)	—	—	—	288 (0,227)
	275 (0,598)	—	274 (0,560)	—	278 (0,663)	262 (-0,018)
	—	280 (0,062)	—	—	—	282 (0,179)
m ⁷ Хан	—	289 (0,067)	—	—	—	290 (0,205)
	261 (0,536)	254 (0,085)	263 (0,502)	257 (0,023)	260 (0,550)	256 (0,097)
	286 (0,351)	287 (0,297)	286 (0,300)	286 (0,053)	286 (0,458)	287 (0,404)
Х	258 (0,613)	254 (0,162)	261 (0,529)	254 (0,059)	259 (0,601)	254 (0,145)
	284 (0,468)	285 (0,425)	285 (0,180)	285 (0,150)	284 (0,434)	285 (0,391)
m ⁷ Х	263 (0,395)	265 (-0,020)	263 (0,419)	—	263 (0,387)	266 (-0,029)
	300 (0,286)	283 (0,004)	301 (0,291)	—	299 (0,291)	283 (0,009)
	—	315 (-0,005)	—	—	—	315 (-0,004)
8-azaХан	268 (0,312)	262 (0,082)	266 (0,370)	262 (0,086)	267 (0,366)	263 (0,081)
	—	288 (-0,036)	—	288 (-0,032)	—	288 (-0,036)

*Оптична густина; **плече.

рис. 8, а). Проте з'являється здатність взаємодіяти з нейтральною карбоксильною групою амінокислот (табл. 4, 5; рис. 8, б), однак набагато слабша, ніж у випадку m⁷G [2] та m⁷I.

Дані ЯМР роботи [50] засвідчують участь протона С8Н у слабкому водневому зв'язку з карбоксилат-іоном та імінопротона N1Н — у взаємодії з нейтральною карбоксильною групою. Мож-

Таблиця 6

Енергетичні характеристики (ккал/моль) комплексів карбоксилат-іона з прототропними таутомерами ксантину, розраховані за допомогою методу MNDO/H у вакуумі (див. рис. 6)

Комплекс	Теплота утворення комплексу	Відносна енергія комплексу	Енергія міжмолекулярної взаємодії
I	-205,42	0	57,05
II	-202,78	2,64	50,21
III	-199,84	5,58	51,60
IV	-195,44	9,98	54,21
V	-193,87	11,68	40,17
VI	-193,74	11,55	53,84
VII	-192,32	13,10	43,95

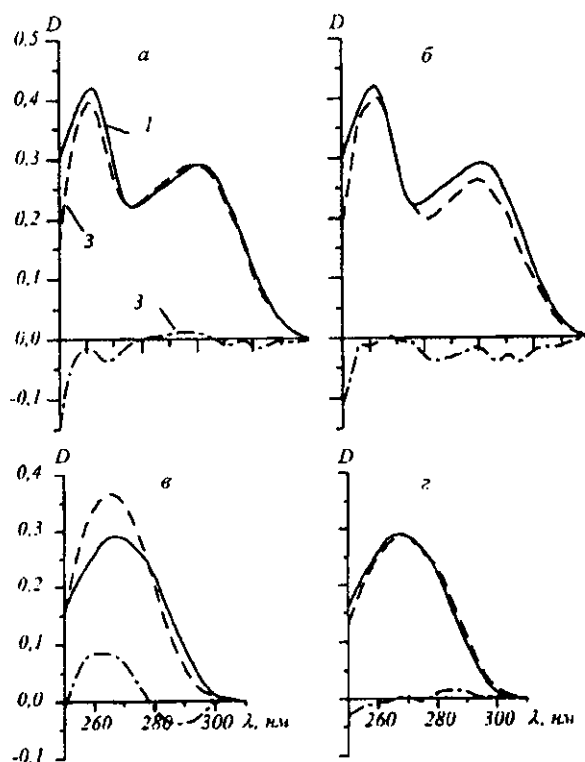


Рис. 8. УФ спектри поглинання: а — 0,5 мМ m^7X (1), його суміші з 5 мМ NaAsp (2), ДС суміші (3); б — 0,5 мМ m^7X (1), його суміші з 5 мМ ac-Asp (2), ДС суміші (3); в — 0,5 мМ 8-azaXap (1), його суміші з 5 мМ NaAsp (2), ДС суміші (3); г — 0,5 мМ 8-azaXap, його суміші з 5 мМ ac-Asp (2), ДС суміші (3)

ливо, таке падіння комплексотвірної здатності пов'язане з самоасоціацією або з наявністю внутрішньомолекулярного водневого зв'язку N3...C1'H [55].

8-азаксантизин. У спектрі аналога ксантину 8-azaXap присутня одна смуга поглинання з максимумом 269 нм (табл. 4, 5; рис. 8, в, г). Додавання NaAsp зміщує її на 2 нм у бік коротких хвиль (рис. 8, в), що свідчить про його взаємодію з карбоксилат-іоном. Якщо, виходячи з невеликої різниці в положенні максимумів поглинання Xap та 8-azaXap (2 нм), постулювати існування в ДМСО 8-azaXap у вигляді таутомера N7H, то можна припустити, що схема його взаємодії з карбоксилат-іоном аналогічна схемі взаємодії Xap (рис. 6, схема 1).

Дуже слабкий спектр ДС 8-azaXap у присутності ac-Asp свідчить про практичну відсутність здатності взаємодіяти з нейтральною карбоксильною групою у зневодненому ДМСО, як і у випадку Xap. Отже, 8-azaXap не змінює специфічності щодо взаємодії з нейтральною та депротонованою карбоксильними групами протилежно до 6-азацитозину в порівнянні з цитозином [56, 57].

Висновки. 1. Вивчено УФ спектри низки метилпохідних Нур, Xap і їхніх нуклеозидів у зневодненому ДМСО та інтерпретовано зміни в них порівняно до незаміщених основ, а також простежено та інтерпретовано зміни в УФ спектрах під впливом взаємодії з нейтральною та депротонованою карбоксильною групою амінокислот.

2. За допомогою напівемпіричного квантово-механічного методу MNDO/H розраховано енергетичні характеристики комплексів, утворюваних рідкісними прототропними таутомерами Нур та Xap з карбоксилат-іоном.

3. Показано, що взаємодія з карбоксилат-іоном фіксує Нур у рідкісній енольній формі та, ймовірно, встановлює таутомерну рівновагу $N7H \leftrightarrow N9H$, дещо зміщену ліворуч.

4. Встановлено, що взаємодія з карбоксилат-іоном провокує в Хап таутомерний перехід $N7H \rightarrow N9H$, котрий блокується його метилзаміщенням у положенні N3.

5. Висловлено припущення стосовно значного внеску перенесення протона від іміногруп N3H та N7H до карбоксилат-іона в стабілізацію комплексів Хап та m^3 Хап відповідно.

6. За допомогою УФ спектроскопії продемонстровано часткове депротонування у зневодненому ДМСО m^9 Хап та X за рахунок іміногрупи N3H навіть за відсутності нуклеофільних лігандів.

7. Показано визначальну роль перенесення протона від основи до іонізованої карбоксильної групи у формуванні її комплексів з m^9 Хап та X, а також його суттєву роль при взаємодії з Хап та m^3 Хап.

8. Виявлено відмінність між m^7 Хап та m^7 I (як і m^7 G) у здатності утворювати комплекси з нейтральною карбоксильною групою: в останньому випадку комплекс набагато міцніший та його утворення супроводжується перенесенням протона від карбоксильної групи до основи.

9. Встановлено, що аналог ксантину 8-азаХап не змінює специфічності щодо взаємодії з нейтральною та депротонною карбоксильними групами протилежно до 6-азацитозину в порівнянні з цитозином.

10. Відсутність взаємодії Хап і Нур та більшості їхніх похідних з карбоксильною групою у зневодненому ДМСО, вочевидь, зумовлена сольватацією молекул-партнерів.

Вичерпна інформація щодо розрахунків знаходиться в базі даних відділу молекулярної біофізики ІМБіГ НАН України та може бути надана у відповідь на запит (dhovogun.@imb.org.ua).

Автори щиро вдячні панові Д. М. Говорунові за постійну увагу до роботи та цінні поради при обговоренні матеріалу статті.

A. V. Stepanyugin, I. M. Kolomiets', A. L. Potyahaylo, S. A. Tryhubenko, T. V. Bohdan, S. P. Samijlenko

Influence of methylation and interactions with amino acid carboxylic group on UV spectra of purine bases and nucleosides in dimethylsulfoxide. 3. Hypoxanthine and xanthine

Summary

UV absorption spectra of hypoxanthine, xanthine, their nucleosides and a number of their methyl derivatives were studied in anhydrous DMSO, and the spectral changes under the interaction with neutral and deprotonated (carboxylate-ion) amino acid carboxylic group

were traced. By the semi-empirical quantum-chemical method MNDO/H it was shown, that the interaction with carboxylate-ion fixes Hyp in the rare enolic form and shifts the $N7H \leftrightarrow N9H$ tautomeric equilibrium to the left while in the case of Xan provokes the $N7H \rightarrow N9H$ transition, which is blocked up by its methyl substitution at the position N3. Significant changes in the UV spectra of Xan, m^3 Xan, m^7 Xan and X under the interaction with carboxylate-ion are determined by the essential contribution to a complex formation of the proton transfer from a base to the ligand, m^7 Xan and X proving to be partly deprotonated even on the account of the solvent. It was established that methyl substitution at the position N7 in m^7 I and m^7 X resulted in the practical absence of their interaction with carboxylate-ion and the rise of a new ability of forming complexes with the neutral carboxylic group. The substitution of the C8H group for N in 8-azaXan does not change the interaction specificity of this base with two forms of carboxylic group.

A. V. Stepanyugin, I. M. Kolomiets', A. L. Potyahaylo, S. A. Tryhubenko, T. V. Bohdan, S. A. Samojlenko

Влияние метилирования и взаимодействия с карбоксильной группой аминокислот на УФ спектры пуриновых нуклеотидных оснований и нуклеозидов. 3. Гипоксантин и ксантин

Резюме

Изучены УФ спектры поглощения в обезвоженном ДМСО гипоксантина, ксантина, их нуклеозидов и ряда метилпроизводных, а также прослежены их изменения при взаимодействии с нейтральной и депротонированной (карбоксилат-ион) карбоксильной группой аминокислот. Полуэмпирическим квантово-механическим методом показано, что взаимодействие с карбоксилат-ионом фиксирует Нур в редкой енольной форме и сдвигает таутомерное равновесие $N7H \leftrightarrow N9H$ влево, а в случае Хап провоцирует переход $N7H \rightarrow N9H$, блокируемый его метилзамещением в положении N3. Значительное изменение УФ спектров Хап, m^3 Хап, m^7 Хап и X при взаимодействии с карбоксилат-ионом обусловлено существенным вкладом переноса протона от основания к лиганду в образование комплекса, при этом m^7 Хап и X оказались частично депротонированными уже за счет растворителя. Установлено, что метилзамещение положения N7 в m^7 I и m^7 X приводит к практическому отсутствию взаимодействия с карбоксилат-ионом и возникновению новой способности образовывать комплексы с нейтральной карбоксильной группой. Замещение группы C8H на N в 8-азаХап не изменяет специфичности взаимодействия этого основания с двумя формами карбоксильной группы.

PERELIK LITERATURY

1. Степанюгін А. В., Коломісць І. М., Самійленко С. П. Вплив метилювання та взаємодії з карбоксильною групою амінокислот на УФ спектри пуринових нуклеотидних основ та нуклеозидів в диметилсульфоксиді. 1. Аденін // Біополімери і клітка.—1999.—15, № 5.—С. 422—431.
2. Степанюгін А. В., Коломісць І. М., Потягайло А. Л., Самійленко С. П. Вплив метилювання та взаємодії з карбоксильною групою амінокислот на УФ спектри пуринових нуклеотидних основ та нуклеозидів в диметилсульфоксиді. 2. Гуанін // Біополімери і клітка.—2000.—16, № 5.—С. 384—402.
3. Mizuno H., Fujiwara T., Tomita K. The crystal and molecular structure of the sodium salt of xanthine // Bull. Chem. Soc. Jap.—1969.—42, N 6.—P. 3099—3105.
4. Полтев В. И., Брусков В. И., Шулюпина Н. В., Рейн Р., Шибата М., Орнштейн Р., Миллер Г. Генотоксическая

- модификация оснований нуклеиновых кислот и ее биологические последствия. Обзор и перспективы экспериментальных и расчетно-теоретических исследований // Молекуляр. биология.—1993.—27, № 4.—С. 734—757.
5. *Horbatschewsky I.* Synthese der Harusaure // Wiener Berichte.—1882.—17.—S. 17—19.
 6. *Horbatschewsky I.* Über die neue Synthese und die Constitution der Harusaure // Wiener Berichte.—1887.—24.—S. 13—17.
 7. *Horbatschewsky J.* Untersuchungen über die Entstehung der Harusaure in Sanguinier Organismus // Wiener Berichte.—1899.—24.—S. 12—14.
 8. *Горбачевський І.* О кристалізованім ксантині і гуаніні // Зб. математично-природопісно-лікарської секції НТШ.—1897.—1, № 1.—С. 1—19.
 9. *Saenger W.* Principle of nucleic acid structure // Springer advanced texts in chemistry / Ed. C. R. Cantor.—New York etc., 1984.—584 p.
 10. *Rossi C., Picchi M. P., Tiezzi E., Corbini G., Corti P.* Conformational and dynamic investigation in solution of inosine and its molecular complex, inosiplex by proton and carbon NMR spectroscopy // Magnetic Resonance in Chemistry.—New-York: John Wiley & Sons, 1990.—Vol. 28.—P. 348.
 11. *Mitsuya H., Broder S.* Inhibition of the *in vitro* infectivity and cytoplasmic effect of human T-lymphotrophic virus type III / lymphadenopathy-associated virus (HTLV-III/LAV) // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1986.—83, N 6.—P. 1911—1915.
 12. *Говорун Д. М.* Прототропна таутомерія азотистих основ: новий погляд на стару проблему // Біополімери і клітка.—1997.—13, № 3.—С. 191—196.
 13. *Sabio M., Topiol S., Lumma W. C., Jr.* An investigation of tautomerism in adenine and guanine // J. Phys. Chem.—1990.—94, N 4.—P. 1366—1372.
 14. *Nowak M. J., Lapinski L., Kwiatkowski J. S., Leszczynski J.* Molecular structure and infrared spectra of adenine. Experimental matrix isolation and density functional study of adenine 15N isotopomers // J. Phys. Chem.—1996.—100, N 9.—P. 3527—3534.
 15. *Nowak M. J., Lapinski L., Kwiatkowski J. S.* An infrared matrix isolation study of tautomerism in purine and adenine // Chem. Phys. Letts.—1989.—157, N 1/2.—P. 14—18.
 16. *Nowak M. J., Rostowska H., Lapinski L., Kwiatkowski J. S., Leszczynski J.* Tautomerism N(9)H ↔ N(7)H of purine, adenine, and 2-chloroadenine: combined experimental IR matrix isolation and *ab initio* quantum mechanical studies // J. Phys. Chem.—1994.—98, N 11.—P. 2813—2816.
 17. *Szczesniak K., Szczesniak M., Person W. B.* Infrared studies and the effect of ultraviolet irradiation on the tautomers of 9-methylguanine isolated in an argon matrix // Chem. Phys. Letts.—1988.—153, N 1.—P. 39—44.
 18. *Kwiatkowski J. S., Person W. B.* The tautomerism of the nucleic acid bases revisited: from non-interacting to interacting bases // Theoretical Biochemistry and Molecular Biophysics / Eds D. L. Beverige, R. Lavery.—New York: Adenine press, 1990.—P. 153—171.
 19. *Szczesniak K., Szczesniak M.* Matrix isolation infrared studies of nucleic acid constituents // J. Mol. Struct.—1987.—156, N 1/2.—P. 29—42.
 20. *Brown R., Goodfrey P. D., McNuaghton D., Pierlot A. P.* A study of the major gas-phase tautomer of adenine by microwave spectroscopy // Chem. Phys. Letts.—1989.—156, N 1.—P. 61—63.
 21. *Leszczynski J.* The potential energy surface of guanine is not flat: an *ab initio* study with large basis sets and higher order electron correlation contribution // J. Phys. Chem. A.—1998.—102, N 13.—P. 2357—2362.
 22. *LeBreton P. R., Yang X., Urano S., Fretzer S., Yu M., Leonard N. J., Kumar S.* Photoemission properties of methyl-substituted guanines: photoelectron and fluorescence investigation of 1,9-dimethylguanine, O⁶,9-dimethylguanine, and 9-methylguanine // J. Amer. Chem. Soc.—1990.—112, N 6.—P. 2138—2145.
 23. *Gould I. R., Vincent M. A., Hillier I. H., Lapinski L., Nowak M. J.* A new theoretical prediction of the infrared spectra of cytosine tautomers // Spectrochim. Acta.—1992.—48A, N 6.—P. 811—818.
 24. *Cavaliere L. F., Fox J. J., Stone A., Chang N.* On the nature of xanthine and substituted in solution // J. Amer. Chem. Soc.—1954.—76, N 4.—P. 1119—1122.
 25. *Lichtenberg D., Bergmann F., Neiman Z.* Tautomeric forms and ionisation processes in xanthine and its N-methyl derivatives // J. Chem. Soc. (C).—1971.—N 9.—P. 1676—1682.
 26. *Bergmann F., Kleiner M., Neiman Z., Rashi M.* The ionisation sequence of hypoxanthine and 6-mercaptopurine // Israel J. Chem.—1964.—2, N 2.—P. 185—196.
 27. *Морозов Ю. В., Бажулина Н. П.* Электронное строение, спектроскопия и реакционная способность молекул. Нуклеиновые основания, витамины B6 и их аналоги / Под ред. М. В. Волькенштейна.—М.: Наука, 1989.—288 с.
 28. *Mizuno H., Fujiwara T., Tomita K.* The crystal and molecular structure of the sodium salt of xanthine // Bull. Chem. Soc. Japan.—1969.—42, N 11.—P. 3099—3105.
 29. *Kondratyuk I. V., Samijlenko S. P., Kolomiets' I. M., Hovorun D. M.* Prototropic molecular-zwitterionic tautomerism of xanthine and hypoxanthine // J. Mol. Struct.—2000.—5, N 1—3.—P. 109—118.
 30. *Kondratyuk I. V., Samijlenko S. P., Kolomiets' I. M., Potyahaylo A. L., Hovorun D. M.* Prototropic molecular-zwitterionic tautomerism of xanthine and hypoxanthine: unexpected biological view // Біополімери і клітка.—2000.—16, № 2.—P. 124—137.
 31. *Кондратюк І. В., Говорун Д. М., Желтовський М. В.* Прототропна молекулярно-цвітеріонна таутомерія ксантину та його комплексотвірна здатність // Біополімери і клітка.—1994.—10, № 6.—С. 61—64.
 32. *Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В.* Прототропна молекулярно-цвітеріонна таутомерія гіпоксантину: розрахунок методом АМ1 у вакуумному наближенні // Біополімери і клітка.—1995.—11, № 1.—С. 30—35.
 33. *Кондратюк І. В., Говорун Д. М., Желтовський М. В.* Прототропна таутомерія молекулярного ксантину // Доп. НАН України.—1995.—№ 4.—С. 109—112.
 34. *Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В.* Прототропна молекулярно-цвітеріонна таутомерія гіпоксантину // Доп. НАН України.—1995.—№ 7.—С. 135—138.
 35. *Sponer J., Leszczynski J.* Tautomerism of xanthine: the second-order Moller-Plesset study // Struct. Chem.—1995.—6, N 4/5.—P. 281—286.
 36. *Hernandes B., Luque F. J., Orozco M.* Tautomerism of xanthine oxidase substrates hypoxanthine and allopurinol // J. Org. Chem.—1996.—61, N 17.—P. 5964—5971.
 37. *Hernandes B., Orozco M., Luque F. J.* Tautomerism of xanthine and alloxanthine: a model for substrate recognition by xanthine oxidase // J. Comput.-Aided Mol. Design.—1996.—10, N 3.—P. 535—544.
 38. *Costas M. E., Acevedo-Chavez R.* Density functional study of the neutral hypoxanthine tautomeric forms // J. Phys. Chem.—1997.—A101, N 44.—P. 8309—8318.
 39. *Hernandes B., Orozco M., Luque F. J.* Role of the tautomerism of 2-azaadenine and 2-azahypoxanthine in substrate recognition by xanthine oxidase // J. Comput.-Aided Mol. Design.—1997.—11, N 1.—P. 152—162.

40. Sheina G. G., Stepanian S. G., Radchenko E. D., Blagoi Yu. P. IR spectra of guanine and hypoxanthine isolated molecules // *J. Mol. Struct.*—1987.—158, N 2.—P. 275—292.
41. Munns A. R. I., Tollin P. The crystal and molecular structure of inosine // *Acta Cryst.*—1970.—B26, N 11.—P. 1101—1113.
42. Krishnan R., Seshadri T. P. Crystal structure of sodium deoxyinosine // *Nucleosides and Nucleotides.*—1992.—11, N 5.—P. 1047—1057.
43. Lin J., Yu S., Peng S., Akijama I., Li K., Le L. K., LeBreton P. R. Ultraviolet photoelectron studies of the ground-state electronic structure and gas-phase tautomerism of purine and adenine // *J. Phys. Chem.*—1980.—102, N 14.—P. 4627—4631.
44. Говорун Д. М., Кондратюк І. В. Газофазні кислотно-лужні властивості канонічних нуклеотидних основ // *Доп. НАН України.*—1998.—№ 1.—С. 207—212.
45. Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В. Кислотно-лужні властивості молекулярного ксантину та його комплексотвірна здатність // *Биополимеры и клетка.*—1994.—10, № 6.—С. 61—64.
46. Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В. Газофазні кислотно-лужні властивості молекулярного гіпоксантину // *Биополимеры и клетка.*—1995.—11, № 1.—С. 36—39.
47. Говорун Д. М., Кондратюк І. В., Желтовський М. В. Нуклеотидні основи як СН-кислоти // *Биополимеры и клетка.*—1995.—11, № 5.—С. 15—20.
48. Musui Q., Yuoxin J., Wenqin L., Junru B., Peijuan G., Renlong W., Keqin Z., Debao W. Biological function of modified nucleotides in tRNA molecules — synthesis and biological activity of the analogues of yeast alanyl-tRNA with I34 replaced by A34 or G34 // *Scientia Sinica, Ser. B.*—1988.—31.—P. 695—701.
49. Zheltovsky M. V., Samijlenko S. P., Kolomiets' I. M., Kondratyuk I. V., Stepanyugin A. V. Investigation of interactions of hypoxanthine, xanthine and its methyl- and glycosyl-derivatives with amino acid carboxylic group by spectroscopic methods // *Биополимеры и клетка.*—1993.—9, № 3.—С. 72—77.
50. Zheltovsky N. V., Samoilenko S. A., Kondratyuk I. V., Kolomiets I. N., Stepanyugin A. V. Recognition of purine bases and nucleosides by the amino acid carboxylic group // *J. Mol. Struct.*—1995.—344, N 1.—P. 53—62.
51. *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology // Nucleic Acids* / Ed. G. D. Fasman.—Boca Raton: CRC press, 1986.—Vol. 1.—637 p.
52. Michelson A. M., Pochon F. Polynucleotide analogues. VII. Methylation of polynucleotides // *Biochim. et biophys. acta.*—1966.—114.—P. 469—480.
53. Бородавкин А. В., Будовский Э. И., Морозов Ю. В., Савин Ф. А., Симукова Н. А. Электронная структура, УФ-спектры поглощения и реакционная способность компонентов нуклеиновых кислот.—М.: ВИНТИ, 1977.—227 с. (Итоги науки и техники. Молекуляр. биология; Т. 14).
54. Эткинс П. Молекулы.—М.: Мир, 1991.—143 с.
55. Говорун Д. М. Про мікроструктурне походження викривленості лінійної ДНК // *Доп. НАН України.*—1998.—№ 5.—С. 189—195.
56. Samijlenko S. P., Alexeeva I. V., Palchykiv'ska L. H., Kondratyuk I. V., Stepanyugin A. V., Shalamay A. S., Hovorun D. M. Structural peculiarities of 6-azacytosine and its derivatives imply intramolecular H-bonds // *J. Mol. Struct.*—1999.—484, N 1.—P. 31—38.
57. Samijlenko S. P., Alexeeva I. V., Palchykiv'ska L. H., Kondratyuk I. V., Stepanyugin A. V., Shalamay A. S., Hovorun D. M. ¹H NMR investigation on 6-azacytidine and its derivatives // *Spectrochim. Acta, Part A.*—1999.—55, N 6.—P. 1133—1141.

УДК 577.33.336:577.323.36
Надійшла до редакції 26.06.2000