



УДК 547.857.7.03 : 541.651

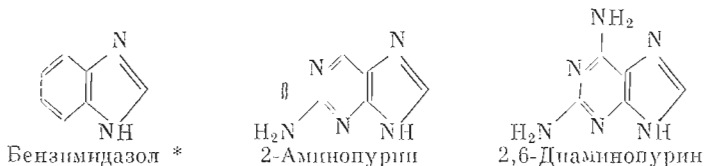
## КИСЛОТНО-ОСНОВНЫЕ И ТАУТОМЕРНЫЕ РАВНОВЕСИЯ, УФ-СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ЭЛЕКТРОННОЕ СТРОЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ПУРИНОВЫХ АНАЛОГОВ НУКЛЕИНОВЫХ ОСНОВАНИЙ

*Бажулина Н. П., Морозов Ю. В., Савин Ф. А.,  
Федорова Л. И., Чехов В. О.*

*Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва*

С помощью математической обработки УФ-спектров поглощения, измеренных при различных значениях pH, определены кислотно-основные и таутомерные равновесия для бензимидазола, 2-аминопурина и 2,6-диаминопурина. Для всех ионных и таутомерных форм исследованных соединений проведены квантово-химические расчеты их электронного строения и спектров поглощения. Результаты расчетов находятся в хорошем соответствии с экспериментальными данными.

2-Аминопурин, 2,6-диаминопурин и бензимидазол, являясь аналогами пуриновых компонентов нуклеиновых кислот, обладают разнообразной биологической активностью. Так, нуклеозиды на их основе обладают двойственной функциональной специфичностью в системах матричного синтеза полинуклеотидов, имитируя оба пуриновых основания [1–3], участвуют в ряде ферментативных реакций в качестве аналогов аденозина [4] и т. д. Кроме того, эти соединения благодаря их спектроскопическим свойствам могут быть использованы при исследовании структуры и функций нуклеиновых кислот и белков, при изучении взаимодействия нуклеиновых кислот с белками, конформационных переходов в полинуклеотидах и т. п. [4].



Однако физико-химические свойства этих соединений, в частности их кислотно-основные и таутомерные равновесия, изучены недостаточно подробно, что весьма затрудняет интерпретацию результатов, полученных с этими соединениями.

В связи с этим настоящая работа посвящена исследованию спектроскопических свойств рассматриваемых соединений, их электронной структуры и кислотно-основных равновесий.

Рассмотрение суммарных спектров поглощения исследованных соединений позволяет заключить, что для бензимидазола и 2-аминопурина в изученном интервале pH имеются три ионные формы: катион, нейтральная молекула и анион, а для 2,6-диаминопурина — четыре: к указанным выше формам добавляется дикатион.

За исключением бензимидазола, индивидуальные спектры поглощения ионных форм рассматриваемых соединений, по-видимому, весьма сложны и представляют собой суперпозицию спектров поглощения одновременно существующих в растворе различных, но одинаково заряженных таутомеров (рис. 1). Это же замечание, естественно, относится и к значениям

\* Нумерация атомов в молекуле бензимидазола для удобства сравнения принята аналогичной пуринам.

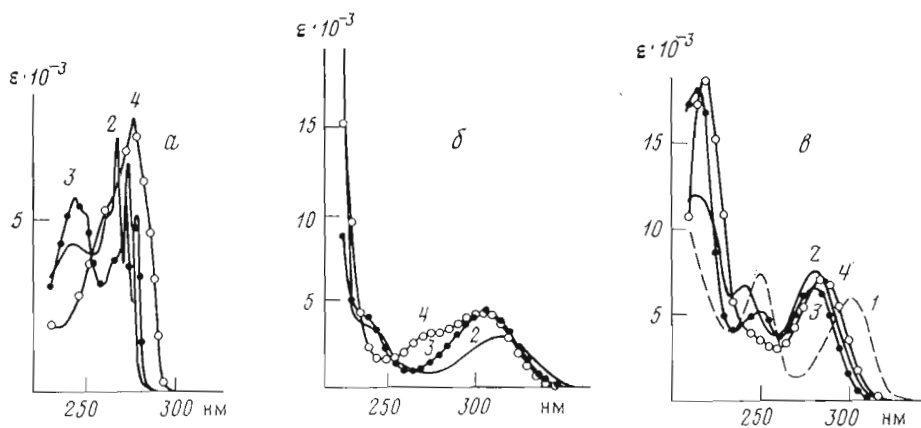


Рис. 1. Индивидуальные спектры поглощения ионных форм бензимидазола (а), 2-аминопурина (б), 2,6-диаминопурина (в). 1 — дикатион, 2 — катион, 3 — нейтральная молекула, 4 — анион

$pK_a$  (табл. 1), так как в случае его справедливости представленные значения  $pK_a$  являются эффективными.

Полученные нами значения  $pK_a$  разумно согласуются с известными из литературы (см. табл. 1), а некоторые расхождения могут быть связаны с тем, что в цитированных работах обработка спектроскопической информации производилась ручным способом, и, кроме того, с возможностью небольших расхождений в экспериментальных условиях. Литературные значения  $pK_a$ , взятые из работы [4], получены для нуклеозидов, являющихся производными 2-аминопурина и 2,6-диаминопурина. Это исключает существование таутомеров с депротонированным N9-атомом и может сместить остальные равновесия.

Прежде чем перейти к обсуждению кислотно-основных и таутомерных равновесий, следует отметить, что для бензимидазола в силу особенности его строения отсутствует прототропная таутомерия; это существенно упрощает схему его кислотно-основных равновесий. Как видно из рис. 1а, в спектрах поглощения бензимидазола проявляется колебательная структура. Этот факт, а также то обстоятельство, что теория предсказывает для катиона и нейтральной молекулы бензимидазола два близких электронных перехода (см. табл. 2), отстоящих друг от друга примерно на такое же расстояние, как и колебательные полосы, весьма затрудняют сопоставление эксперимента и теории. Достоверно можно утверждать лишь то, что наиболее длинноволновые полосы поглощения у катионов и нейтральных молекул достаточно близки, а у анионов эта полоса смещена в сторону больших длин волн. Из сопоставления эксперимента с теорией можно также заключить, что экспериментально наблюдаемые полосы поглощения соответствуют, по-видимому,  $\pi\pi^*$ -переходам, так как  $\pi\pi^*$ -переходы для нейтральных молекул и анионов должны, согласно теории, проявляться в более коротковолновой области.

Перейдем теперь к рассмотрению кислотно-основных и таутомерных равновесий 2-амино- и 2,6-диаминопурина (схемы 1 и 2). Так как значения энергий первых электронных переходов у прототропных таутомеров N7—Н и N9—Н весьма близки (см. работу [5] и табл. 3 и 4) и разделить их из спектроскопических и квантово-химических соображений не представляется возможным, на схемах равновесий изображены только таутомеры N9—Н, но следует иметь в виду, что они находятся в равновесии с таутомерами N7—Н.

Из приведенных схем по энергетическим соображениям, кроме структур IV, VI, XII, XV, XIX и XX, исключены все другие возможные имино-таутомеры по второму положению. Дело в том, что проведенные нами спектроскопические и квантово-химические исследования компонентов нуклеиновых кислот [8] и их аналогов [9] показали, что для положения

Величины  $pK_a$  для исследованных соединений

Вещество	$pK_1$	$pK_2$	$pK_3$
Аденин	-0,01 [5]	4,19 [5]	9,63 [5]
2-Амипопури	—	3,92 3,4* [4]	9,58
2,6-Диаминопури	-0,02 <1,0 [6]	5,02 5,4* [4] 5,09 [6] 5,05 [7]	11,00 10,77 [6] 10,7 [7]
Бензимидазол	—	5,33 5,3 [7]	12,94 12,4 [7]

\* Данные получены на соответствующих рибонуклеозидах.

Таблица 2

Теоретические значения энергий электронных переходов ( $E$ , эВ)  $\pi\pi^*$ -типа, силы осцилляторов ( $f$ ) и значения энергий переходов типа  $n\pi^*$  для ионных форм бензимидазола

Форма		$E_1$	$E_2$	$E_3$	$E_{n\pi^*}$
Катион	$E$	4,76	4,87	5,91	—
	$f$	0,08	0,06	0,49	—
Нейтральная молекула	$E$	4,82	4,96	6,39	6,12
	$f$	0,03	0,06	0,70	0,02
Анион	$E$	4,39	4,59	6,02	6,13
	$f$	0,07	0,03	0,21	

наиболее длинноволновой полосы поглощения ( $E_1$ ) расхождение между экспериментом и теорией в подавляющем большинстве случаев менее 0,3 эВ. В то же время для всех исключенных структур (9 для 2-аминопурина и 12 для 2,6-диаминопурина) теория предсказывает положения полос поглощения, соответствующих  $E_1$ -переходу, существенно меньшие наблюдаемых экспериментально. Как правило, величина  $\Delta E$  (разница между экспериментальными и теоретически рассчитанными значениями) заметно превышает 0,3 эВ.

В табл. 5 приведены величины  $Z_\sigma$  на атомах N1, N3, N7 и N9. Из рассмотрения могут быть также исключены следующие формы 2,6-диаминопурина: подобная гуанину нейтральная молекула с протоном у N3-, а не у N1-атома (XIII) ( $Z_\sigma$  на атоме N1 анионов заведомо меньше, чем на атоме N3); аденино- и гуаниноподобные молекулы, протонированные по атому N3 (для структур XIVa, б  $Z_\sigma$  на атоме N1 меньше, чем на атоме N3, а для структур XIIIa, б  $Z_\sigma$  на атомах N7 и N9 также меньше, чем на атоме N3); наконец, адениноподобный дикатион, но с протоном не у N1-атома (VIII), а у N3-атома (величина  $Z_\sigma$  на атомах N7 и N9 меньше, чем на атоме N3).

Наконец, из соображений аналогии с кислотно-основными и таутомерными равновесиями аденина, гуанина и ксантина [5] из рассматриваемых схем можно исключить: подобные аденину дикатион с протонированными атомами N1 и N3 и катион с протонированным имидазольным ядром (это согласуется также и со значениями  $Z_\sigma$  (см. табл. 5)); гуаниноподобные анионы N1—H и N3—H с депротонированным имидазольным ядром и аналогичные ксантину анионы, но с депротонированным атомом N1. Существование этих анионов и по энергетическим соображениям не очень хорошо согласуется с экспериментом. Аналогичные соображения были

Теоретические и экспериментальные значения энергий электронных переходов ( $E$ , эВ), величины сил осцилляторов ( $f$ ), расчетные значения положения полос поглощения  $E_{n\pi^*}$ , а также радиационные времена жизни ( $\tau_0$ , нс) для переходов  $S_1 \rightarrow S_0$ , определенные экспериментально, для ионных форм 2-аминопурина. Значения символов «\*», «~», «а» и «б» объяснены в тексте

Параметры	Катион									
	Ia		Iб		IIa		IIб		III	
	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$
$E_{расч}$	4,18	4,94	4,34	4,87	4,54	5,18	4,60	5,21	4,51	5,23
$E_{эксп}$	3,94	5,15 *	3,94	5,15 *	~4,59	5,15 *	~4,59	5,15 *		
$f_{расч}$	0,17	0,11	0,16	0,07	0,21	0,02	0,34	0,02	0,26	0,06
$f_{эксп}$	0,13	0,15 *	0,13	0,15 *	~0,13	0,15 *	~0,13	0,15 *		
$\tau_0$	11,43	—	11,43	—	8,42	—	8,42	—		
$E_{n\pi^*}$	4,69	5,85	4,72	5,84	5,07	6,22	5,26	6,45	4,38	5,88
	Нейтральные молекулы									
	IVa		IVб		Va					
	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$				
$E_{расч}$	3,98	5,25	3,78	5,57	4,72	5,19				
$E_{эксп}$	4,05	5,18 *	4,05	5,18 *	~4,93	5,18 *				
$f_{расч}$	0,20	0,35	0,25	0,03	0,21	0,09				
$f_{эксп}$	0,21	0,10 *	0,21	0,10 *	~0,21	0,10 *				
$\tau_0$	6,70	—	6,70	—	4,52	—				
$E_{n\pi^*}$	4,65	5,20	4,69	5,18	4,39	5,59				
	Анионы									
	Vб		VI		VII					
	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$				
$E_{расч}$	4,69	5,21	4,00	4,88	4,33	4,74				
$E_{эксп}$	~4,93	5,18 *	4,08	5,12 *	4,60	5,12 *				
$f_{расч}$	0,18	0,03	0,28	0,07	0,11	0,05				
$f_{эксп}$	~0,21	0,10 *	0,25	0,04 *	0,25	0,04 *				
$\tau_0$	4,52	—	5,54	—	4,36	—				
$E_{n\pi^*}$	4,40	5,75	4,86	5,60	4,25	5,39				

нами использованы и при анализе возможных ионных и таутомерных форм 2-аминопурина (более подробно см. ниже).

Таким образом, на основании сопоставления спектроскопического эксперимента и теории, а также по аналогии с известными свойствами пуриновых компонентов нуклеиновых кислот удается с достаточно высокой степенью надежности исключить из рассмотрения более 30 структур.

На рис. 2 и 3 приведены разложения индивидуальных спектров поглощения различных ионных форм 2-амино- и 2,6-диаминопурина на полосы, соответствующие отдельным электронным переходам, а в табл. 3 и 4 суммированы теоретические и экспериментальные значения положений полос поглощения  $E_1$  и  $E_2$ , величины сил осцилляторов ( $f_1$  и  $f_2$ ), расчетные значения  $E_{n\pi^*}$ , а также радиационные времена жизни ( $\tau_0$ ) для переходов  $S_1 \rightarrow S_0$ , определенные из эксперимента. Индекс «\*» относится к таким полосам поглощения, которые являются суперпозицией близких полос поглощения одинаково заряженных, но различных таутомеров; знак «~» перед некоторыми значениями в таблицах указывает на то, что эти полосы в силу их малой интенсивности и большого перекрывания с соседними полосами определены менее надежно. Буквы «а» и «б» около римских цифр, обозначающих структуры, относятся соответственно к таутомерам N9—H и N7—H.

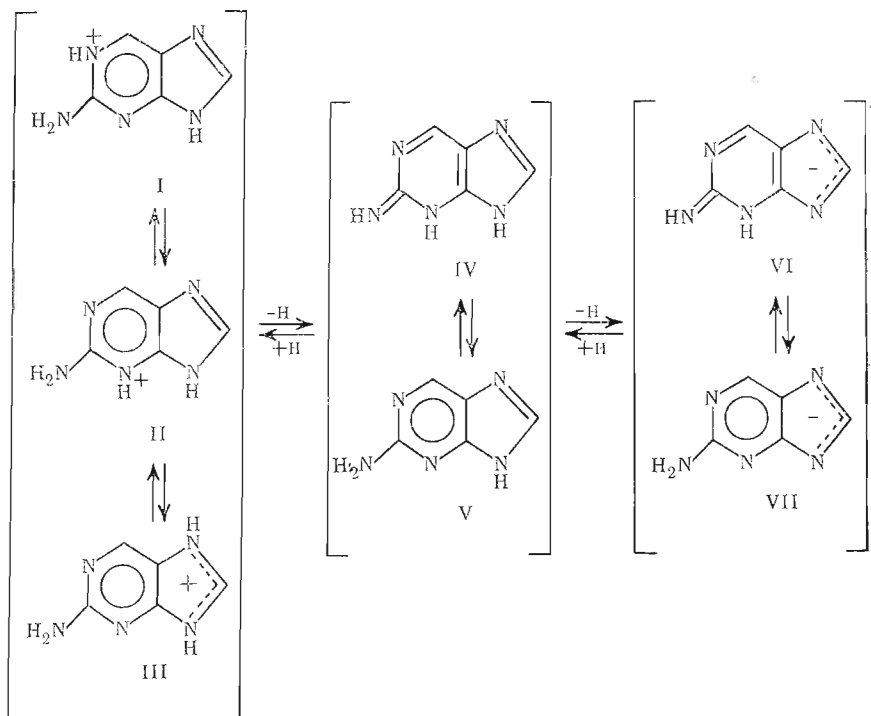
Теоретические и экспериментальные значения энергий электронных переходов ( $E$ , эВ), величины сил осцилляторов ( $f$ ), расчетные значения  $E_{н.л.}$ , а также радиационные времена жизни ( $\tau_0$ , нс) для переходов  $S_1 \rightarrow S_0$ , определенные экспериментально, для ионных форм 2,6-диаминопурина

Параметры	Дикатионы				Катионы							
	VIII		IX		Xa		Xб		XI		XII	
	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$
$E_{расч}$	4,43	5,24	4,48	5,13	4,35	4,95	4,44	5,07	4,41	4,52	4,63	4,86
$E_{эксп}$	4,11	4,96			4,40 *	5,13 *	4,40 *	5,13 *	4,40 *	4,40 *	4,40 *	5,13 *
$f_{расч}$	0,29	0,35	0,07	0,44	0,26	0,29	0,27	0,05	0,18	0,42	0,37	0,18
$f_{эксп}$	0,18	0,27			0,29 *	0,21 *	0,29 *	0,21 *	0,29 *	0,29 *	0,29 *	0,21 *
$\tau_0$	7,63	—			4,11 *	—	4,11 *	—	4,11	—	4,11	—
$E_{н.л.}$	5,53	6,27	4,52	7,30	5,27	5,76	5,27	5,79	4,92	6,25	4,64	5,27
Нейтральные молекулы												
	XIIIa		XIIIб		XIVa		XIVб		XVa		XVб	
	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$
$E_{расч}$	4,34	5,10	4,49	5,07	4,89	5,12	4,80	5,29	5,01	5,48	4,86	5,80
$E_{эксп}$	4,41	5,03 *	4,41	5,03 *	5,03 *	~5,53	5,03 *	~5,53	5,03 *	~5,53	5,03 *	~5,53
$f_{расч}$	0,28	0,40	0,18	0,46	0,23	0,15	0,18	0,05	0,32	0,39	0,35	0,25
$f_{эксп}$	0,23	0,16 *	0,23	0,16 *	0,16 *	~0,09	0,16 *	~0,09	0,16 *	~0,09	0,16 *	~0,09
$\tau_0$	5,16	—	5,16	—	5,71	—	5,71	—	5,71	—	5,71	—
$E_{н.л.}$	4,81	5,66	4,96	5,69	4,89	5,65	4,86	5,82	4,73	5,71	5,13	5,69
Анионы												
	XVIa		XVIб		XVII		XVIIIa					
	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$				
$E_{расч}$	4,44	4,91	4,48	4,87	4,52	4,87	4,55	4,73				
$E_{эксп}$	4,35 *	5,19 *	4,35 *	5,19 *	4,35 *	5,19 *	4,35 *	5,19 *				
$f_{расч}$	0,28	0,17	0,18	0,26	0,18	0,01	0,29	0,48				
$f_{эксп}$	0,25 *	0,23 *	0,25 *	0,23 *	0,25 *	0,23 *	0,25 *	0,23 *				
$\tau_0$	4,88	—	4,88	—	4,88	—	4,88	—				
$E_{н.л.}$	4,79	5,01	5,37	5,49	4,64	5,46	5,16	5,97				
Анионы												
	XVIIIб		XIX		XX							
	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$	$E_1$	$E_2$						
$E_{расч}$	4,10	5,20	4,84	5,22	4,35	5,25						
$E_{эксп}$	4,35 *	5,19 *	4,35 *	5,19 *	4,35 *	5,19 *						
$f_{расч}$	0,30	0,27	0,34	0,28	0,25	0,06						
$f_{эксп}$	0,25 *	0,23 *	0,25 *	0,23 *	0,25 *	0,23 *						
$\tau_0$	4,88	—	4,88	—	4,88	—						
$E_{н.л.}$	5,58	5,85	4,99	6,11	5,35	5,95						

Анализ данных, представленных на этих рисунках и в таблицах, позволяет сделать ряд заключений.

Для всех рассматриваемых ионных и таутомерных форм 2-амино- и 2,6-диаминопурина, за исключением структуры Ib, для наиболее длинноволновых полос поглощения расхождение между экспериментом и теорией не превышает 0,27 эВ.

Для катионов 2-аминопурина доминирующей в растворах является, по-видимому, структура Ia. Структура Ib может быть, наверное, исключена как по уже озвучившимся энергетическим соображениям, так и исходя из соотношения сил осцилляторов  $f_1$  и  $f_2$ . Для структуры Ia теория

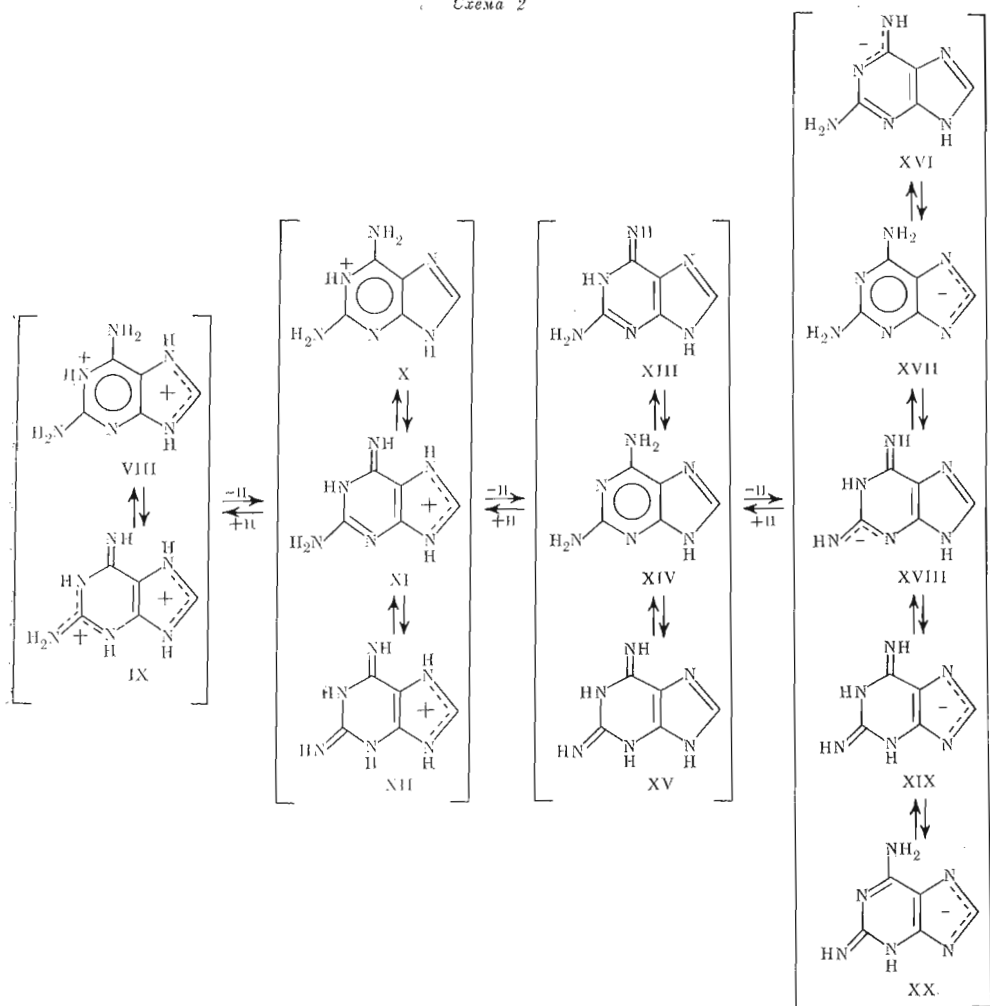


предсказывает, что первые две полосы поглощения являются по интенсивности средними [5], что соответствует эксперименту. В то же время для структуры Ib теория предсказывает, что первая полоса поглощения должна быть средней, а вторая — слабой, что плохо согласуется с имеющимися экспериментальными данными (см. рис. 2a). Структуры II и III присутствуют в растворах лишь в малых количествах, при этом, судя по величинам  $Z_{\sigma}$  (табл. 5), структура III существенно менее вероятна.

Нейтральные молекулы 2-аминопурина существуют в растворах преимущественно в виде иминотаутомеров, причем исходя из соотношения  $f_1$  и  $f_2$  (см. табл. 3) более вероятно существование таутомера N9—H. Анионы 2-аминопурина существуют в растворе в виде равновесной смеси двух таутомеров VI и VII. Примерное соотношение между ними (7:3) было определено в предположении, что силы осцилляторов наиболее длинноволновых полос одинаково заряженных таутомеров примерно равны, что, например, имеет место для моноанионов урацила и тимина [5]. Тем не менее предположение остается предположением, и поэтому приведенное соотношение является лишь оценочным.

Дикатионы 2,6-диаминопурина присутствуют в растворах, по всей вероятности, главным образом в виде структуры VIII. Структура IX, для которой теория предсказывает очень слабую первую полосу поглощения и сильную — вторую, если и существует в растворе, то лишь в незначительных количествах. Катионы 2,6-диаминопурина также присутствуют в растворах преимущественно в виде адениноподобной структуры X; при этом, исходя из сопоставления экспериментальных значений  $f_1$  и  $f_2$ , можно полагать, что наличие в растворе структуры Xa существенно более вероятно, чем структуры Xб. Мы не можем исключить из рассмотрения структуры XI и XII, однако сопоставление эксперимента и теории (спектральное положение первых полос поглощения и их силы осцилляторов) позволяет предполагать, что их содержание в растворе невелико.

Доминирующей формой для нейтральных молекул 2,6-диаминопурина будет гуаниноподобная структура XIII, для которой в соответствии с расчетом первая и вторая полосы поглощения должны иметь средние значения сил осцилляторов ( $0,1 < f < 0,6$ ). Формы XIV и XV, наиболее длинно-



волновые полосы поглощения которых лежат в спектральной области, примерно соответствующей второй полосе поглощения формы XIII, могут, видимо, присутствовать в растворах в небольших количествах, так как в противном случае их процентное содержание было бы существенным и для формы XIII из эксперимента мы получили бы  $f_1 \gg f_2$ .

Наиболее сложная и, пожалуй, самая неопределенная картина имеет место в случае анионов 2,6-диаминопурина. Из сопоставления эксперимента с теорией следует, что наиболее вероятно полагать присутствие в растворе гуанино- и адениноподобных анионов XVI и XVII. В то же время, исходя из энергетических соображений, нельзя исключить структуру XX с той лишь оговоркой, что аналогичные структуры не наблюдались ранее. Ксантиноподобные анионы XVIII и XIX, по-видимому, маловероятны. Так, для структуры XVIII предсказывается  $f_1 < f_2$ , а для структуры XIX наиболее длинноволновая полоса поглощения может вносить вклад лишь во вторую полосу (см. рис. 3з).

Закапчивая рассмотрение спектроскопических свойств 2-амино- и 2,6-диаминопурина, отметим, что все рассмотренные полосы поглощения — полосы  $\pi\pi^*$ -типа. В соответствии с теорией для подавляющего большинства форм  $\pi\pi^*$ -переходы являются более коротковолновыми. Однако для структур III и V они более длинноволновые, но экспериментально мы их не наблюдаем.

Рассмотрим электронное строение изучаемых молекул. В основном состоянии для всех ионных форм экзоциклические аминогруппы и входящие

Таблица 5

Распределение зарядов  $\sigma$ -электронного остова ( $Z_{\sigma}$ ) на атомах азота  
у 2-аминопурина и 2,6-диаминопурина

Соединение	Форма	Структура	N1	N3	N7	N9	
2-Аминопурин	Нейтральные молекулы	IVa	1,011	—	1,027	—	
		IVб	1,009	—	—	1,039	
		Va	0,992	1,015	1,022	—	
		Vб	0,997	1,014	—	1,020	
	Анионы	VI	1,007	—	0,986	0,992	
		VII	0,972	0,981	0,986	0,973	
2,6-Диаминопурин	Катионы	Xa	—	1,073	1,049	—	
		Xб	—	1,075	—	1,060	
	Нейтральные молекулы	XIIIa	—	1,063	1,020	—	
		XIIIб	—	1,064	—	1,017	
		XIVa	1,009	1,028	1,013	—	
		XIVб	1,013	1,026	—	1,020	
	Анионы	XVIa	0,995	1,025	0,986	—	
		XVIб	0,983	1,026	—	0,982	
		XVII	0,985	0,989	0,977	0,972	

в состав циклов группы NH заряжены положительно, экзоциклические группы NH и непротонированные атомы азота — отрицательно. На атомах C2, C4, C6 и C8 заряды положительные и имеют, как правило, заметную величину. Почти для всех ионных форм атом C5 заряжен отрицательно.

Электронное строение большинства рассматриваемых ионных форм приблизительно аналогично таковому для соответствующих ионных форм природных оснований нуклеиновых кислот. Так, электронная структура форм I, V и VII 2-аминопурина аналогична строению катиона, нейтральной формы и аниона аденина [5]. Для 2,6-диаминопурина строение форм VIII, X, XIV и XVII сходно со строением дикатиона, катиона, нейтральной формы и аниона аденина соответственно. Формы XI, XVI и XIII сходны с соответствующими ионными формами гуанина, в то время как формы XII, XV и XIX — с соответствующими формами ксантина. Поэтому качественные данные по электронной структуре этих форм рассматриваемых молекул можно получить, зная электронную структуру соответствующих оснований нуклеиновых кислот [5]. Что касается форм II, III, IV, VI 2-аминопурина и IX, XVIII, XX 2,6-диаминопурина, то они не имеют аналогов среди распространенных таутомеров ионных форм нуклеиновых оснований. Среди этих форм лишь структуры IV и VI представляют интерес, так как остальные формы, по-видимому, присутствуют в растворах лишь в относительно небольших количествах. При переходе этих молекул в нижние возбужденные синглетные или триплетные  $\pi\pi^*$ -состояния возбуждение локализуется в основном на молекулярном фрагменте N1—C6. Переходы  $\pi\pi^*$ -типа локализованы в основном на атоме N1. Эти фрагменты молекул IV и VI можно считать потенциально фотореакционноспособными.

Так как производные рассматриваемых аналогов природных нуклеиновых оснований проявляют активность в системах матричного синтеза полинуклеотидов, имитируя производные природных пуриновых оснований, необходимо выяснить, как связана электронная структура этих соединений с их функциональной специфичностью. В соответствии с данными работы [10] функциональную специфичность аналогов природных нуклеиновых оснований в матричном синтезе полинуклеотидов можно предсказать, зная две особенности их электронного строения: знак электростатического потенциала, создаваемого молекулой в области экзоциклического заместителя в положении 6, и величину полного заряда на атоме азота, связанном с N-гликозидным центром, который может быть «пиримидиновым» или «пуриновым», а также иметь промежуточные значения. Расчеты показывают, что полный заряд на этом центре у всех рассматриваемых молекул имеет величину, характерную для пуриновых оснований, и они должны проявлять в системах матричного синтеза полинуклеотидов пуриновую



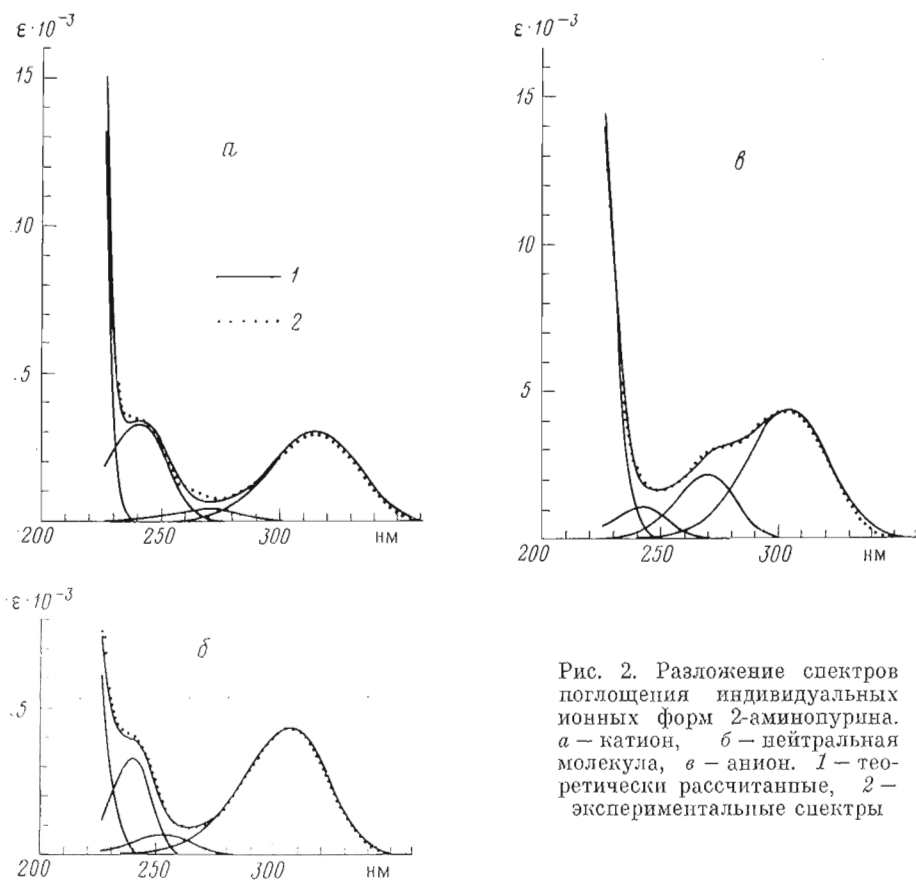


Рис. 2. Разложение спектров поглощения индивидуальных ионных форм 2-аминопурина. *а* — катион, *б* — нейтральная молекула, *в* — анион. 1 — теоретически рассчитанные, 2 — экспериментальные спектры

специфичность. Аминотаутомеры нейтральных форм 2,6-диаминопурина по положению *б* имеют в указанной выше области положительное значение электростатического потенциала, а иминотаутомеры — отрицательное. Согласно предложенной в работах [10, 11] гипотезе, первые из них должны проявлять адениновую, а вторые — гуаниновую специфичность. Нейтральные формы 2-аминопурина и бензимидазола, у которых заместитель в положении *б* отсутствует, имеют значение электростатического потенциала в указанной области, близкое к нулю, что соответственно данным работ [10, 11] должно вести к двойственной функциональной специфичности этих молекул в системах матричного синтеза полинуклеотидов. Эти предсказания согласуются с экспериментальными данными [1–3].

### Экспериментальная часть

В работе использовались бензимидазол (Союзреактив), 2-аминопурин и 2,6-диаминопурин (Calbiochem). Исследуемые соединения дважды перекристаллизовывались и были хроматографически гомогенными. В качестве растворителя использовали деионизованную воду.

Ионная сила растворов в интервале рН 1,0–13,0 была постоянной и равной 0,1 М. Концентрация исследуемых веществ не превышала  $10^{-4}$  М. Значения рН изменяли путем добавления к нейтральному водному раствору микроколичеств HCl или NaOH марки ос. ч. Изменение при этой операции концентраций растворов учитывали в дальнейшем при математической обработке спектроскопических данных. Величины рН определяли с точностью  $\pm 0,05$  ед. рН.

Спектры поглощения измеряли на двухлучевом регистрирующем спектрофотометре «EPS-3T» фирмы Hitachi в термостатируемых кюветах при температуре  $25 \pm 1^\circ \text{C}$  в интервале рН 1,0–14,0. Для 2,6-диаминопурина,

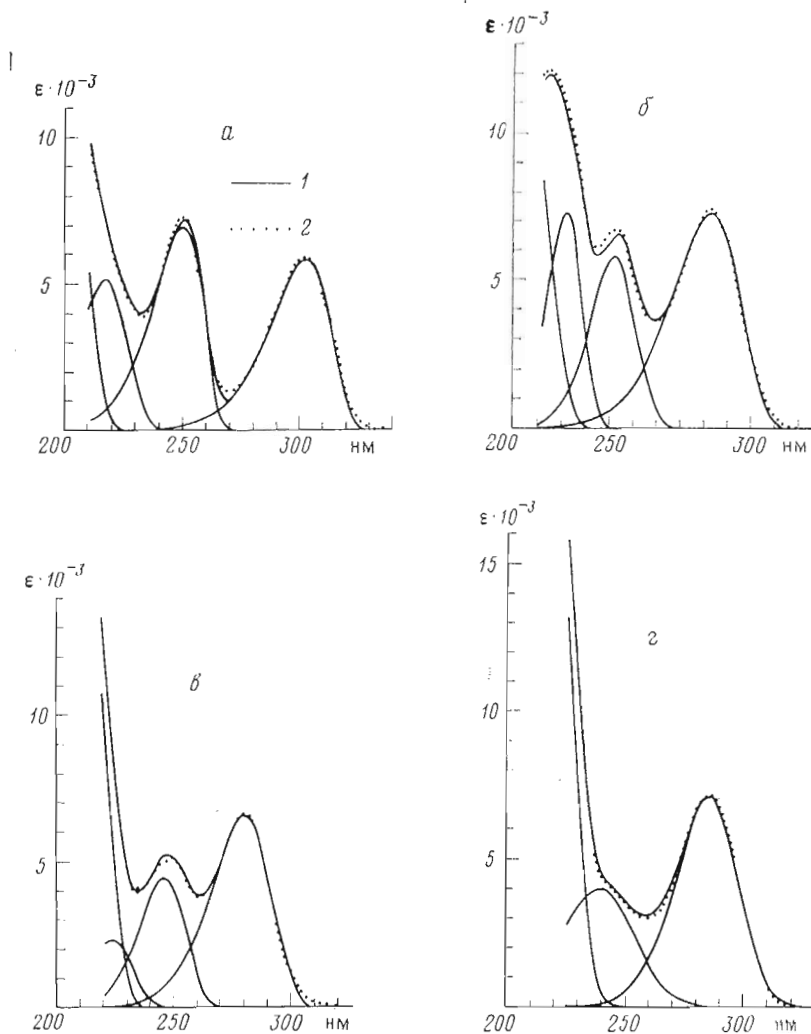


Рис. 3. Разложение спектров поглощения индивидуальных ионных форм 2,6-диаминопурина. *a* — дикатион, *б* — катион, *в* — нейтральная молекула, *г* — анион. 1 — теоретически рассчитанные, 2 — экспериментальные спектры

у которого имеется переход с  $pK_a$  в области, близкой к нулю [6], спектры поглощения измеряли также в растворах HCl вплоть до 5,0 М.

Индивидуальные спектры поглощения различных ионных форм и величины  $pK_a$  переходов между этими формами определяли, исходя из суммарных спектров поглощения исследованных соединений, измеренных при различных значениях pH, с помощью программы, алгоритм которой детально описан в [12].

Спектры поглощения ионных форм рассматриваемых соединений были разложены на полосы, соответствующие отдельным электронным переходам, с помощью программы, приведенной в работе [13], и с учетом физических критериев для подобных разложений [5]. В случае бензимидазола, в спектрах поглощения которого проявляется колебательная структура, подобное разложение не проводилось.

Квантово-химические расчеты электронной структуры и спектров рассматриваемых соединений производились в приближении CNDO/S [14]. Геометрия бензимидазола была взята из работы [15]. При расчетах для 2-аминопурина, а также amino- и иминотаутомеров по второму положению 2,6-диаминопурина брали геометрию аденина [16], но в зависимости от того, какой таутомер рассчитывался, менялась длина связи атома C2 с

экзоциклическим атомом азота. При расчетах аминок- и иминотаутомеров по положению 6 для аминокформ использовали геометрию аденина, а для иминоформ — гуанина [16]; при этом длина связи атома С6 с экзоциклическим атомом соответственно изменялась.

При определении таутомерного состава (имеются в виду прототропные таутомеры) рассматриваемых соединений в растворах была использована корреляция между распределением электронной плотности на протон-акцепторных атомах азота, находящихся в кольцевой структуре и связанных с двумя атомами углерода, и вероятностью протонирования этих атомов. В работе [17] было показано, что чем меньше (отрицательнее) заряд  $\sigma$ -электронного остова ( $Z_{\sigma}$ ), т. е. чем выше плотность  $\sigma$ -электронов на атомах такого типа, тем выше, как правило, и вероятность протонирования этих атомов. При равных значениях  $Z_{\sigma}$  для двух или более атомов азота существенную роль для оценки положения наиболее вероятного протонирования может играть полный заряд на атомах. Эту корреляцию можно понять, если предположить, что с  $\sigma$ -электронной плотностью на атоме коррелирует вероятность связывания протона, так как образование ковалентной  $\sigma$ -связи N—H при протонировании происходит именно за счет  $\sigma$ -электронов. В то же время полные заряды на атомах в определенной мере связаны с вероятностью атаки этих атомов протонами. Следует иметь в виду, что даже малая разность порядка 0,01 в значении  $Z_{\sigma}$  для различных атомов может оказаться значимой, так как диапазоны изменения значений  $Z_{\sigma}$  для атомов рассматриваемого типа вообще невелики [5].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Seiler J. P. Mutation Res., 1972, v. 15, № 3, p. 273–276.
2. Seiler J. P. Mutation Res., 1973, v. 17, № 1, p. 21–25.
3. Rogan E. G., Bessman M. J. J. Bacteriol., 1970, v. 103, № 3, p. 622–633.
4. Ward D. C., Reich E., Stryer L. J. Biol. Chem., 1969, v. 244, № 5, p. 1228–1237.
5. 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. Итоги науки и техники. Молекулярная биология. М.: ВИНТИ, 1977, т. 14, 228 с.
6. Калинин Ф. Л., Лобов В. П., Жидков В. А. Справочник по бioxимии. Киев: Наук. думка, 1971, с. 202.
7. Børresen H. Chr. Acta chem. scand., 1963, v. 17, № 4, p. 921–929.
8. Savin F. A., Morozov Yu. V., Borodavkin A. V., Chekhov V. O., Budowsky E. I., Simukova N. A. Int. J. Quant. Chem., 1979, v. 16, № 4, p. 825–831.
9. Borodavkin A. V., Chekhov V. O., Dolin Yu. S., Morozov Yu. V., Savin F. A., Budowsky E. I., Yakovlev D. Yu. Int. J. Quant. Chem., 1980, v. 17, № 4, p. 802–811.
10. Чехов В. О., Будовский Э. И., Морозов Ю. В., Савин Ф. А. Молекулярн. биология, 1979, т. 13, № 3, с. 497–508.
11. Morozov Yu. V., Savin F. A., Chekhov V. O., Budowsky E. I. Studia Biophys., 1980, v. 81, № 2/3, p. 57–58.
12. Morozov Yu. V., Savin F. A. In: Nucleic acid chemistry. Improved and new synthetic procedures, methods and techniques. Part II/Eds Townsend L. B., Tipson R. S. N. Y.: Wiley & Sons, 1978, p. 1009–1035.
13. Siano D. B., Metzler D. E. J. Chem. Phys., 1969, v. 51, № 5, p. 1856–1861.
14. Del Bene J., Jaffé H. H. J. Chem. Phys., 1968, v. 48, № 4, p. 1807–1813.
15. Escande A., Galigne J. L. Acta crystallogr., 1974, v. B30, № 6, p. 1647–1648.
16. Spenser M. Acta crystallogr., 1959, v. 12, № 1, p. 59–65.
17. Савин Ф. А. Электронная структура некоторых биологически активных соединений и ее взаимосвязь с их физико-химическими свойствами. Автореф. дис. на соискание уч. ст. докт. физ.-матем. наук. М.: Институт молекулярной биологии АН СССР, 1980, 36 с.

Поступила в редакцию 4.V.1984

#### ACID-BASE AND TAUTOMERIC EQUILIBRIA, UV-SPECTRAL PROPERTIES AND ELECTRONIC STRUCTURE OF SOME PURINE ANALOGUES OF NUCLEIC BASES

BAZHULINA N. P., MOROZOV Yu. V., SAVIN F. A., FEDOROVA L. I., CHEKHOV V. O.

*Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

The benzimidazole, 2-aminopurine and 2,6-diaminopurine acid–base and tautomeric equilibria are determined using mathematical treatment of their UV-absorption spectra measured at different pH values. Electronic structure and spectra of all the ionic and tautomeric species studied are calculated by the quantum chemical method CNDO/S. A good agreement is found between the theoretical and experimental data.