

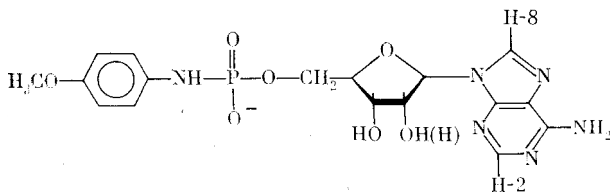
С. В. ЗЕНИН

**О ПРИРОДЕ РАЗЛИЧИЯ ДЕЗОКСИРИБО- И РИБОПРОИЗВОДНЫХ  
АДЕНОЗИНФОСФАТОВ ПО ДАННЫМ ЯДЕРНОГО  
МАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА**

(Представлено академиком Н. Н. Семеновым 25 XII 1974)

Метод ядерного магнитного резонанса (я.м.р.) успешно применяется для установления различия во взаимном расположении соседних оснований фрагментов ДНК и РНК (<sup>1</sup>). Однако причина изменения расположения оснований нуклеотидов при замене протона на гидроксильную группу в 2'-положении рибозы остается невыясненной (<sup>1</sup>, <sup>2</sup>).

При изучении внутримолекулярных комплексов нуклеотидами, стабилизированных взаимодействием между ароматическими системами, оказалось возможным при помощи метода я.м.р. детально исследовать внутримолекулярные превращения и получать данные о геометрии комплекса (<sup>3</sup>). В настоящей работе по данным я.м.р. произведено сравнение внутримолекулярных процессов, происходящих в рибо- (<sup>3</sup>, <sup>4</sup>) и дезоксирибопроизводных молекулы аденилил-(5'-N)-*n*-анизидина (аниз-рА и аниз-дрА):



Спектры я.м.р. записывали на приборе XL-100 «Вариан». В качестве растворителя использовали дейтерированную воду (99,6%). Дезоксиаденилил-(5'-N)-*n*-анизидин\* хроматографически чистый. Во всех опытах концентрация аниз-дрА в D<sub>2</sub>O при рD 6,4 составляла 6·10<sup>-3</sup> М. Выбор концентрации обусловлен необходимостью исключения межмолекулярных взаимодействий (<sup>3</sup>). При выбранном значении рD не происходит ионизации каких-либо групп молекулы (<sup>3</sup>). Температуру изменяли от 28 до 80°. Точность измерения температуры (при помощи температурного стандарта — этиленгликоля) составляла 1°. Точность измерения химического сдвига относительно внутреннего стандарта (третичного бутилового спирта) в данных опытах составляла ±0,1 гц.

На рис. 1 приведены зависимости величин химических сдвигов протонов различных групп аниз-дрА от температуры. При рассмотрении полученных данных следует учитывать, что для нуклеотидной части молекулы существует собственная температурная зависимость химических сдвигов, связанная с переходом син — анти (<sup>5</sup>). Для расчета характеристик внутримолекулярных процессов в аниз-дрА использовали наибольшие изменения

\* Автор признателен Б. В. Тяглову за предоставление вещества и помощь в работе.

величин химического сдвига, наблюдаемые для протонов кольца анизида и группы  $\text{OCH}_3$ . Обработка полученных зависимостей в соответствии с приведенной в работе (4) методикой показывает, что экспериментальные данные удовлетворяют схеме внутримолекулярного процесса  $\text{M} \rightleftharpoons \text{M}_{\text{св}}$ . Изменение энтальпии ( $\Delta H$ ), энтропии ( $\Delta S$ ) и химических сдвигов ( $\Delta_0$ ) при образовании комплекса определяются по соответствующим графикам (рис. 2, 3). Тангенс угла наклона прямой на рис. 2 равен  $\Delta H/R$ , а отрезок,

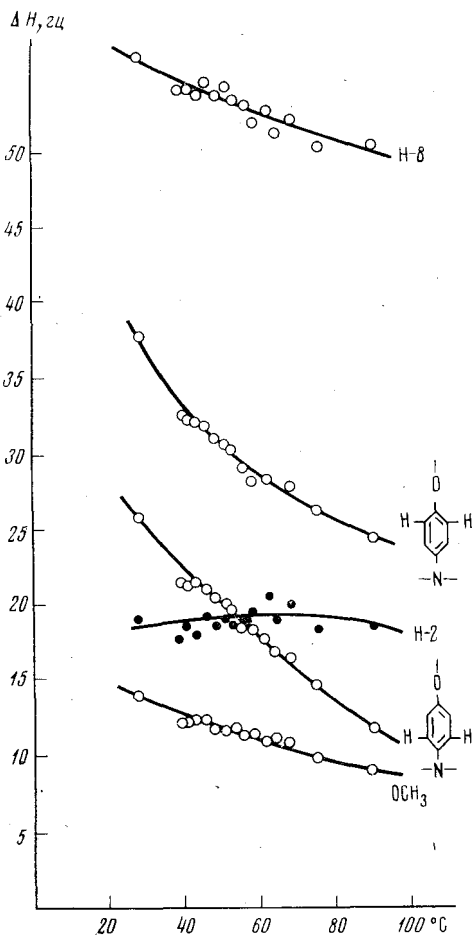


Рис. 1. Зависимости величин изменения наблюдаемых химических сдвигов ( $\Delta H$ ) протонов отдельных групп дезоксиаденилил-(5'-N)-л-анизида в  $\text{D}_2\text{O}$  (pD 6,4) от температуры ( $^{\circ}\text{C}$ ).  $\Delta H = \delta_H - \delta_M$ ,  $\delta_M$  — химический сдвиг протонов отдельных групп метилового эфира фосфоанизида ( $\delta_{\text{OCH}_3} = 255,5$  гц,  $\delta_{\text{орто}} = 570,5$  гц,  $\delta_{\text{мета}} = 573,5$  гц) или протонов Н-2 и Н-8 дезоксиаденозин-5'-фосфата ( $\delta_{\text{H-2}} = 724,8$  гц,  $\delta_{\text{H-8}} = 757$  гц)

донорно-акцепторных взаимодействий. При гидрофобном взаимодействии ароматические циклы стремятся к максимальному перекрыванию, т. е. в большинстве случаев располагаются почти параллельно (6).

Существенным различием молекул аниз-рА и аниз-дрА, согласно данным по изучению температурных зависимостей величин химических сдвигов, является дополнительный процесс внутримолекулярного преобра-

отсекаемый на оси абсцисс,  $1/\Delta_0$ . Тангенс угла наклона прямой на рис. 3 равен  $-\Delta H/R$ , а отрезок, отсекаемый на оси ординат,  $\Delta S/R$ . Получено, что  $\Delta H = -3,4 \pm 0,4$  ккал/моль,  $\Delta S = -9,8 \pm 1$  э.е. Данные значения позволяют рассчитать константы равновесия при различных температурах. Согласно величине константы равновесия, при  $T = 28^{\circ}$  ( $K = 2$ ) в свернутом состоянии находится 67% молекул.

Рассмотрение термодинамических характеристик внутримолекулярного комплексообразования позволяет предложить механизм свертывания. Отрицательные величины изменения энтальпии и энтропии свидетельствуют о преимущественном участии донорно-акцепторных взаимодействий в стабилизации данного комплекса. Согласно геометрической модели аниз-рА (3), расположение плоскостей аденина и анизида в комплексе близко к взаимно перпендикулярному, причем кольцо анизида расположено над атомом кислорода рибозного цикла. Поэтому следует предположить, что полученные величины  $\Delta H$  и  $\Delta S$  относятся к взаимодействию атома кислорода рибозы с  $\pi$ -электронами анизида. В этом случае становится понятным факт необычного расположения ароматических систем в аниз-рА, которое обусловлено, с одной стороны, непосредственным соединением анизидинового кольца с фосфоамидной связью, что ограничивает свободу перемещения в комплексе, а с другой стороны — наличием указанных

зования в аннз-рА, которое, как указывалось в работе (4), вероятно, связано с образованием водородной связи ( $\Delta H = -3,3$  ккал/моль). Поскольку к этому различию приводит появление ОН-группы в 2'-положении рибозы, то, очевидно, следует полагать образование водородной связи  $N_{(3)} \dots H-O-C_{(2')}$ , стабилизирующей адениновый цикл в несколько отличном от анти расположении. Подобное образование водородной связи могло быть и в молекуле АМФ. Однако температурные зависимости величин

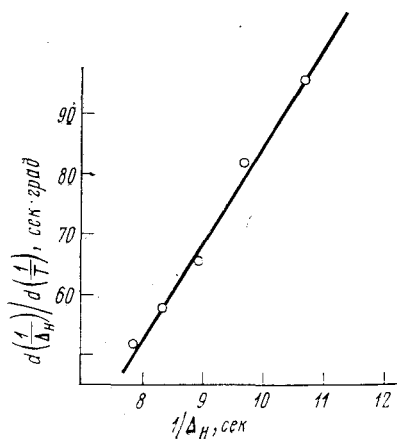


Рис. 2

Рис. 2. Определение изменения энтальпии и величины химического сдвига протонов ОСН<sub>3</sub>-группы дезоксиадезил-л-(5'-N)-n-апизидина при образовании внутримолекулярного комплекса (по оси ординат отложены абсолютные значения)

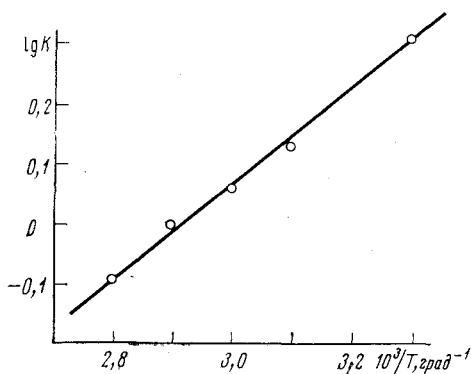


Рис. 3

Рис. 3. Определение изменения энтальпии и энтропии образования внутримолекулярного комплекса дезоксиадезил-л-(5'-N)-n-апизидина

химических сдвигов протонов Н-2 и Н-8, полученные при исследовании перехода син — анти, не показывают наличия этого процесса (об этом свидетельствует справедливость уравнений (3) и (5) в работе (5)). Данные факты свидетельствуют о том, что в отличие от свободного подхода молекул воды к атому  $N_{(3)}$  и протону группы  $HO-C_{(2')}$  в АМФ появление гидрофобного ароматического цикла апизидина вблизи этих центров образования водородной связи с растворителем затрудняет подход к ним молекул воды и способствует образованию внутримолекулярной водородной связи  $N_{(3)} \dots HO-C_{(2')}$ .

Обнаружение подобного факта образования дополнительных внутримолекулярных связей позволяет сформулировать возможную роль  $C_{(2')}$ —ОН-группы рибозы при образовании вторичных структур, стабилизированных стэкинг-взаимодействием. Вероятно, изменение гидрофобности вблизи оснований нуклеотидов приводит к изменению процессов гидратации различных центров молекулы и дает возможность осуществляться внутримолекулярным образованиям водородной связи, которые не могли происходить из-за конкурирующего взаимодействия активных мест связывания с молекулами растворителя.

Московский государственный университет  
им. М. В. Ломоносова

Поступило  
10 XII 1974

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> N. S. Kondo, K. N. Fang et al., *Biochemistry*, v. 11, 1991 (1972). <sup>2</sup> K. N. Fang, N. S. Kondo et al., *J. Am. Chem. Soc.*, v. 93, 6647 (1971). <sup>3</sup> С. В. Зенин, Б. В. Тяглов и др., *Молекулярная биол.*, т. 8, 331 (1974). <sup>4</sup> С. В. Зенин, Г. Б. Сергеев, *ЖФХ*, т. 48, 838 (1974). <sup>5</sup> С. В. Зенин, *ДАН*, т. 217, 615 (1974). <sup>6</sup> M. P. Schweizer, A. D. Broom et al., *J. Am. Chem. Soc.*, v. 90, 1042 (1968).