



УДК 539.194

© 2009

Академік НАН України Л. А. Булавін, Т. Ю. Ніколаєнко,  
член-кореспондент НАН України Д. М. Говорун

## Структурна нежорсткість молекули ортофосфорної кислоти: неемпіричне квантово-механічне дослідження

*Квантово-механічним методом функціонала густини вперше досліджено структурно-динамічні особливості молекули ортофосфорної кислоти. Охарактеризовано повне сімейство її конформерів, проаналізовано три топологічно і енергетично нееквівалентні шляхи переходу між ними. Розглянуто процес внутрішньомолекулярного перегрупування перенесенням протона. Досліджено вплив вибору базисного набору на одержувані результати.*

Ортофосфорна кислота (ОФК)  $\text{H}_3\text{PO}_4$  є елементарною структурною ланкою біологічно важливої макромолекули ДНК і відіграє ключову роль у визначенні її функціонально важливих конформаційних станів [1]. Це, зокрема, зумовлює значний інтерес до ґрунтовного вивчення особливостей просторової будови молекули ОФК. Експериментальні дані щодо геометричної будови молекули ОФК у вільному стані в літературі відсутні, а квантово-механічні дослідження у цій області поодинокі і виконані на невисоких рівнях теорії [2].

У даній роботі з використанням сучасних методів неемпіричної квантової механіки ми вперше виявили і охарактеризували всі стабільні конформаційні стани молекули ОФК, дослідили механізми їх взаємного перетворення, а також внутрішньомолекулярного перегрупування шляхом переносу протона; проаналізували вплив вибору базисного набору на одержувані результати.

**Об'єкт і методи дослідження.** Конформація молекули ОФК характеризується трьома торсійними кутами  $\tau_1$ ,  $\tau_2$  і  $\tau_3$  ( $-180 < \tau_i \leq 180$ ,  $i = \overline{1,3}$ ), які визначають орієнтацію трьох атомів водню гідроксильних груп (рис. 1).

Пошук усіх можливих стабільних конформерів молекули ОФК проводили наступним чином. Спочатку можливі значення кожного з кутів  $\tau_1$ ,  $\tau_2$  і  $\tau_3$  обмежували множиною  $\{gouche + (+60^\circ), gouche - (-60^\circ), trans (180^\circ)\}$ , що призводить до 27 можливих комбінацій їх значень — досліджуваних конформерів. Потім з цього набору було вилучено значення, що відповідають симетрично еквівалентним молекулам, які переходять одна в одну при повороті навколо осі O=P на  $120^\circ$ . У результаті цього одержано 11 стартових конформерів. Їх

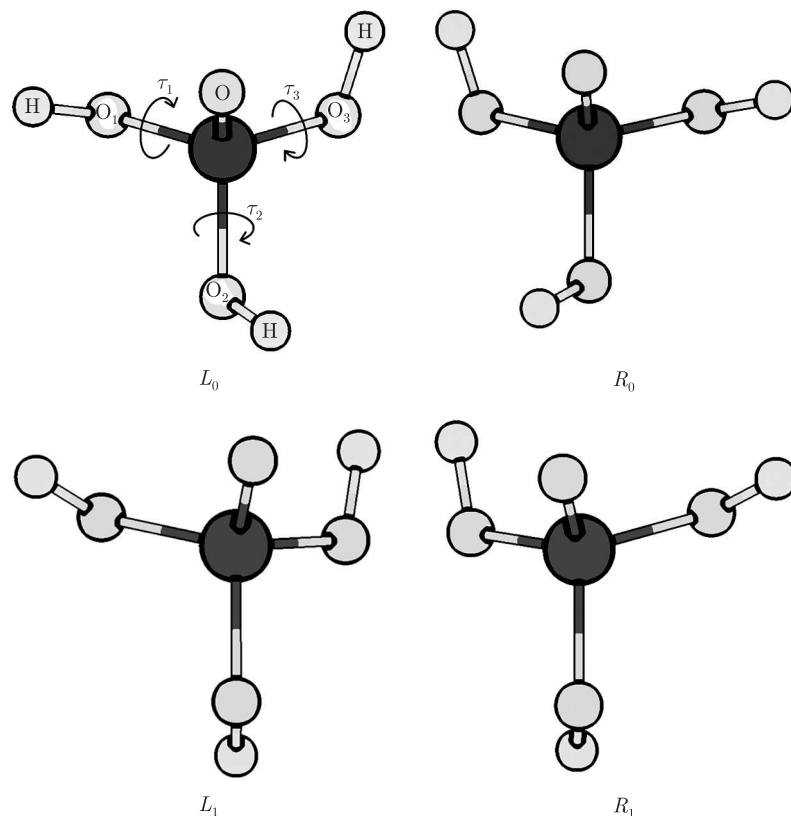


Рис. 1. Усі можливі конформери молекули ортофосфорної кислоти (квантово-механічний розрахунок на рівні теорії DFT B3LYP/6-311G(2df,pd))

геометрії було оптимізовано без будь-яких структурних обмежень за допомогою програмного пакету “Gaussian 03” для платформи Win32 [3] на різних рівнях теорії DFT. Коливальні спектри розраховували у гармонійному наближенні: ці дані використовували, по-перше, для того, щоб переконатися, що оптимізовані конформери відповідають мінімумам на гіперповерхні потенційної енергії (лише у цьому випадку в спектрі відсутні так звані уявні частоти) і, по-друге, — для знаходження коливального доданку в енергії Гіббса кожного конформера.

**Результати та їх обговорення.** В результаті оптимізації геометрії нами одержано дві пари дзеркально-симетричних (“правих” ( $R$ ) і “лівих” ( $L$ )) конформерів молекули ОФК (див. рис. 1). Структурні параметри, найнижчі частоти нормальних коливань і відносні енергії Гіббса цих конформерів наведено в табл. 1.

Ці дані підтверджують дзеркальну симетрію досліджуваних конформерів, що дозволяє нам обмежитися розглядом лише одного (правого) сімейства. Воно утворене двома конформерами ( $R_0$  і  $R_1$ ), енергії Гіббса яких за нормальних умов відрізняються на 1,1 ккал/моль. Особливістю “високо енергетичного” конформера  $R_1$  є значний дипольний момент (3,3D); у конформера  $R_0$  він на порядок менший (0,4D).

Відсутність інших стабільних конформерів молекули ОФК було перевірено шляхом “збурень” (довільних змін торсійних кутів  $\tau_1$ ,  $\tau_2$ ,  $\tau_3$  на  $\pm 30^\circ$ ) конформерів  $R_0$  і  $R_1$  і подальшої їхньої оптимізації. В результаті цього процесу нових конформерів одержано не було, а тому вищезгадані структури (див. рис. 1) складають повне сімейство конформерів молекули ОФК.

З даних табл. 1 випливає, що енергія Гіббса конформера  $R_0$  нижча, порівняно з  $R_1$ , а тому існує принципова можливість конформаційного переходу  $R_1 \rightarrow R_0$ . Методом QST2 в пакеті Gaussian 03 нами було локалізовано перехідний стан (в табл. 1 його позначено як  $TS_{R_0 \rightarrow R_1}$ ) переходу  $R_1 \rightarrow R_0$  і визначено його енергію Гіббса:  $\Delta\Delta G = \Delta G_{TS} - \Delta G_{R_1} = 0,2$  ккал/моль (величина бар'єра переходу). Порівняно мале значення  $\Delta\Delta G$  вказує на те, що як за нормальних умов, так і при 0 К (тоді  $\Delta\Delta G = 0,1$  ккал/моль) конформер  $R_1$  є динамічно нестійким.

Розглянемо детальніше властивості конформера  $R_0$ .

**Вплив базисного набору.** У різних сполуках конфігурація валентних електронів атома фосфору істотно відрізняється (валентна електронна оболонка має конфігурацію  $3s^2 3p^3$ ). Відтак, слід очікувати залежності одержуваних у результаті процесу оптимізації геометрії структурних параметрів від обраного базисного набору при використанні того ж самого функціонала DFT B3LYP.

Для її аналізу, використавши як початкові геометрії конформерів  $R_0$  і  $R_1$ , оптимізовані на рівні теорії DFT B3LYP/6-31G(d,p), провели їх подальшу оптимізацію з використанням різних базисних наборів.

Одержані структурні параметри конформера  $R_0$  та різниці енергій Гіббса конформерів  $R_0$  та  $R_1$  наведено в табл. 2. Ці дані свідчать, що розкид значень довжин хімічних зв'язей не перевищує 0,01 Å, валентних кутів —  $2^\circ$ , торсійних кутів —  $3^\circ$ . Суттєвішими

Таблиця 1. Структурно-динамічні параметри конформерів молекули ортофосфорної кислоти (розрахунок на рівні теорії MP2/6-311G(2df,pd) // DFT B3LYP/6-311G(2df,pd))

Структурні параметри		Конформер				
		$L_0$	$R_0$	$L_1$	$R_1$	$TS_{R_0 \rightarrow R_1}$
Довжини хімічних зв'язків, Å	OP	1,463	1,464	1,458	1,458	1,461
	PO <sub>1</sub>	1,592	1,592	1,605	1,605	1,599
	PO <sub>2</sub>	1,592	1,592	1,587	1,595	1,600
	PO <sub>3</sub>	1,592	1,592	1,595	1,587	1,588
	O <sub>1</sub> H	0,965	0,965	0,965	0,965	0,965
	O <sub>2</sub> H	0,965	0,965	0,965	0,964	0,964
	O <sub>3</sub> H	0,965	0,965	0,964	0,965	0,963
Валентні кути, град	OPO <sub>1</sub>	116,1	116,1	114,2	114,2	113,4
	OPO <sub>2</sub>	116,1	116,1	113,8	118,6	117,1
	OPO <sub>3</sub>	116,1	116,1	118,6	113,8	116,2
	O <sub>1</sub> PO <sub>2</sub>	102,1	102,1	106,2	101,5	103,6
	O <sub>2</sub> PO <sub>3</sub>	102,1	102,1	100,8	100,8	100,2
	O <sub>3</sub> PO <sub>1</sub>	102,1	102,0	101,5	106,2	104,5
	PO <sub>1</sub> H	111,6	111,7	110,6	110,6	110,5
	PO <sub>2</sub> H	111,6	111,7	114,1	113,0	112,2
	PO <sub>3</sub> H	111,6	111,7	113,0	114,1	113,8
Торсійні кути, град	$\tau_1$	-35,0	34,9	-23,9	24,1	11,0
	$\tau_2$	-34,9	35,0	-175,0	50,5	30,2
	$\tau_3$	-34,8	35,1	-51,9	175,6	134,3
Дипольний момент, $D$	$p$	0,36	0,37	3,35	3,32	2,54
Найнижча частота нормального коливання, $\text{см}^{-1}$	$\nu_{\min}$	171,1	167,6	155,3	154,1	155,5 <sup>1</sup>
Енергія Гіббса <sup>2</sup> , ккал/моль	$\Delta G = G - G_{\min}$	0,00	0,00	1,13	1,13	1,35

<sup>1</sup> Перша дійсна частота.

<sup>2</sup> При  $p = 1$  атм і  $T = 298,15$  К;  $G_{\min}$  відповідає конформерові  $R_0$ .

Таблиця 2. Залежність структурних параметрів конформера  $R_0$  від використовуваного базисного набору (розрахунки на рівні теорії DFT B3LYP)

Структурні параметри		Базисний набір								
		4-31G(d)	6-31G(d,p)	6-311G(d,p)	6-311++G(d,p)	6-311G(2df,pd)	6-311++G(2df,pd)	cc-pVQZ	Aug-cc-pVQZ	
Довжини хімічних зв'язків, Å	OP	1,473	1,479	1,474	1,476	1,464	1,466	1,466	1,466	
	PO <sub>1</sub>	1,605	1,609	1,604	1,606	1,592	1,593	1,593	1,593	
	PO <sub>2</sub>	1,605	1,609	1,604	1,606	1,592	1,593	1,593	1,593	
	PO <sub>3</sub>	1,605	1,609	1,604	1,606	1,592	1,593	1,593	1,593	
	O <sub>1</sub> H	0,972	0,968	0,964	0,965	0,965	0,965	0,963	0,963	
	O <sub>2</sub> H	0,972	0,968	0,964	0,965	0,965	0,965	0,963	0,963	
	O <sub>3</sub> H	0,972	0,968	0,964	0,965	0,965	0,965	0,963	0,963	
	Валентні кути, град	OPO <sub>1</sub>	116,6	116,3	116,2	116,3	116,1	116,1	116,1	116,2
		OPO <sub>2</sub>	116,6	116,3	116,2	116,3	116,1	116,1	116,1	116,1
OPO <sub>3</sub>		116,7	116,3	116,2	116,3	116,1	116,1	116,1	116,2	
O <sub>1</sub> PO <sub>2</sub>		101,5	101,9	102,0	101,9	102,1	102,1	102,0	102,0	
O <sub>2</sub> PO <sub>3</sub>		101,4	101,9	102,0	101,9	102,1	102,1	102,0	102,0	
O <sub>3</sub> PO <sub>1</sub>		101,4	101,9	102,0	101,9	102,0	102,1	102,0	102,0	
PO <sub>1</sub> H		110,9	110,6	111,9	112,9	111,7	112,4	112,3	112,4	
PO <sub>2</sub> H		110,9	110,6	111,9	112,9	111,7	112,4	112,3	112,4	
PO <sub>3</sub> H		110,9	110,6	111,9	113,0	111,7	112,4	112,3	112,4	
Торсійні кути, град	$\tau_1$	35,2	35,3	35,8	38,2	34,9	34,7	33,4	33,0	
	$\tau_2$	35,3	35,4	35,9	38,1	35,0	34,8	33,5	33,0	
	$\tau_3$	35,5	35,6	36,1	38,3	35,1	35,0	33,6	33,2	
Дипольний момент, D	$p_{R0}$	0,02	0,09	0,13	0,37	0,37	0,45	0,46	0,48	
	$p_{R1}$	3,16	3,27	3,33	3,28	3,31	3,30	3,17	3,27	
Найнижча частота нормального коливання, см <sup>-1</sup>	$\nu_{\min,R0}$	153,4	148,6	169,1	173,7	167,6	163,3	160,2	162,4	
	$\nu_{\min,R1}$	162,7	140,6	179,6	198,3	154,1	198,3	144,1	147,6	
Енергія Гіббса, ккал/моль	$\Delta G = G_{R1} - G_{R0}$	0,84	1,03	1,01	0,81	1,07	0,95	0,89	0,91	

є відмінності дипольного моменту конформера  $R_0$  молекули ОФК: він монотонно зростає по мірі переходу до вищого базису (особливо при додаванні у базисний набір дифузних функцій).

Прийнявши результати обчислення  $\Delta G$  з базисним набором Aug-cc-pVQZ за найточніші, можна зробити висновок, що всі розглянуті базисні набори передають різниці енергій Гіббса з точністю  $\pm 0,1$  ккал/моль (причому набори 4-31G(d) і 6-311++G(d,p) занижують  $\Delta G$ , а 6-31G(d,p), 6-311G(d,p) і 6-311G(2df,pd) — завищують).

Порівняння з табл. 1 свідчить, що для базисного набору 6-311G(2df,pd) результат обчислення енергії Гіббса методом DFT B3LYP з точністю  $\pm 0,06$  ккал/моль збігається з результатом, одержаним на рівні теорії MP2/6-311G(2df,pd) при тій же геометрії.

Таким чином, для правильного передання геометричних параметрів (довжин в'язей і кутів) цілком достатньо базисного набору 6-31G(d,p); набори 6-311++G(d,p) та 6-311G(2df,pd) при помірних затратах машинного часу добре передають також і дипольний момент<sup>1</sup>, а на-

<sup>1</sup> Дипольний момент конформера  $R_0$ , обчислений на рівні теорії MP2/6-311G(2df,pd), становить 0,40D.

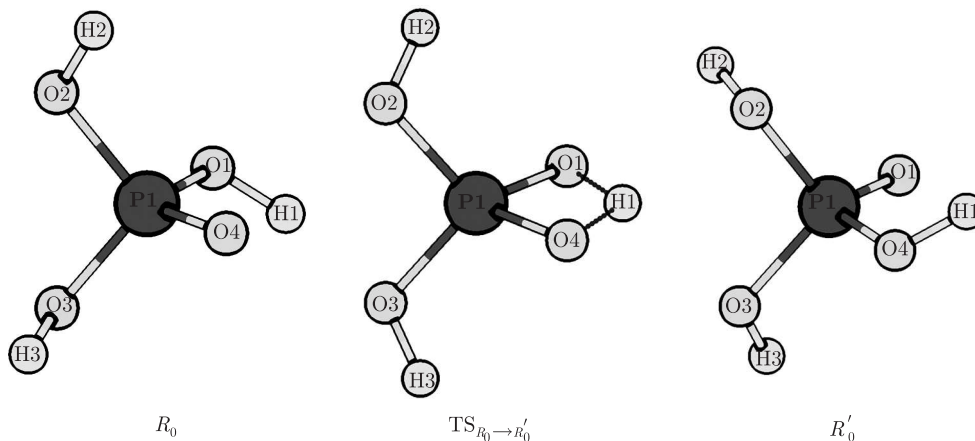


Рис. 2. Процес просторового перегрупування молекули ортофосфорної кислоти

бори, вищі від 6-311++G(2df,pd), уже не вносять помітних кількісних змін у розраховані структурні параметри молекули ОФК.

**Просторове перегрупування молекули ОФК.** Вперше нами досліджено (на рівні теорії DFT B3LYP/6-311++G(d,p)) інтерконверсію конформера  $R_0$  самого в себе перенесенням протону (рис. 2). Для цього в конформері  $R_0$  атом водню  $H_1$  (див. рис. 2) було перенесено з атома  $O_1$  на атом  $O_4$ , після чого проведено оптимізацію одержаного конформера  $R'_0$ . Оптимізований конформер  $R'_0$  має ті ж самі структурні і енергетичні параметри, що і  $R_0$ , а єдина їх відмінність полягає у нумерації атомів.

Методом QST2 було знайдено перехідний стан цього процесу (див.  $TS_{R_0 \rightarrow R'_0}$  на рис. 2) і обчислено величину бар'єру переходу  $R_0 \rightarrow R'_0$ :  $\Delta G = G_{TS: R_0 \rightarrow R'_0} - G_{R_0} = 33,6$  ккал/моль.

**Перехід  $R_0 \leftrightarrow L_0$ .** Конформери  $R_0$  і  $L_0$  є дзеркально-симетричними і мають однакову енергію. Доцільно знайти відповідь на цілком логічне запитання — як вони взаємно перетворюються?

На рівні теорії DFT B3LYP/6-311G(2df,pd) нами вперше виявлено три топологічно і енергетично нееквівалентні шляхи переходу  $R_0 \rightarrow L_0$ .

1. Енергетично найвигідніший “двостадійний” (рис. 3, а) перехід  $R_0 \rightarrow L_1 \rightarrow L_0$  (та енергетично еквівалентним йому є шлях  $R_0 \rightarrow R_1 \rightarrow L_0$ ). Величина бар'єра переходу  $R_0 \leftrightarrow L_0$  визначається енергією Гіббса перехідного стану  $TS_{R_0 \rightarrow L_1}$  (або — такою ж за величиною енергією Гіббса перехідного стану  $TS_{L_0 \rightarrow R_1}$ ) і становить  $\Delta\Delta G = 1,6$  ккал/моль.

2. Симетричний “тристадійний” шлях  $R_0 \rightarrow R_1 \rightarrow L_1 \rightarrow L_0$ . Величина бар'єра переходу в цьому випадку визначається енергією Гіббса перехідного стану  $TS_{R_1 \rightarrow L_1}$  (рис. 3, б) і становить  $\Delta\Delta G = 4,7$  ккал/моль.

3. “Концертний” механізм взаємного перетворення відбувається через перехідний стан  $TS_{R_0 \rightarrow L_0}$  (рис. 3, в); енергія Гіббса перехідного стану (величина бар'єра переходу) дорівнює  $\Delta\Delta G = 11,7$  ккал/моль.

**Структурна лабільність молекули ОФК.** Фіксуючи кут  $\tau_1$  в конформері  $R_0$  і проводячи оптимізацію геометрії (на рівні теорії DFT B3LYP/6-311G(2df,pd)), одержали залежність електронної енергії молекули ОФК від орієнтації одного з трьох атомів водню. Апроксимуючи в діапазоні  $9^\circ < \tau_1 < 61^\circ$  цю залежність  $\Delta E(\tau_1)$  функцією

$$\Delta E = \frac{C}{2} \cdot (\tau_1 - \tau_{10})^2,$$

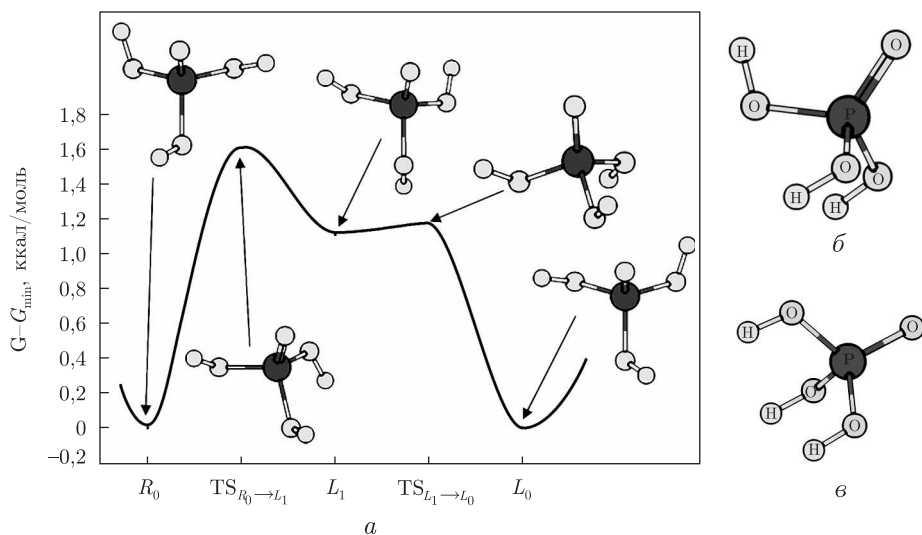


Рис. 3. Механізми переходу  $R_0 \rightarrow L_0$ : а — двостадійний, б — перехідний стан  $TS_{R_0 \rightarrow L_1}$  тристадійного, в — перехідний стан  $TS_{R_0 \rightarrow L_0}$  однастадійного (“концертного”)

де  $\tau_{10}$  — значення кута  $\tau_1$  у конформера  $R_0$ , одержали значення сталої крутильної жорсткості  $C = (2,59 \pm 0,03)$  ккал/(моль · рад<sup>2</sup>). При цьому в розглядуваному діапазоні ( $9^\circ < \tau_1 < 61^\circ$ ) середньоквадратична похибка квадратичної апроксимації становить лише 0,005 ккал/моль. Це свідчить про “пологість” відповідного мінімуму на гіперповерхні потенційної енергії, тобто — про лабільність ступеня вільності  $\tau_1$ .

**Енергія депротонування.** Шляхом вилучення одного з протонів із конформера  $R_0$  і подальшої оптимізації такої структури на рівні теорії DFT B3LYP/6-311++g(d,p) було одержано іон  $H_2PO_4^-$  і визначено енергію Гіббса депротонування: 325,2 ккал/моль (за нормальних умов).

**Конформація фосфатної групи в ДНК.** За одержаними геометріями конформерів  $R_0$  і  $R_1$  було знайдено значення торсійних кутів

$$HO_1PO_2 = 162,2, \quad O_1PO_2H = -92,4$$

у конформера  $R_0$  та

$$HO_1PO_2 = 152,9, \quad O_1PO_2H = -75,4;$$

$$HO_1PO_3 = -102,1, \quad O_1PO_3H = -57,9;$$

$$HO_2PO_3 = 175,4, \quad O_2PO_3H = 47,6$$

у конформера  $R_1$  молекули ОФК (у  $L_0$  і  $L_1$  їх значення мають протилежний знак). Ці кути є прямими аналогами номенклатурних конформаційних змінних  $\alpha$  і  $\zeta$  молекули ДНК. Порівнюючи їх з даними [4–6], доходимо висновку, що конформери  $R_0$  і  $L_0$  не відтворюють експериментальних значень кутів  $\alpha$  і  $\zeta$  ні В-, ні Z-форми ДНК. Водночас, величини кутів  $HO_1PO_3$  і  $O_1PO_3H$  конформера  $R_1$  з точністю  $\pm 5^\circ$  збігаються зі значеннями  $\alpha$  і  $\zeta$  для ДНК у В-формі, а кути  $HO_1PO_2$  і  $O_1PO_2H$  конформера  $L_1$  з точністю  $\pm 8^\circ$  — зі значеннями  $\alpha$  і  $\zeta$  для піримідинових нуклеотидів Z-форми ДНК.

Це означає, що фосфатна група, як складова частина ДНК, не знаходиться в енергетично найвигіднішій конформації.

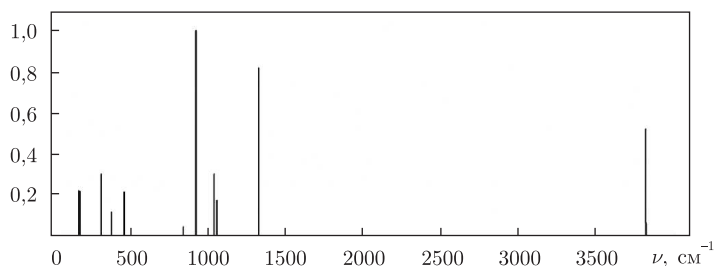


Рис. 4. Коливальний ІЧ спектр молекули ортофосфорної кислоти в основному конформаційному стані  $R_0$  (розрахунок на рівні теорії DFT B3LYP/6-311G(2df,pd) в гармонійному наближенні; по осі ординат вказано відносні інтенсивності)

**ІЧ спектр молекули ОФК.** На рівні теорії DFT B3LYP/6-311G(2df,pd) розраховано ІЧ спектр конформера  $R_0$  (рис. 4). У спектрі можна виділити такі групи ліній: в області  $150\text{--}450\text{ cm}^{-1}$  лежать коливання, що відповідають зміні торсійних кутів  $\tau_1$ ,  $\tau_2$  і  $\tau_3$ ; в області  $450\text{--}600\text{ cm}^{-1}$  знаходяться деформаційні коливання ОРО кутів; в області  $800\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$  — деформаційні коливання ОН груп і валентні одинарних РО-зв'язків; лінія  $1331\text{ cm}^{-1}$  відповідає валентному коливанню подвійного РО-зв'язку, а лінії поблизу  $3800\text{ cm}^{-1}$  — трьом валентним коливанням ОН зв'язків.

Таким чином, встановлено, що молекула ортофосфорної кислоти має тільки два стійкі дзеркально-симетричні конформери з симетрією  $C_3$ . Виявлено і проаналізовано три топологічно і енергетично нееквівалентні шляхи їхнього взаємного перетворення та визначено величини відповідних бар'єрів переходу:  $\Delta\Delta G = 1,6$  ккал/моль для “двостадійного” механізму,  $\Delta\Delta G = 4,7$  ккал/моль для симетричного “тристадійного” і  $\Delta\Delta G = 11,7$  ккал/моль для “концертного”. Просторове перегрупування молекули ОФК перенесенням протона відповідає доланню енергетичного бар'єра  $\Delta\Delta G = 33,6$  ккал/моль.

Молекула ОФК характеризується структурною лабільністю: стала крутильної жорсткості щодо повороту одного з атомів водню становить  $2,6$  ккал/(моль·рад<sup>2</sup>). Геометрія “високо енергетичного” конформера  $R_1$  близька до геометрії фосфатної групи у В-формі ДНК.

*Висловлюємо вдячність корпорації “Gaussian”(США) за наданий грант — програмний пакет “Gaussian03” для платформи Win32.*

1. *Perahia D., Pullman B., Saran A.* Molecular orbital calculations on the conformation of nucleic acids and their constituents. IX. The geometry of the phosphate group: Key to the conformation of polynucleotides? // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1974. — **340**. — P. 299–313.
2. *Ewig C. S., Van Wazer J. R.* Ab initio structures of phosphorus acids and esters. 1. Phosphinic, phosphonic, and phosphoric acids // *J. Am. Chem. Soc.* — 1985. — **107 (7)**. — P. 1965. — 1971.
3. *Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B. et al.* Gaussian 03, Revision C.02 / Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
4. *Schneide B., Neidle St., Berman H. M.* Conformations of the Sugar-Phosphate Backbone in Helical DNA Crystal Structures // *Biopolymers.* — 1997. — **42**. — P. 113–124.
5. *Crystal studies of B-DNA: The answers and the questions* // *Biopolymers.* — 1997. — **44**, iss. 1. — P. 23–44.
6. *Foloppe N., MacKerell A. D.* Ab initio Conformational Analysis of Nucleic Acid Components: Intrinsic Energetic Contributions to Nucleic Acid Structure and Dynamics // *Biopolymers.* — 2002. — **61**. — P. 61–76.

Київський національний університет  
ім. Тараса Шевченка  
Інститут молекулярної біології  
і генетики НАН України, Київ

Надійшло до редакції 11.06.2009

Academician of the NAS of Ukraine **L. A. Bulavin, T. Yu. Nikolaienko**,  
Corresponding Member of the NAS of Ukraine **D. M. Hovorun**

**Phosphoric acid molecule structural softness: *ab initio*  
quantum-mechanical study**

*Within the quantum-mechanical density functional theory, the structural and dynamical features of a phosphoric acid molecule are investigated, and its complete conformer family is described. Three topology- and energy-nonequivalent transition paths between the conformers are revealed. The intramolecular reconfiguration by means of proton transfer, as well as the basis set influence on calculation results, are discussed.*