

Вплив метилювання та взаємодії з карбоксильною групою амінокислот на УФ спектри пуринових нуклеотидних основ та нуклеозидів в диметилсульфоксиді. 1. Аденін

А. В. Степанюгін, І. М. Коломієць, С. П. Самійленко

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

Вивчено УФ спектри поглинання в ДМСО аденіну, аденозину та низки їхніх метилпохідних. Значні зміни в УФ спектрі аденіну при метилюванні в положеннях 1 та 3, а також аденозину в положенні 1 відбивають суттєву перебудову пуринового кільця аденіну. Встановлено, що Ade та m^6 Ade утворюють комплекси з депротонованою карбоксильною групою амінокислот (карбоксилат-іоном) через два Н-зв'язки із залученням аміногрупи та іміногрупи N7H, причому таутомерний перехід $N9H \rightarrow N7H$ ініціюється саме взаємодією з карбоксилат-іоном. Значна зміна УФ спектрів m^1 Ade, m^1 A та m^3 Ade при взаємодії з нейтральною карбоксильною групою амінокислот інтерпретована як результат перенесення протону від амінокислоти до основи.

Вступ. Аденін є однією з чотирьох найважливіших мономерних ланок нуклеїнових кислот. Існує думка, що він був першою з нуклеотидних основ, синтезованих в добіологічний період. Так, показано, що його похідні 8-карбамададенін та 8-гідроксиметиладенін можуть бути отримані шляхом полімеризації HCN у присутності та за відсутності формальдегіду відповідно [1]. З аденіновими послідовностями пов'язують здатність ДНК утворювати викривлені структури [2] та спонтанні напіврозкриті стани [3]. Останнім часом робиться наголос на особливій біологічній ролі поліА «хвостів» матричної РНК [4].

У роботі [5] за допомогою методу CNDO/S CI розраховано електронні спектри поглинання та емісії аденіну, а також інтерпретовано наявні на той час експериментальні дані.

Розлогі дані щодо дослідження УФ спектрів аденіну, деяких його таутомерів та іонів у водних розчинах та розрахунки їхньої електронної структури наведено в монографії [6]. Детальному вив-

ченню структурних ізомерів аденіну в основній таутомерній формі за допомогою квантово-хімічних розрахунків присвячено роботу [7]. Методом CNDO/S розраховано енергії електронно-збуджених станів трьох катіонів та одного дикатіона аденіну [8], причому для катіонів N3H та N7H прогнозується батохромний зсув УФ спектрів.

Електронно-коливальні спектри аденіну та його похідних вивчали в аргонній матриці [9].

У неполярних розчинниках за допомогою ЯМР вивчали внутрішньомолекулярні зв'язки в нуклеозидах аденіну [10, 11]. Дослідження промутагену N6-метоксиаденозину та його спарювання з уридином у хлороформі за допомогою ЯМР вказують на значний зсув таутомерної іміно-амінової рівноваги на користь амінової за рахунок асоціації [12].

При спільному розмелюванні аденіну з тимином виявилася його унікальна властивість утворювати комплекс через Хугстинівське спарювання на відміну від іншої канонічної пари гуанін—цитозин та інших неканонічних [13].

У твердих плівках аденіну вивчалася його взаємодія з випромінюванням у широкому інтервалі енергії від 1,8 до 80 eV для моделювання дії

іонізуючої радіації на біологічні молекули [14]. Вплив протонування, заміщення та утворення водневих зв'язків на геометрію аденіну в кристалічному стані досліджено за допомогою рентгеноструктурного аналізу [15]. Комплекси аденіну з Ru^{3+} вивчали за допомогою ІЧ спектроскопії та дифузного розсіяння [16].

Спектри поглинання та люмінесценції мінорів 6-метиладеніну та 1-метиладеніну отримано в роботі [17].

Для виявлення домінантних таутомерів аденіну, ізолюваного в низькотемпературних матрицях, використовували ІЧ спектроскопію разом з квантово-механічними методами [18, 19, 20].

Комбінований підхід, пов'язаний із ІЧ спектроскопією та квантово-хімічними розрахунками *ab initio*, застосовано до вивчення прототропної таутомерії ізолюваних в аргоновій матриці 1- та 3-метиладеніну [21, 22].

За допомогою фотоселекційної спектроскопії досліджено таутомерію аденіну та низки його метилпохідних у газовій фазі і зроблено висновок про значну перевагу таутомеру N9H над таутомером N7H [23]. Результати вивчення таутомерії аденіну в газовій фазі за допомогою мікрохвильової спектроскопії також свідчать на користь таутомеру N9H [24]. Огляд літератури, присвяченої вивченню фізико-хімічних властивостей аденіну, деяких його похідних та комплексів різними методами, в різних агрегатних станах та в різному оточенні, демонструє фрагментарність вказаних досліджень. Звідси випливає необхідність систематичного вивчення аденіну та його похідних у рамках єдиного методу та за ідентичних умов експерименту для коректного відстеження зміни електронної структури при заміщенні та комплексоутворенні.

УФ спектроскопія поглинання є чутливим інструментом дослідження електронної будови молекули.

У представленій роботі викладено результати дослідження в диметилсульфоксиді (ДМСО) УФ спектрів низки похідних аденіну і аденозину та їхніх комплексів з нейтральною карбоксильною групою амінокислот, що моделюють точкові білково-нуклеїнові контакти. Отримані результати обговорюються з урахуванням літературних даних.

Матеріали і методи. В роботі використано такі похідні аденіну: Ade («Calbiochem», США), m^1Ade («Sigma», США), m^9Ade («Sigma»), m^3Ade («Fluka», Швеція), m^6Ade («Serva», ФРН), $m^{6,6}Ade$ («Calbiochem»), m^6Pur («Serva»), A («BDH», ФРН), dA («Calbiochem»), m^1A («Serva»), m^6A («Sigma»). ДМСО («Fluka») зневоднювали молекулярними ситами 0,4 та 0,5 нм («Serva»). Спектри УФ погли-

нання реєстрували на спектрофотометрі MPS-2000 («Shimadzu», Японія) в кварцових кюветах з довжиною оптичного шляху 1 мм. Концентрація аденіну та його похідних дорівнювала $5 \cdot 10^{-4}$ М, концентрація лігандів — $5 \cdot 10^{-3}$ М.

Утворення комплексів вказаних основ та нуклеозидів з нейтральною карбоксильною групою вивчали в сумішах з ac-Asp («Serva»), ac-Glu («Sigma»), ac-Gly («Serva»), ac-Asp-OMe («Serva»), а з дисоційованою карбоксильною групою — в сумішах з NaAc («Реаким», Росія) та f-GlyONa (синтезовано А. Г. Терентьєвим). Щоб впевнитися у відсутності впливу іонів натрію на УФ спектри досліджуваних основ та нуклеозидів вивчали їхню взаємодію з перхлоратом натрію.

Диференційні УФ спектри поглинання (ДС) комплексів було отримано таким чином: до розчину основи (нуклеозиду) додавали наважку ліганду, розчин котрого прозорий в області поглинання основи (нуклеозиду), а потім записували спектр суміші відносно спектра ізолюваної основи (нуклеозиду).

Результати та обговорення. Аденін. У табл. 1 представлено довжини хвиль максимумів λ_{max} та оптичні густини D у максимумах спектрів УФ поглинання в безводному ДМСО аденіну, аденозину та низки їхніх метилпохідних у присутності та за відсутності лігандів з нейтральною (ac-Asp) та депротонованою (NaAc) карбоксильною групою. Для порівняння наводяться літературні дані [25—30] для водних розчинів при різних значеннях pH: значення pK, λ_{max} та коефіцієнт поглинання в максимумі. Табл. 2 дає змогу простежити за еволюцією УФ спектрів досліджуваних сполук при взаємодії з цілою низкою лігандів, що містять нейтральну та іонізовану форми карбоксильної групи. Порівняння розташування піка УФ поглинання Ade (263 нм) з таким піків m^9Ade (263 нм), A (262 нм) і dA (26 нм) свідчить про те, що в ДМСО Ade існує як N9H таутомер (табл. 1). При додаванні ac-Asp, ac-Glu, ac-Gly, ac-Gly-OMe змін у спектрах УФ поглинання Ade не спостерігалось (табл. 2), що вказує на відсутність взаємодії Ade з нейтральною карбоксильною групою амінокислот та пептидним остовом, змодельованим ac-Gly-OMe.

Характер зміни УФ спектра (гіпохромізм та батохромний зсув максимуму поглинання на 5 нм) Ade при додаванні NaAc (рис. 1, а) подібний до характеру зміни УФ спектра Ade при переході до лужного середовища (табл. 1), що вказує на досить сильну взаємодію Ade з карбоксилат-іоном. Поява диференційного УФ поглинання суміші Ade з NaAc біля 284 нм можна розглядати як свідчення переходу Ade в N7H таутомер, оскільки m^7Ade у воді

Таблиця 1
Характеристики УФ спектрів та значення рК аденіну, аденозину, пурину та їхніх метилпохідних

Основа	В Н ₂ О [25-30]						В ДМСО (наші дані)					
	рК _s	рК _n	рН	λ _{max}	ε _{max} ·10 ⁻³	рН	λ _{max}	D*	Основа та її суміші з лігандами	λ _{max}	D	
Ade	4,15	9,8	1	262,5	13,2	1	262	0,7	Ade + ac-Asp	263	0,63	
	4,1	9,63	7	260,5	13,4					Ade	263	0,63
m ¹ Ade	4,2	9,72	12	269	12,3	13	269	0,67	Ade + NaAc	268	0,51	
	7,2	11,0	4	259	11,7	1	259	0,74	m ¹ Ade + ac-Asp	262	0,64	
			8,8	270	11,9	7	266	0,65	m ¹ Ade	277	0,59	
m ³ Ade	6,1	5,7	13	270	14,4	13	270	0,91	m ¹ Ade + NaAc	277	0,60	
			2	274	15,9	1	274	0,87	m ³ Ade + ac-Asp	279	0,65	
						7	274	0,68	m ³ Ade	277	0,54	
m ⁶ Ade	4,2	10,0	13	273	12,8	13	273	0,62	m ³ Ade + NaAc	277	0,53	
			1	267	15,3	1	267	0,78	m ⁶ Ade + ac-Asp	269	0,77	
			7	266	16,2	7	267	0,81	m ⁶ Ade	269	0,77	
m ^{6,6} Ade	4,8	9,6	13	273	15,9	12	273	0,82	m ⁶ Ade + NaAc	273	0,67	
			3,9	10,5	1	277	15,6			m ^{6,6} Ade + ac-Asp	278	0,46
			3,87		7	275	17,8			m ^{6,6} Ade	278	0,46
m ⁷ Ade	4,2	3,5	13	281	17,8				m ^{6,6} Ade + NaAc	280	0,39	
			1	273	14,0	1	273	0,78	m ⁷ Ade + ac-Asp			
						7	270	0,68	m ⁷ Ade			
m ⁹ Ade	3,9	4,0	12	270	10,6	13	270	0,67	m ⁷ Ade + NaAc			
			1	261					m ⁹ Ade + ac-Asp	263	0,67	
									m ⁹ Ade	263	0,67	
Pur	2,39	8,93	11	262					m ⁹ Ade + NaAc	263	0,67	
			1	262	5,9				m ⁶ Pur + ac-Asp	264	0,43	
			7	262	7,1				m ⁶ Pur	264	0,41	
A	3,5	3,63	13	262	7,1				m ⁶ Pur + NaAc	274	0,37	
			1	257	14,6	1	258	0,74	A + ac-Asp	262	0,90	
			6	260	14,9	7	259	0,76	A	262	0,90	
dA	3,56	3,8	11	259	15,4	13	260	0,75	A + NaAc	262	0,90	
			2	258	14,5				dA + ac-Asp	262	0,91	
			7	260	15,2				dA	262	0,91	
m ¹ A	3,8	8,8	13	261	14,9				dA + NaAc	262	0,91	
			2	258	13,7	5,7	257	0,75	m ¹ A + ac-Asp	262	0,87	
m ⁶ A	8,3	7							m ¹ A	297	-	
m ⁶ A	4,0	10,5	259	14,6	13,0				m ¹ A + NaAc	260	0,71	
m ⁶ A	4,0	1	262	16,6	1	262	0,74		m ⁶ A + ac-Asp	268	0,82	
			7	266	15,9	7	255	0,69		m ⁶ A	268	0,82
			13	266	15,9	13	266	0,685		m ⁶ A + NaAc	268	0,82

*Оптична густина; **плече.

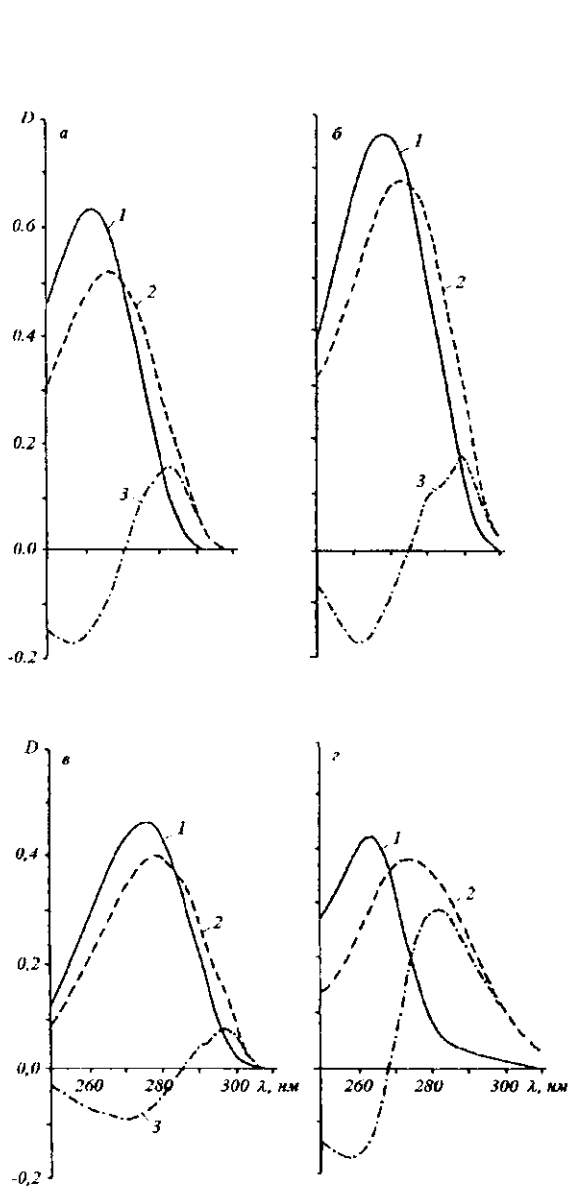


Рис. 1. УФ спектри поглинання в ДМСО: а — Ade (1), його суміші з NaAc (2) і ДС (3); б — m^6 Ade (1), його суміші з NaAc (2) і ДС (3); в — $m^{6,6}$ Ade (1), його суміші з NaAc (2) і ДС (3); г — m^9 Pur (1), його суміші з NaAc (2) і ДС (3). Концентрація основ 0,5 мМ, NaAc — 5 мМ

[25] має максимум поглинання, зміщений відносно m^9 Ade та Ade приблизно на 10 нм у довгохвильову

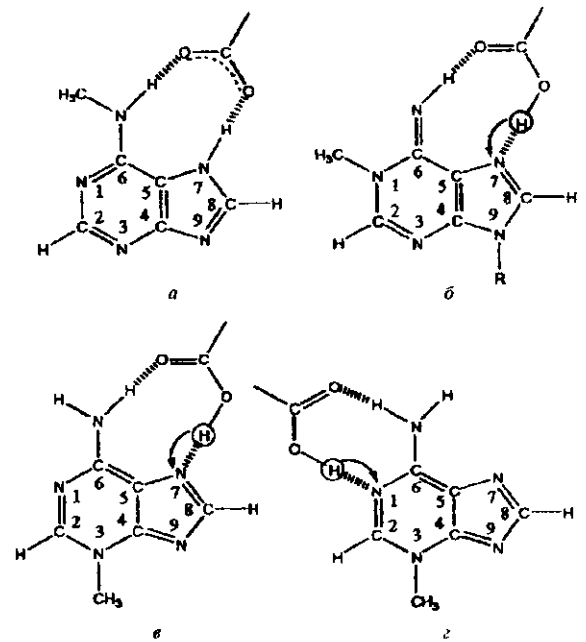


Рис. 2. Схеми взаємодії: а — Ade (R = H) та m^6 Ade (R = CH₃) з NaAc; б — m^1 Ade (R = H) та m^1 A (R = ribose) з Ac-Asp; в, г — m^6 Ade з ac-Asp

область (табл. 1). З цього випливає, що при взаємодії Ade з карбоксилат-іоном у ДМСО відбувається перехід від N9H до N7H таутомеру і утворюється комплекс з двома водневими зв'язками з участю іміно- та амінопротонів (рис. 2, а).

9-метиладенін, аденозин, дезоксиаденозин. УФ спектри m^9 Ade, A та dA збігаються або незначно відрізняються від спектра Ade, оскільки заміщення положення 9 мало збурює електронну структуру пуринового кільця. При заміщенні N9H положення Ade метильним, рибозильним та дезоксирибозильним радикалами утворення комплексу основи з карбоксилат-іоном за схемою 1 стає неможливим. Це узгоджується з експериментально встановленою відсутністю будь-яких змін в УФ спектрах m^9 Ade, A, dA в присутності відповідних лігандів (табл. 2).

Для Ade та жодної з перелічених вище його похідних взаємодію з нейтральною карбоксильною групою амінокислот у ДМСО експериментально не зафіксовано.

6-Метиладенін. Батохромний зсув смуги УФ поглинання m^6 Ade на 6 нм відносно Ade, очевидно, викликаний зміною спряження аміногрупи з пуриновим кільцем внаслідок її метилзаміщення, а також сольватаційним ефектом метильної групи. В

Таблиця 2

Зміна смуг УФ поглинання аденіну, аденозину та їхніх метилпохідних у ДМСО в присутності лігандів з нейтральною та депротонованою карбоксильною групою амінокислот

Основа	Ліганд												
	λ_{max} D*	+ ac-Asp		+ ac-Glu		+ ac-Gly		+ ac-Asp-OMe		+ f-Gly (ONa)		+ NaAc	
	λ_{max} D*	λ_{max} D	λ_{max} ΔD	λ_{max} D	λ_{max} ΔD	λ_{max} D	λ_{max} ΔD	λ_{max} D	λ_{max} ΔD	λ_{max} D	λ_{max} ΔD	λ_{max} D	λ_{max} ΔD
Ade	263 0,635	263 0,635	-	263 0,635	-	263 0,635	-			264 0,604	260 -0,037	268 0,517	258 -0,166
											284 +0,032		284 +0,140
m ¹ Ade	277 0,594	262 0,641	259 +0,331	268 0,556	258 +0,200	274 0,559	259 +0,092			277 0,603		277 0,609	
			283 -0,326	283 -0,202	283 -0,084						283 +0,003		283 +0,011
											293 +0,006		303 +0,028
m ³ Ade	277 0,549	279 0,655	280 +0,115	278 0,586	280 +0,032	277 0,556	280 +0,008			277 0,549		277 0,535	275 0,010
m ⁶ Ade	269 0,777	269 0,777	-	269 0,777	-	269 0,777	-			270 0,738	262 -0,038	273 0,677	262 -0,170
											289 +0,028		296 +0,154
m ⁶⁶ Ade	278 0,465	278 0,465	-	278 0,465	-	278 0,465	-			278 0,465		280 0,395	269 -0,089
													298 +0,084
m ⁹ Ade	263 0,670	263 0,670	-	263 0,670	-	263 0,670	-			263 0,670		263 0,670	-
m ⁶ Pur	264 0,419	264 0,431	260 +0,013	264 0,429	262 +0,005	264 0,429	261 +0,009			265 0,406	260 -0,018	274 0,375	258 -0,167
			283 -0,004	280 -0,007	283 -0,007						280 +0,044		282 +0,278
A	262 0,902	262 0,902	-	262 0,902	-	262 0,902	-			262 0,902		262 0,902	-
dA	262 0,912	262 0,912	-	262 0,912	-	262 0,912	-			262 0,912		262 0,912	-
m ¹ A	260 0,718	262 0,873	266 +0,242	261 0,853	266 +0,216	261 0,804	266 +0,142	261 0,790	265 +0,121	260 0,718		260 0,718	-
	297** 0,239	-	274 +0,232	305 0,020	274 +0,207	305 0,090	274 +0,136	297 0,119	274 +0,116	297** 0,239		297** 0,239	-
			302 -0,228	302 -0,204	302 -0,109								
m ⁶ A	268 0,821	268 0,821	-	268 0,821	-	268 0,821	-			268 0,821		268 0,821	-

*Оптична густина; **плече.

ДМСО m⁶Ade існує, як і Ade, у вигляді таутомеру N9H. Про це свідчить близьке розташування піків УФ поглинання m⁶Ade (269 нм) і m⁶A (268 нм)

(табл. 2). Характер зміни УФ спектра m⁶Ade (гіпохромізм та батохромний зсув максимуму на 4 нм) при додаванні NaAc (рис. 1, б) подібний до

зміни спектра m^6Ade при переході до лужних рН (табл. 1), що вказує на сильну взаємодію m^6Ade з карбоксилат-іоном. Порівняння диференційних спектрів m^6Ade і Ade в присутності $NaAc$ (табл. 2) свідчить про приблизно однакову комплексотвірну здатність; цьому не протирічають значення pK_a m^6Ade і Ade (табл. 1). Можна думати, що, як і у випадку Ade , для m^6Ade таутомер $N9H$ при взаємодії з карбоксилат-іоном переходить у таутомер $N7H$ і утворює комплекс з двома водневими зв'язками (рис. 2, *a*), в якому метильна група орієнтована в бік атома $N1$ (така ж орієнтація групи CH_3 характерна і для вільної молекули m^6Ade [31]).

Подібно до Ade , m^6Ade з нейтральною карбоксильною групою не взаємодіє.

6-Метиладенозин. Зміна спряження аміногрупи m^6Ade з пуриновим кільцем незначна при приєднанні рибозильного радикалу, внаслідок чого спектр m^6A майже збігається із спектром m^6Ade . УФ спектр поглинання m^6A (табл. 2) не змінюється в присутності як $NaAc$, так і $ac-Asp$. Отже, на відміну від Ade та m^6Ade , комплекс m^6A з карбоксилат-іоном не утворюється через неможливість реалізації таутомеру $N7H$.

6,6-Диметиладенін. Подвійне метилювання аміногрупи в $m^6,6Ade$ викликає зміни в УФ спектрі, подібні до ефекту заміщення положення 1 в m^1Ade (табл. 2). Причиною можуть бути зміна спряження аміногрупи з кільцем, стеричний вплив двох метильних груп, а також їхній сольватаційний ефект. Взаємодію $m^6,6Ade$ з недисоційованою карбоксильною групою не встановлено (табл. 2). Характер зміни УФ спектра $m^6,6Ade$ (рис. 1, *a*) у присутності $NaAc$ (батохромний зсув смуги поглинання 278 нм на 2 нм) такий же, як і при переході до лужних рН (табл. 1). Очевидно, що з карбоксилат-іоном утворюється комплекс за участю іміногрупи $N9H$.

6-Метилпурін. Зміна УФ спектра поглинання m^6Pur (котрий відрізняється від аденіну тим, що замість аміногрупи в 6-му положенні знаходиться метильна група) при додаванні $NaAc$ (рис. 1, *z*) вказує на сильну взаємодію із залученням імінопротона $N9H$, котра може бути пов'язана з перенесенням протона від основи до карбоксилат-іону.

Додавання $ac-Asp$ спричиняє незначні зміни в УФ спектрі m^6Pur (табл. 2), причому характер ДС цієї суміші (відносно розташування негативних та позитивних максимумів поглинання) протилежний до ДС суміші m^6Pur з $NaAc$. Такі зміни можуть бути обумовлені відновленням молекул m^6Pur , частково депротонуваних розчинником, за рахунок протона карбоксильної групи.

Таким чином, як $m^6,6Ade$, так і m^6Pur утворюють комплекси з дисоційованою карбоксильною групою через іміногрупу $N9H$, причому в останньому випадку відбувається депротонування основи.

1-Метиладенін. Батохромний зсув на 14 нм смуги УФ поглинання m^1Ade відносно незаміщеної основи (табл. 2) вказує на значну перебудову пуринового кільця, обумовлену заміщенням, котре пов'язане з переходом від аміно- до іміноформи, встановленим за допомогою ЯМР [32] та ІЧ спектроскопії [33]. В УФ спектрі m^1Ade в присутності $NaAc$ (рис. 3, *z*) спостерігаються незначні зміни, що свідчить про його слабку взаємодію з карбоксилат-іоном.

Навпаки, дуже сильна взаємодія m^1Ade з нейтральною карбоксильною групою проявляється в тому, що в його УФ спектрі в присутності $ac-Asp$ (рис. 3, *a*) спостерігається гіпсохромний зсув смуги 277 нм на 15 нм. Останнє свідчить на користь протонування основи в складі комплексу (табл. 1), що узгоджується з даними 1H ЯМР спектроскопії [32]; при цьому інтенсивність піка ДС суміші m^1Ade з похідними амінокислот (рис. 3, *a—z*) зменшується в ряду $ac-Asp > ac-Glu > ac-Gly$, що може, зокрема, вказувати на різну роль у комплексотворенні α , β та γ карбоксильних груп. Виходячи з того, що найвірогіднішим місцем протонування є атом $N7$ m^1Ade [29, 30], можна запропонувати схему його взаємодії з нейтральною карбоксильною групою, наведену на рис. 2, *b*.

1-Метиладенозин. УФ спектр m^1A значно відрізняється як від Ade , так і від m^1Ade : йому притаманні дві смуги поглинання — більш інтенсивна 260 нм та менш інтенсивна 300 нм. Очевидно, приєднання рибозильного радикалу суттєво впливає на електронну будову кільця цього нуклеозиду, можливо, через утворення внутрішньомолекулярних водневих зв'язків. В УФ спектрі m^1A при додаванні $ac-Asp$ (рис. 4, *a*), так само і при підвищенні рН (табл. 1), інтенсивність довгохвильового максимуму 300 нм падає, а короткохвильового 260 нм — росте. Характер та величина зміни УФ спектра можна розглядати як свідчення перенесення протона з карбоксильної групи амінокислот на основу, причому інтенсивність ДС падає в ряду $ac-Asp > ac-Glu > ac-Gly > ac-Asp-OMe$ (рис. 4, *a—z*). Останнє вказує на те, що m^1A краще протонується α карбоксильною групою, ніж β карбоксильною групою, що узгоджується з pK_a амінокислот.

Схема утворення комплексу m^1A з нейтральною карбоксильною групою з перенесенням протона вздовж міжмолекулярного Н-зв'язку на атом $N7$ [29, 30] така ж, як і для m^1Ade (рис. 2, *b*).

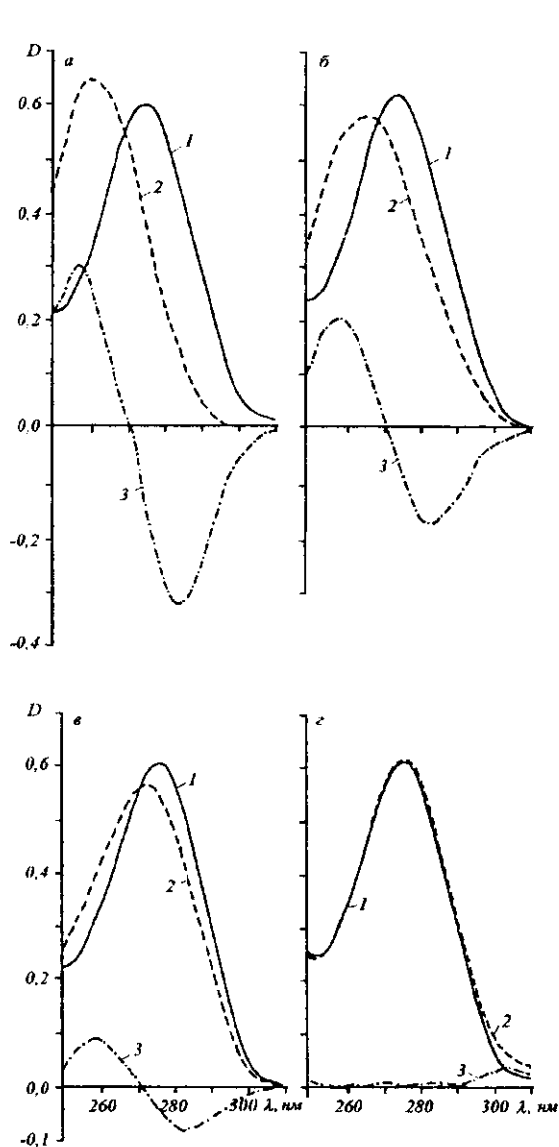


Рис. 3. УФ спектри поглинання в ДМСО: а — m^3Ade (1), його суміші з ас-Asp (2) і ДС (3); б — m^3Ade (1), його суміші з ас-Glu (2) і ДС (3); в — m^3Ade (1), його суміші з ас-Gly (2) і ДС (3D); г — m^3Ade (1), його суміші з NaAc (2) і ДС (3). Концентрація основ 0,5 мМ, лігандів — 5 мМ

3-Метиладенін. Максимум УФ поглинання m^3Ade зміщений, як і у випадку m^1Ade , на 14 нм у бік довгих хвиль. Крім того, на основній смузі

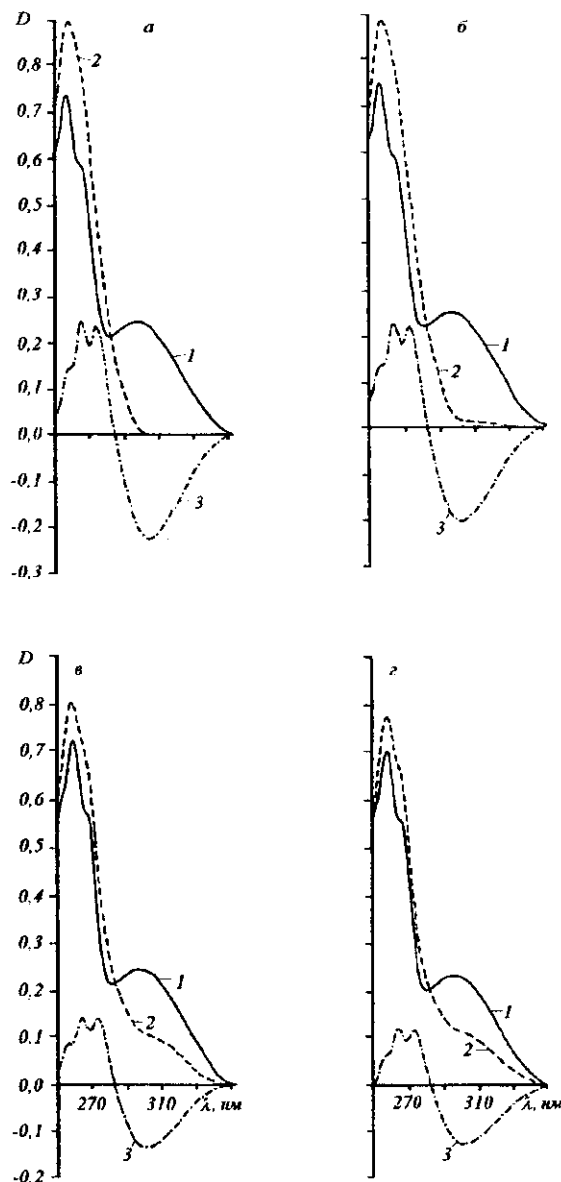


Рис. 4. УФ спектри поглинання в ДМСО: а — m^1A (1), його суміші з ас-Asp (2) і ДС (3); б — m^1A (1), його суміші з ас-Glu (2) і ДС (3); в — m^1A (1), його суміші з ас-Gly (2) і ДС (3); г — m^1A (1), його суміші з ас-Asp-OMe (2) і ДС (3). Концентрація основ 0,5 мМ, лігандів — 5 мМ

з'являється не дуже чітке плече з максимумом приблизно 295 нм. Такі зміни УФ спектра при заміщенні положення 3 в Ade вказують на значну

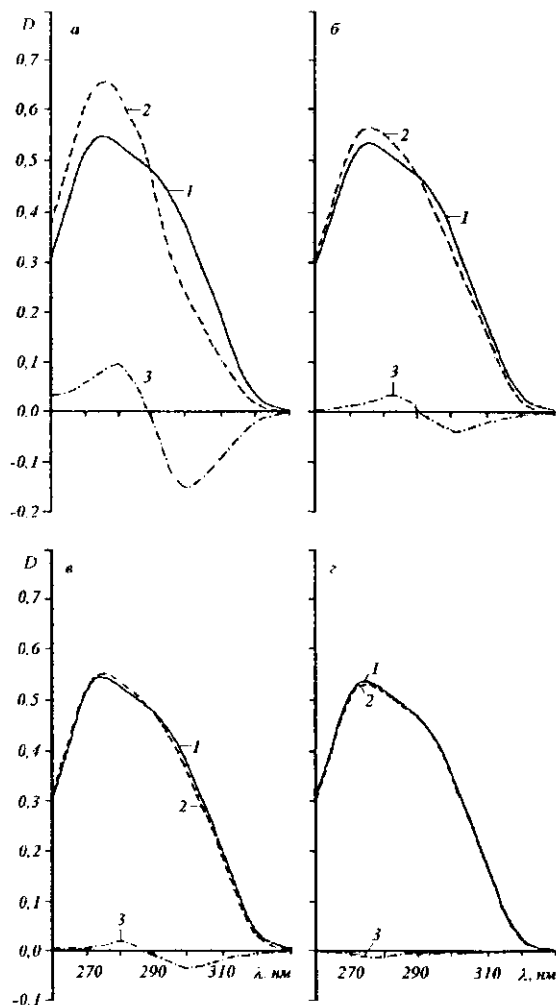


Рис. 5. УФ спектри поглинання в ДМСО: а — $m^3\text{Ade}$ (1), його суміші з ас-Asp (2) і ДС (3); б — $m^3\text{Ade}$ (1), його суміші з ас-Glu (2) і ДС (3); в — $m^3\text{Ade}$ (1), його суміші з ас-Gly (2) і ДС (3); г — $m^3\text{Ade}$ (1), його суміші з NaAc (2) і ДС (3). Концентрація основ 0,5 мМ, лігандів — 5 мМ

зміну його електронної будови. Характер і величина зміни УФ спектра $m^3\text{Ade}$ при додаванні ас-Asp (рис. 5, а) нагадують зміни спектра $m^3\text{Ade}$ при переході до катіонної форми в кислих рН (табл. 1), що однозначно свідчить на користь протонування $m^3\text{Ade}$ при утворенні комплексу з нейтральною карбоксильною групою. При цьому величина ДС

суміші $m^3\text{Ade}$ (рис. 5, а—в) падає в ряду ас-Asp > ас-Glu > ас-Gly. Взаємодія $m^3\text{Ade}$ з ас-Asp може відбуватися за двома схемами (рис. 2, в), котрі відрізняються місцем протонування основи (N1 або N7).

Взаємодії $m^3\text{Ade}$ з карбоксилат-іоном не спостерігалось (рис. 5, г).

Висновки. 1. Подібність УФ спектрів поглинання Ade, $m^9\text{Ade}$, A та dA, а також $m^6\text{Ade}$ та $m^6\text{A}$, вказує на те, що в безводному ДМСО Ade та $m^6\text{A}$ існують переважно у вигляді таутомерів N9H. Оскільки $m^9\text{Ade}$, A та dA є структурно зафіксованими внаслідок заміщення таутомерами N9H, для котрих експериментально встановлено відсутність будь-якої взаємодії з депротонованою карбоксильною групою (так само як і з нейтральною), то встановлена нами взаємодія Ade та $m^6\text{Ade}$ з карбоксилат-іоном свідчить на користь утворення комплексів через два водневі зв'язки із залученням одного амінопротона та імінопротона N7H. Тобто взаємодія Ade з депротонованою карбоксильною групою провокує таутомерний перехід N9H → N7H.

2. Суттєва зміна УФ спектрів $m^1\text{Ade}$, $m^1\text{A}$ та $m^3\text{Ade}$ в порівнянні з незаміщеною основою обумовлена настільки кардинальною перебудовою структури пуринового кільця внаслідок заміщення, що змінюється навіть характер взаємодії вказаних похідних у порівнянні з канонічною основою. А саме, вони втрачають здатність взаємодіяти з карбоксилат-іоном (на противагу до Ade) та набувають нової властивості утворювати з нейтральною карбоксильною групою амінокислот сильні комплекси з перенесенням протона вздовж міжмолекулярного водневого зв'язку від амінокислоти до основи. Враховуючи протонно-акцепторні властивості $m^1\text{Ade}$ і $m^3\text{Ade}$, можна припустити, що впізнання ферментами репарації алкілованих аденінів у пошкоджених ДНК і РНК відбувається з участю недисоційованих бічних радикалів Asp і Glu.

Автори щиро вдячні панові Д. М. Говорунові за участь в обговоренні результатів при підготовці матеріалу статті до публікації.

А. В. Степанюгин, И. Н. Коломисц, С. А. Самойленко

Влияние метилирования и взаимодействия с карбоксильной группой аминокислот на УФ спектры пуриновых нуклеотидных оснований и нуклеозидов в диметилсульфоксиде. I. Аденин

Резюме

Изучены УФ спектры поглощения в ДМСО аденина, аденозина и ряда их метилпроизводных. Значительные изменения в УФ спектре аденина при метилировании в положениях 1 и 3, а также аденозина в положении 1 отражают существенную перестройку пуринового кольца аденина. Установлено, что Ade и $m^3\text{Ade}$ образуют комплексы с депротонированной кар-

боксильной группой аминокислот (карбоксилат-ионом) посредством двух Н-связей с вовлечением аминогруппы и иминогруппы N7H, причем таутомерный переход N9H → N7H инициируется именно взаимодействием с карбоксилат-ионом. Значительное изменение УФ спектров *m* Ade, *m* A и *m* Ade при взаимодействии с нейтральной карбоксильной группой аминокислот интерпретировано как результат переноса протона с аминокислоты на основание.

A. V. Stepanyugin, I. M. Kolomiets, S. P. Samijlenko

Influence of methylation and interactions with amino acid carboxylic group on UV spectra of purine nucleotide bases and nucleosides in dimethylsulfoxide. 1. Adenine

Summary

UV absorption spectra of adenine, adenosine and a number of their methyl derivatives were studied in DMSO. Essential changes in adenine UV spectra under methylation at positions 1 and 3, as well as in adenosine at position 1, reflect significant rebuilding of adenine purine ring. Ade and *m* Ade were shown to form complexes with deprotonated amino acid carboxylic group (carboxylate-ion) through two H-bonds involving amino group and the N7H imino group, the N9H → N7H tautomeric transition is therewith initiated just by interaction with carboxylate-ion. Substantial changes in *m* Ade, *m* A and *m* Ade UV spectra under interactions with neutral amino acid carboxylic group are interpreted as a result of proton transfer from amino acid to bases.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Schwartz A. W., Baker C. G. Was adenine the first purine? // *Science*.—1989.—245, N 4922.—P. 1102—1104.
- Говорун Д. М. Про мікроструктурне походження викривленості лінійної ДНК // *Доп. НАН України*.—1998.—№ 5.—С. 189—195.
- Говорун Д. М. Структурно-динамічна модель спонтанних напіврозкритих станів ДНК // *Біополімери і клітина*.—1997.—13, № 1.—С. 39—45.
- Зарудна М. І., Говорун Д. М. Структурні переходи в поліаденіловій кислоті. Можливі молекулярні механізми функціонування полі(А)-хвостів мРНК // *Доп. НАН України*.—1998.—№ 12.—С. 155—160.
- Danilov V. I., Pechenaya V. I., Zheltovsky N. V. Electronic absorption and emission spectra of nucleic acids and their components: some questions of theory and experiment // *Int. J. Quant. Chem.*—1980.—17, N 2.—P. 307—320.
- Морозов Ю. В., Бажулина Н. П. Электронное строение, спектроскопия и реакционная способность молекул.—М.: Наука, 1989.—288 с.
- Говорун Д. М. Структурна ізомерія азотистих основ: розрахунок методом AM1 // *Біополімери і клітина*.—1997.—13, № 2.—С. 127—134.
- Рубин Ю. В., Рубина А. Ю., Сорокин В. А. Квантово-механическое изучение катионов оснований нуклеиновых кислот // *Біофіз. вісник*.—1998.—В. 1.—С. 50—56.
- Радченко Е. Д., Плохотниченко А. М., Шеина Г. Г., Благой Ю. П. Инфракрасные и электронно-колебательные спектры аденина и его замещенных в матрице аргона // *Біофізика*.—1984.—29, № 6.—С. 553—559.
- Plochocka D., Rabczenko A., Davies D. Intramolecular hydrogen bonding and molecular conformations of nucleosides. N(6)Dimethyl-2', 3'-isopropylidene adenosine // *Biochim. et biophys. acta*.—1977.—476.—P. 1—15.
- Lakshman M., Lehr R. E. Solvent dependent changes in the proton NMR spectra of 2'-deoxyadenosine and its derivatives // *Nucleosides and Nucleotides*.—1992.—11.—P. 1039—1046.
- Kierdaszuk B., Johansson C., Drakenberg T., Stolarski R., Shugar D. Mechanism of hydroxylamine mutagenesis: role of tautomerism, conformation and proton exchange on base pairing between the promutagen N6-methoxyadenosine and uridine // *Biophys. Chem.*—1993.—46.—P. 207—215.
- Etter M. C., Reutzel S. M., Choo C. G. Self-organization of adenine and thymine in solid state // *J. Amer. Chem. Soc.*—1993.—115.—P. 4411—4412.
- Arakawa E. T., Emerson L. C., Juan S. I., Ashley J. C., Williams M. W. The optical properties of adenine from 1.8 to 80 eV // *Photochem. Photobiol.*—1986.—44.—P. 349—353.
- Slowikowska J. M., Wozniak K. Influence of hydrogen bonding on the geometry of adenine fragment // *J. Mol. Struct.*—1996.—374.—P. 327—337.
- Tselepi-Kalouli E., Katsaros N. Ruthenium (III) ion complexes with nucleic acid bases and nucleosides // *J. Inorg. Biochem.*—1988.—34.—P. 63—74.
- Разношинский А. И., Щербо С. Н., Южаков В. И. Электронная структура и спектрально-люминесцентные свойства некоторых метилированных пуринов // *Журн. физ. химии*.—1990.—64, № 5.—С. 1266—1272.
- Nowak M. J., Lapinski L., Kwiatkowski J. S., Leszczynski J. Molecular structure and infrared spectra of adenine. Experimental matrix isolation and density functional theory of adenine 15N isotopomers // *J. Phys. Chem.*—1996.—100, N 9.—P. 3527—3534.
- Nowak M. J., Lapinski L., Kwiatkowski J. S. An infrared matrix isolation study of tautomerism in purine and adenine // *Chem. Phys. Letts.*—1989.—157, № 1, 2.—P. 14—18.
- 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.
- Maes G., Schoone K., Houben L., Smets J., Adamowicz L. Combined matrix-isolation FT-IR and *ab initio* 6—31++G** studies on tautomeric properties of nucleic acid bases and simpler model molecules // *Book of Abstracts of XXII Congr. on Mol. Spectrosc.* (Balatofured, 25—26 August 1996).—Balatofured, 1996.—P. 315.
- Schoone K., Houben L., Smets J., Adamowicz L., Maes G. Matrix-isolation FT-IR and *ab initio* 6—31++G** study of 1-CH₃-adenine tautomerism // *Spectrochim. acta*.—1996.—52.—P. 383.
- Lin J., Yu C., Peng S., Akiyama I., Li K., Lee L.K., LeBreton P. R. Ultraviolet photoelectron studies of the ground-state electronic structure and gas-phase tautomerism of purine and adenine // *J. Amer. Chem. Soc.*—1980.—102.—P. 4627—4631.
- Brown R. D., Godfrey P. D., McNaughton D. D., Pierlot A. A study of the major gas-phase tautomer of adenine by microwave spectroscopy // *Chem. Phys. Letts.*—1989.—156.—P. 61—63.
- Бородавкин А. В., Бударский Э. И., Морозов Ю. В. и др. Спектральные свойства и электронные структуры нейтральных и ионных форм компонентов нуклеиновых кислот. III. Аденин и его производные.—Москва: ВИНТИ, 1974.—№ 1436—74 Деп.—28 с.
- Handbook of Biochemistry and Molecular Biology. Nucleic Acids* / Ed. G. D. Fasman.—Boca Raton: CRC press, 1986.—Vol. 1.—637 p.
- Handbook of Biochemistry and Molecular Biology. Nucleic Acids* / Ed. G. D. Fasman.—Boca Raton: CRC press, 1986.—Vol. 2.—923 p.

- Acids / Ed. G. D. Fasman.— Boca Raton: CRC press, 1986.— Vol. 2.—923 p.
28. Маслова Р. Н., Лесник Е. А., Варшавский Я. М. Кинетика и механизм $^3\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$ обмена в С8Н-группах производных пурина // Молекуляр. биология.—1975.—9, № 2.— С. 310—320.
29. Baumruk V., Poliacsek I., Prosser V., Stepanek J. Protonation of adenine and its derivatives in aqueous solution: a Raman study // Spectroscopy of Biological Molecules. State of the Art / Eds A. Bertoluzza, S. Fagnano, P. Monti.—Bologna: Esculario, 1989.—P. 207—208.
30. Thrierr C., Leng M. A study of methylated polyadenylic acid // Eur. J. Biochem.—1971.—19.—P. 135—142.
31. Chasland J., Viet N. T. P., Jacques M. St., Beauchamp A. L. Multinuclear NMR study of the disproportionation and syn/anti isomerism in solution of amino-substituted methylmercury derivatives of adenine and 9-methyladenine // J. Amer. Chem. Soc.—1985.—107, N 26.—P. 8202—8211.
32. Samijlenko S. P., Kolomiets I. M., Kondratyuk I. V., Stepanyugin A. V. Model considerations on physico-chemical nature of protein-nucleic acid contacts through amino acid carboxylic groups: spectroscopic data // Biopolimery i kletka.—1998.—14, N 1.—P. 47—53.
33. Писоваров В. Б., Рева И. Д., Степаньян С. Г., Шешна Г. Г., Благой Ю. П. Изучение иминоформы 1-метиладенина в криоматрице аргона и в растворах методом ИК спектроскопии // Биофизика.—1995.—40, № 6.—С. 1178—1188.

УДК 577.33.336:577.323.36
Надійшла до редакції 02.06.99