

ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ПАРОВ ЦИТОЗИНА В УСЛОВИЯХ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО РАЗРЯДА

М. И. Шафраньош^{1*}, М. Zapotokova², М. И. Суховия¹,
И. И. Шафраньош¹, Ю. Ю. Свида¹

УДК 535.37:547.854.81

¹ Ужгородский национальный университет,
88000, Ужгород, Украина; e-mail: miroshafr@gmail.com

² Прешовский университет, 08001 Прешов, Словакия

(Поступила 16 октября 2019)

Выполнены экспериментальные исследования люминесценции постоянного тлеющего электрического разряда в парах цитозина. Получены спектры свечения разряда в области 200—500 нм. В спектре люминесценции обнаружены более 25 полос. Для наиболее интенсивных молекулярных полос предложена их идентификация.

Ключевые слова: цитозин, тлеющий разряд, люминесценция, спектральная полоса.

We experimentally studied the luminescence of a continuous electric discharge in cytosine vapors. The luminescence spectra of the discharge in the wavelength range 200—500 nm were obtained. More than 25 spectral bands were found in the luminescence spectrum. A method of identification for more intensive molecular bands was proposed.

Keywords: cytosine, glow discharge, luminescence, spectral band.

Введение. Информация о физической структуре биомолекул необходима для понимания роли первичных физических процессов в обеспечении функционирования биосистем и влияния на них различных факторов окружающей среды, среди которых особое внимание уделяется естественной и искусственной радиации. Взаимодействие высокоэнергетической радиации с живыми клетками в основном не приводит непосредственно к деградации биополимерных молекул, в частности к разрывам ковалентных связей в первичной структуре нуклеиновых кислот. Эту функцию выполняют вторичные электроны, образующиеся в большом количестве при прохождении сквозь биоструктуры потока высокоэнергетического излучения. Большинство вторичных электронов являются медленными, с энергиями от долей до десятков электронвольт. Именно эти медленные, низкоэнергетические электроны вызывают основную часть деструктивных изменений на молекулярном уровне биоструктур, элементарными “кирпичиками” которых являются азотистые основания нуклеиновых кислот: цитозин, гуанин, тимин, аденин и урацил. Таким образом, исследования взаимодействия медленных электронов с молекулами нуклеотидных оснований актуальны и представляют чрезвычайно большой интерес.

Экспериментальное изучение физико-химических механизмов влияния низкоэнергетических излучений (1—100 эВ) на молекулы пиримидинового основания цитозина представлено единичными работами. В [1—4] сообщалось об исследованиях особенностей поглощения УФ излучения органическими молекулами (в том числе цитозином), находящимися в конденсированном состоянии. При этом указывалось на многообразие явлений, имеющих место при прохождении коротковолнового излучения через конденсированные среды. В [5, 6] оптическим методом в условиях пересекающихся электронного и молекулярного пучков впервые получены спектры люминесценции молекул цитозина и тимина под воздействием электронного пучка с энергией, регулируемой в диапазоне до 100 эВ.

LUMINESCENCE OF CYTOSINE VAPOURS IN AN ELECTRIC DISCHARGE

M. I. Shafranyosh^{1*}, M. Zapotokova², M. I. Sukhoviya¹, I. I. Shafranyosh¹, Yu. Yu. Svida¹ (Uzhgorod National University, Uzhgorod, 88000, Ukraine; e-mail: miroshafr@gmail.com; Presov University, Presov, 08001, Slovakia)

Цель данной работы — исследование процессов люминесценции молекул цитозина электронным ударом в условиях постоянного электрического тлеющего разряда.

Эксперимент. Для наблюдения люминесценции паров молекул цитозина под воздействием электронов использован метод электрического разряда. Опыты проведены с препаратами цитозина фирмы Sigma Aldrich (степень очистки 99.9 %). Молекулы цитозина чувствительны к высокой температуре, под действием которой может происходить фрагментация (термофрагментация). Согласно [7], явление термофрагментации проявляется при температуре >400 К. Поэтому мощность, подводимая к парам цитозина, не должна приводить его к температуре выше указанной. Подводимая энергия к разрядной трубке с парами цитозина складывается из двух составляющих: энергии, необходимой для образования давления паров цитозина $\sim 10^{-2}$ Па, и энергии обеспечения непосредственно самого разряда. Разряд, обладающий минимальной мощностью и позволяющий наблюдать люминесценцию, является тлеющим. По определению тлеющий разряд — один из видов стационарного, самостоятельного, электрического разряда в газах. Он происходит при низкой температуре катода, отличается сравнительно малой плотностью тока на катоде и большим катодным падением потенциала U . Тлеющий разряд может возникать при малом давлении газа (вплоть до атмосферного), однако подавляющее большинство исследований тлеющего разряда проведены при давлении от сотых долей до нескольких паскалей. Из приведенных выше данных выбрана нормальная (оптимальная) форма тлеющего разряда.

Разработанная конструкция разрядного устройства схематично представлена на рис. 1. Основные элементы устройства: разрядная трубка с кварцевым окошком для вывода излучения; термостат с размещающейся в нем разрядной трубкой; блоки электропитания трубки и термостата. На осевой линии трубки размещались молибденовые электроды — катод (К) и анод (А), а в наиболее холодном месте трубки — термопарный датчик температуры (хромель-алюмель). Температура термостата устанавливалась резистивной бифилярной обмоткой, через которую проходил постоянный электрический ток. Препарат цитозина помещался в трубку, которая предварительно подвергалась процедуре вакуумного обезгаживания и очистки. Для исключения конденсации паров цитозина на кварцевом окошке его помещали в дополнительный термостат, температура которого на 20 К выше температуры основного термостата. При достижении давления в разрядной трубке $\sim 10^{-4}$ Па осуществлялось ее отсоединение от системы вакуумной откачки.

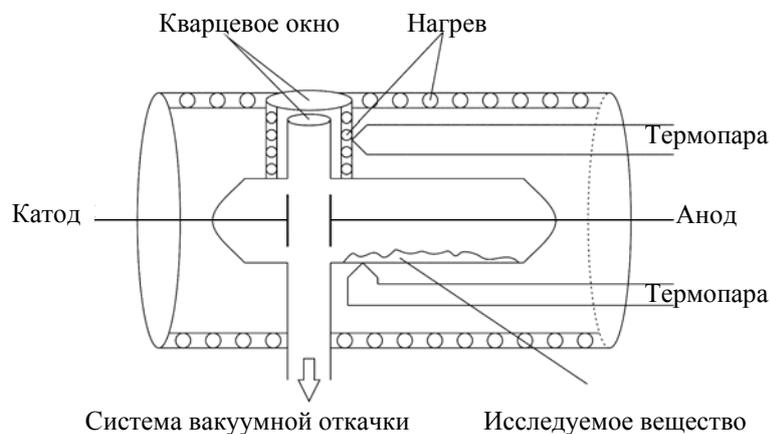


Рис. 1. Разрядное устройство

Энергия электронов в положительном столбе разряда достаточна для возбуждения молекул цитозина, в результате чего возникает люминесценция (свечение) разряда.

Результаты и их обсуждение. Зарегистрированы спектры излучения разряда в парах молекул цитозина в области 200—500 нм при различных температурах паров и следующих параметрах: ток разряда 10 мА, напряжение в области разрядного промежутка 540 В, давление паров $\sim 10^{-2}$ Па. На рис. 2 представлены спектры свечения разряда при температурах паров цитозина 330 и 360 К. Как видно, спектры молекул цитозина имеют достаточно сложную структуру. Обнаружены спектральные линии и полосы с максимумами при $\lambda = 281, 295, 311\text{—}316, 328, 336, 348, 352\text{—}357, 375, 380\text{—}387, 390, 398, 413\text{—}421, 427, 452$ и 485 нм. Идентификация спектральных полос проведена на основании

[5, 7—10]. Наиболее интенсивную полосу излучения с максимумом 387 нм можно идентифицировать как свечение группы CN (переход $B^2\Sigma \rightarrow A^2\Pi$). В этой же области излучает фрагмент CNC (переход $\Delta^2 \rightarrow ^2\Pi$). Причиной возникновения полосы при 311—316 нм может быть вклад следующих процессов: свечение пиримидинового кольца (переход $\tilde{A} \rightarrow \tilde{X}$) и иона CO^+ ($B^2\Sigma \rightarrow ^2\Sigma$), а также группы OH ($A^2\Sigma^+ \rightarrow X^2\Pi$ при 309 нм). Свечение фрагментов NCN (переход $^3\Pi_u \rightarrow ^3\Sigma_g^-$) и CN^+ ($c^1\Sigma \rightarrow a^1\Sigma$) наблюдается при 328 нм. В полосе с максимумом при 336 нм вероятно излучение фрагмента NCN ($^3\Pi_u \rightarrow ^3\Sigma_g^-$). Кроме того, в данной области может наблюдаться свечение молекулы азота N_2 ($C^3\Pi_u \rightarrow B^3\Pi_g$). В области 352—357 нм возможны свечения групп HNCN ($\tilde{A} \rightarrow \tilde{X}$) и CNC ($^2\Sigma \rightarrow ^2\Pi$) при 375 нм. В полосе с максимумом 390 нм существует вероятность излучения молекулярного иона азота N_2^+ ($B^2\Sigma \rightarrow X^2\Pi$). Полосы при 413—421 нм могут формироваться за счет групп CO (переход $B^1\Sigma \rightarrow A^1\Pi$) и N_2CN_2 ($\tilde{A} \rightarrow \tilde{X}$), возможно также свечение CH ($A^2\Delta \rightarrow X^2\Pi$). В области 427 нм имеется вероятность свечения группы N_2CH_2 ($\tilde{A} \rightarrow \tilde{X}$), а при 485 нм, скорее всего, наблюдается излучение $H\beta$.

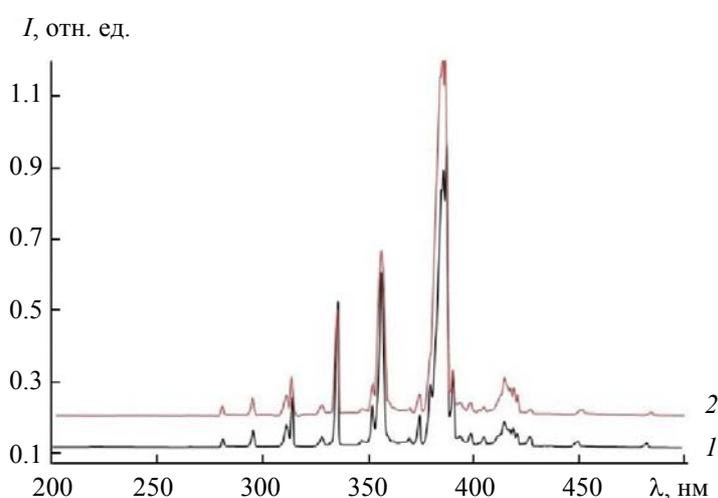


Рис. 2. Спектры разряда при температурах паров цитозина 330 (1) и 360 К (2)

Некоторые полосы в спектрах не удалось идентифицировать на основании имеющихся данных, в частности полосы с максимумами при 281, 295, 348, 398 и 452 нм. Возможно, в этих диапазонах зарегистрировано свечение фрагментов или кластеров молекул цитозина, которое не наблюдается в экспериментах, осуществленных методами пересекающихся электронного и молекулярного пучков или паронаполненной ячейки при высоком вакууме.

Полученные результаты следует сопоставить с данными [5, 11]. Наилучшее согласие имеется с результатами работы [5], выполненной методом пересекающихся электронного и молекулярного пучков. Наряду с этим в условиях разряда нами обнаружено несколько новых молекулярных полос. В [11] исследована люминесценция цитозина под действием электронного пучка в условиях паронаполненной ячейки. Спектр из [11] представлен девятью полосами, которые по длинам волн совпадают с полосами в полученном нами спектре. Однако идентификация отдельных полос в [11], на наш взгляд, сомнительна. В частности, речь идет о молекулярной полосе с максимумом при 295 нм. Считаем, что данная полоса принадлежит молекулярному иону цитозина. Полоса в области 311—316 нм, которая в [11] представлена как результат излучения группы OH, на самом деле включает в себя излучение пиримидинового кольца молекулы цитозина и молекулярного иона оксида углерода. При этом, по нашему мнению, вклад излучения группы OH не является определяющим.

В приведенных спектрах присутствуют полосы молекул азота, что характерно и для других азотистых оснований нуклеиновых кислот [6, 12]. Предлагаем следующий механизм их образования. С помощью метода AM1 [13, 14], который входит в пакет программ HyperChem 8.0.10, рассчитаны длины связей в молекуле цитозина и ее молекулярном ионе. На рис. 3 приведена оптимизированная структура молекулярного иона (катиона) цитозина.

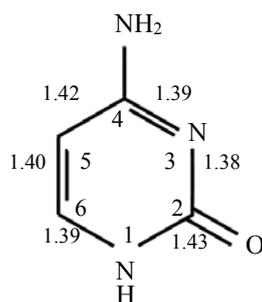


Рис. 3. Оптимизированная структура молекулярного иона (катиона) цитозина

Для фрагментации молекулярного иона необходим одновременный разрыв по крайней мере двух связей. Одновременный разрыв трех связей представляется менее вероятным. Логично предположить, что наиболее вероятные разрывы должны быть в тех местах, где суммарная длина двух связей наибольшая. Обратим внимание на случай разрыва связей C_2-N_3 , C_4-C_5 . Вследствие этого разрыва молекулярный ион $C_4H_5N_3O^+$ теряет нейтральный фрагмент $NCNH_2$ ($m/z = 42$) и продуцирует заряженный фрагмент $C_3H_3NO^+$ ($m/z = 69$). Соответствующая этому фрагменту линия в масс-спектре цитозина (рис. 4) является четвертой по интенсивности [7].

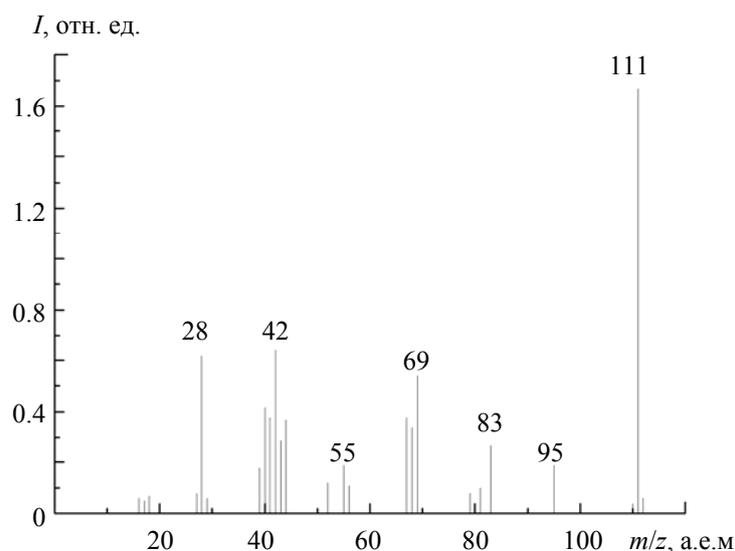
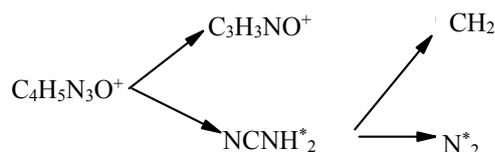


Рис. 4. Фрагментация молекул цитозина под действием электронного удара

Нейтральный фрагмент $NCNH_2^*$ может находиться в возбужденном состоянии, и вследствие его диссоциации образуются возбужденная молекула N_2^* и фрагмент CH_2 , т. е. имеет место реакция:



Распад возбужденных состояний N_2^* приводит к появлению многочисленных полос в спектрах цитозина.

Заключение. Взаимодействие медленных электронов с молекулами цитозина в условиях газового тлеющего разряда сопровождается возникновением в диапазоне 200—500 нм спектра люминесценции сложной формы, что свидетельствует об интенсивной фрагментации молекул. Спектр люминесценции цитозина формируют процессы диссоциативного возбуждения молекул, диссоциативного возбуждения с ионизацией, возбуждение электронных уровней исходной молекулы. Экспериментально установлено, что электроны разряда эффективно разрушают молекулу цитозина, производя при этом атомарный водород. Полученные данные могут быть использованы для оценки радиационных изменений в молекулах ДНК и РНК при внутреннем β -облучении биообъектов.

- [1] **N. Ya. Dodonova.** *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, **18** (1993) 111—121
- [2] **И. П. Виноградов, В. В. Земских, Н. Я. Додонова.** *Опт. и спектр.*, **36**, № 3 (1974) 596—599
- [3] **В. Л. Рапопорт, В. М. Малкин, Н. А. Быков, В. В. Горючко.** *Проблемы зарождения и эволюции биосферы, монография под ред. акад. Э. М. Галимова, Москва (2008)* 169—178
- [4] **І. А. Петрушко, Н. М. Цуд, М. І. Суховія.** *Біофіз. Вісник ХНУ*, **14**, № 1-2 (2004) 23—26
- [5] **M. I. Sukhovija, V. N. Slavik, I. I. Shafranyosh, L. L. Shimon.** *Biopolym. Cell.*, **7**, N 6 (1991) 77—82
- [6] **И. И. Шафраньош, М. И. Суховия.** *Опт. и спектр.*, **102**, № 4 (2007) 553—556
- [7] **I. I. Shafranyosh, M. I. Sukhoviya, M. I. Shafranyosh.** *J. Phys. B.*, **39**, N 20 (2006) 4155—4162
- [8] **K. P. Huber, G. Herzberg.** *Molecular Spectra and Molecular Structure. IV. Constants of Diatomic Molecules*, New York, Van Nostrand Reinhold (1979)
- [9] **G. Herzberg.** *Molecular Spectra and Molecular Structure. III. Electronic Spectra and Electronic Structure of Polyatomic Molecules*, New Jersey, Van Nostrand (1966)
- [10] **R. W. Pearse, A. G. Gaydon.** *The Identification of Molecular Spectra*, London, Chapman (1963)
- [11] **V. Shpenik, M. Erdevdy, V. Zvenihorodsky.** *IEP-2015. Int. Conf. Young Scientists and Post-Graduates*, 18–22 May 2015, Uzhhorod (2015) 133
- [12] **I. I. Shafranyosh, M. I. Sukhoviya.** *J. Chem. Phys.*, **37**, N 18 (2012) 184303—184309
- [13] **M. J. S. Dewar, W. Thiel.** *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, N 15 (1977) 4899—4914
- [14] **M. J. S. Dewar, E. G. Zoebish, E. E. Headly, J. J. Stewart.** *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, N 13 (1985) 3902—3909