

ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ В РЕАКЦИЯХ ОЗОНА С АДЕНИНОМ И ЦИТОЗИНОМ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

© 2021 г. А. А. Максютова^а, Э. Р. Хайнасова^а, Ю. С. Зимин^{а,*}

^а Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

*e-mail: ZiminYuS@mail.ru

Поступила в редакцию 05.02.2021 г.

После доработки 25.02.2021 г.

Принята к публикации 26.02.2021 г.

Впервые обнаружено, что окисление аденина и цитозина под действием озон-кислородной смеси в водной среде сопровождается хемилюминесценцией в видимой области спектра. Показано, что свечение однозначно связано с наличием озона в барботируемой газовой смеси. Прекращение подачи O_3-O_2 -смеси приводит к спаду интенсивности свечения. В интервале температур 285–309 К изучена кинетика уменьшения интенсивности свечения и определены активационные параметры исследуемого процесса.

Ключевые слова: аденин, цитозин, озон-кислородная смесь, окисление, хемилюминесценция, активационные параметры

DOI: 10.31857/S0044453721100174

Известно, что воздействие окислителей способно приводить к деструктивным превращениям нуклеиновых кислот. Обнаружено [1–3], что среди компонентов РНК и ДНК наибольшей окислительной деградацией подвергаются азотистые основания (АО), следствием которой могут быть серьезные последствия для живого организма. В этой связи любые исследования, направленные на изучение кинетики и механизмов окислительных превращений АО, являются важными и актуальными.

В последние десятилетия ученые разных стран активно изучали процессы окисления и деструкции различных азотистых оснований: аденина [1–4], гуанина [1–5], цитозина [1–3, 6], урацила и его производных [1–3, 7–14]. При этом исследования проводились под действием как радикальных, так и молекулярных окислительных систем. Среди достаточно большого числа окислителей особую роль играет озон, обладающий высокой реакционной способностью по отношению к азотистым основаниям [12–14].

Недавно [10] обнаружено, что реакцию озона с 6-метилурацилом в водных растворах сопровождает хемилюминесценция в видимой области спектра. Следует ожидать наличия свечений и при озонированном окислении других азотистых оснований. Световые явления, сопровождающие окислительные реакции АО, могут помочь в понимании механизмов их окислительной деградации.

Таким образом, настоящая работа посвящена обнаружению хемилюминесценции в реакциях озона с азотистыми основаниями (аденином и цитозином) в водных растворах и исследованию кинетики изменения интенсивности свечения.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В экспериментах использованы аденин и цитозин фирмы “Aldrich” (США) с содержанием основных веществ $\geq 99\%$. Для получения озон-кислородной смеси (с содержанием O_3 1–2% об.) использовали лабораторный озонатор. Растворителем служила бидистиллированная вода (свежеперегнанная).

Для хемилюминесцентных исследований использовали установку [15], позволяющую наблюдать хемилюминесценцию (ХЛ) в видимой области спектра. Данная установка представляет собой светонепроницаемую камеру, внутри которой располагается стеклянный реактор, снабженный барботером для подачи O_3-O_2 -смеси и обратным холодильником. Для обнаружения фотонов использовали фотоэлектронный умножитель С-11 с последующей регистрацией сигнала с помощью цифрового запоминающего осциллографа Velleman PCS100. Для наблюдения ХЛ 14 мл водного раствора АО (аденина или цитозина) определенной концентрации наливали в оптически прозрачный реактор, который затем помещали в термостатируемую ячейку. Температуру в

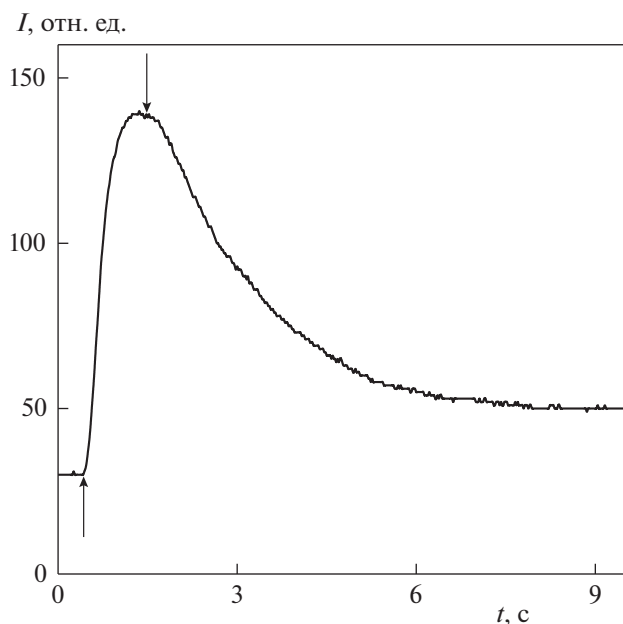


Рис. 1. График зависимости интенсивности свечения от времени в процессе озонированного окисления аденина; 297 К, $[AO]_0 = 2 \times 10^{-3}$ моль/л. Стрелками (↑) и (↓) обозначены моменты начала и прекращения подачи O_3-O_2 -смеси.

ячейке поддерживали постоянной с помощью термостата циркуляционного LOIP LT-105a с установленным охлаждающим теплообменником (точность поддержания температуры $\pm 0.1^\circ C$). После предварительного термостатирования раствора в течение 15 мин в реактор подавали озон-кислородную смесь. Когда интенсивность ХЛ достигала максимума, подачу O_3-O_2 -смеси прекращали и наблюдали уменьшение свечения в видимой области спектра.

Спектр свечения в реакциях озона с аденином и цитозином в водных растворах получали с помощью граничных светофильтров. При этом был использован следующий набор светофильтров (ГОСТ-9411-81): БС12 (>300 нм), БС8 (>370 нм), ЖС11 (>410 нм), ЖС17 (>485 нм), ОС11 (>530 нм), ОС14 (>580 нм), КС13 (>630 нм) и КС19 (>700 нм). Методика расчета средней интенсивности свечения и свойства использованных светофильтров представлены в [16].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящей работе впервые обнаружена хемилюминесценция в видимой области спектра при озонированном окислении аденина и цитозина в водных растворах. При этом замечено, что барботаж водных растворов АО чистым кислородом не приводил к заметным изменениям интенсивности сигнала ХЛ. Таким образом, хемилюминесценция в исследуемых реакционных систе-

мах однозначно связана с наличием озона в барботируемой газовой смеси. В пользу данного факта свидетельствует также выявленная нами зависимость появления свечений от моментов поступления озон-кислородной смеси в перемешиваемые растворы азотистых оснований (см., например, рис. 1). В условиях дальнейшего барботаж O_3-O_2 -смеси резкий рост интенсивности ХЛ сменялся постепенным ее выходом на плато. Прекращение подачи окислителя в водный раствор АО приводило к уменьшению интенсивности свечения (рис. 1).

Установлено, что после прекращения подачи озон-кислородной смеси интенсивность сигнала ХЛ спадала по экспоненциальному закону. Подтверждением этого факта являлись достаточно высокие значения коэффициентов корреляции $r \geq 0.997$, полученных при линейаризации кинетических кривых уменьшения интенсивности свечения в координатах реакции 1-го порядка:

$$\ln \frac{I_0}{I_t} = k't, \quad (1)$$

где I_0 , I_t — интенсивности сигнала ХЛ в моменты времени $t = 0$ и t , соответственно (относительные единицы), k' — эффективная константа скорости уменьшения интенсивности свечения (c^{-1}). На рис. 2 в качестве примера приведены результаты линейаризации кинетических кривых уменьшения интенсивности ХЛ в реакциях O_3 с АО при 301 К в координатах уравнения (1).

По тангенсам углов наклона полулогарифмических анаморфоз были определены эффективные константы скорости k' уменьшения интенсивности свечения. Обнаружено, что с увеличением начальных концентраций аденина и цитозина значения k' линейно возрастают (рис. 3, $r \geq 0.995$):

$$k' = k[AO]_0, \quad (2)$$

где k — константа скорости второго порядка ($л моль^{-1} c^{-1}$).

Приведенные закономерности уменьшения интенсивности свечения четко выполнялись для обоих субстратов — аденина и цитозина — во всем исследованном нами диапазоне их начальных концентраций ($(0.5-5.0) \times 10^{-3}$ моль/л) и температур (285–309 К). В проводимых опытах всегда выполнялось условие: $[AO]_0 \gg [O_3]_0$, где $[AO]_0$ и $[O_3]_0$ — начальные концентрации АО и озона в растворе, соответственно.

Из зависимостей $k' = f([AO]_0)$ были рассчитаны значения констант скорости второго порядка при разных температурах (табл. 1).

Реакция озона с цитозином, как следует из табл. 1, характеризуется более высокими значениями констант скорости. Данный факт обуслов-

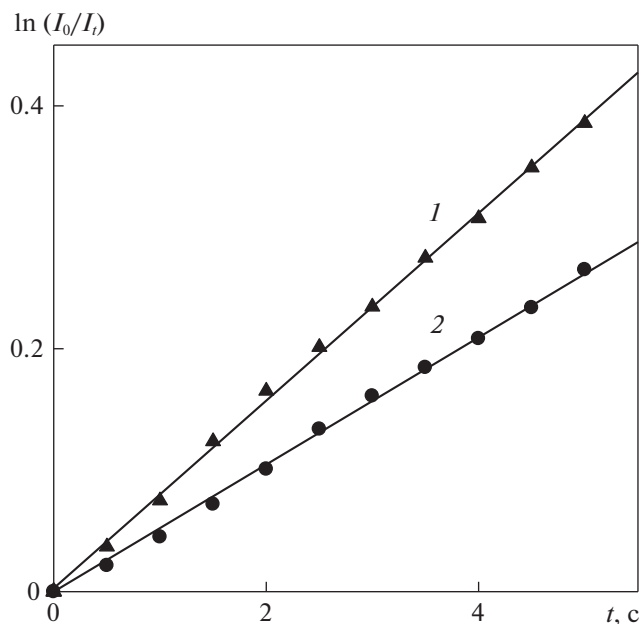


Рис. 2. Полулогарифмические анаморфозы кинетических кривых уменьшения интенсивности ХЛ в реакциях озона с цитозином (1) и аденином (2); 301 К, $[AO]_0 = 1 \times 10^{-3}$ моль/л.

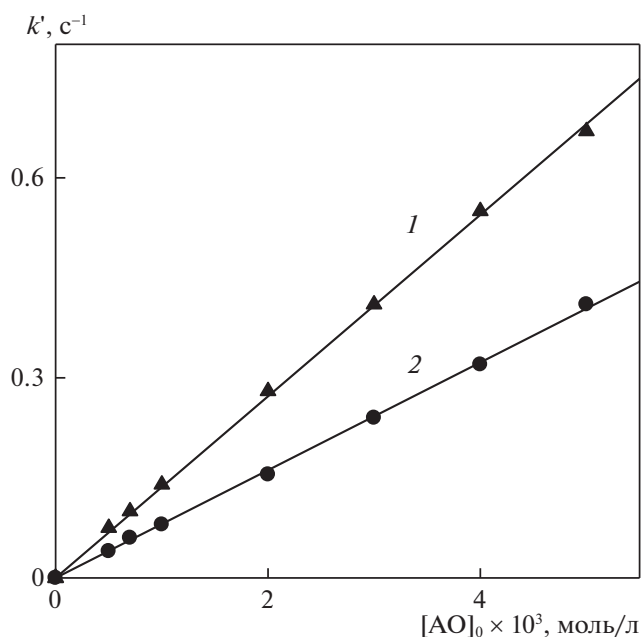


Рис. 3. Зависимость k' от $[AO]_0$ при окислении цитозина (1) и аденина (2) в водных растворах; 309 К.

лен, скорее всего, особенностями молекулярного строения пиримидиновых и пуриновых оснований. Так, пиримидиновое кольцо цитозина имеет двойную связь C5=C6, которое достаточно легко разрушается окислителями [2, 3, 17]. Аденин представляет собой бициклическую систему, которая состоит из двух конденсированных колец (пиримидинового и имидазольного). Очевидно, имидазольное кольцо будет создавать трудности при атаке озона на двойную связь C4=C5 пуринового основания, что и проявилось в эксперименте. Кстати, причина большей подверженности цитозина к дезаминированию [18] также лежит в особенностях строения пиримидиновых и пуриновых оснований.

Обработав данные температурных зависимостей констант скорости k в логарифмических координатах

$$\lg k = \lg A - \frac{E}{2.303RT}, \quad (3)$$

были определены параметры уравнения Аррениуса (логарифмы предэкспоненциальных множителей $\lg A$ и энергии активации E) для изученных нами процессов уменьшения интенсивности свечения в реакциях O_3 с АО (табл. 2).

На заключительном этапе исследований методом граничных светофильтров был определен спектральный состав свечений, сопровождающих реакции озона с исследованными АО в водных растворах. На рис. 4 в качестве примера приведен спектральный состав свечения при озони-

рованном окислении аденина. Установлению эмиттеров свечения и механизмов озонированного окисления аденина и цитозина будут посвящены дальнейшие исследования.

Таблица 1. Температурные зависимости констант скорости уменьшения интенсивности свечения в реакции озона с азотистыми основаниями

T, K	$k, \text{л моль}^{-1} \text{с}^{-1}$	
	Аденин	Цитозин
285	21 ± 2	70 ± 7
289	29 ± 3	79 ± 8
293	36 ± 4	85 ± 9
297	46 ± 5	98 ± 10
301	58 ± 6	107 ± 11
305	67 ± 7	116 ± 12
309	75 ± 8	124 ± 12

Таблица 2. Параметры уравнения Аррениуса для процессов тушения хемилюминесценции в реакциях озона с азотистыми основаниями

Азотистые основания	$\lg A [\text{л моль}^{-1} \text{с}^{-1}]$	$E, \text{кДж/моль}$
Аденин	8.2 ± 0.6	37.3 ± 2.6
Цитозин	5.1 ± 0.2	17.6 ± 1.3

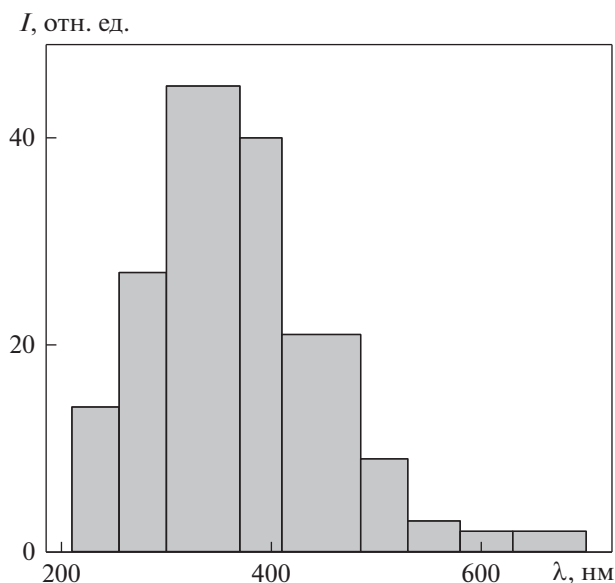


Рис. 4. Спектральный состав свечения при озонированном окислении аденина; 295 К, $[AO]_0 = 1 \times 10^{-3}$ моль/л.

Таким образом, в настоящей работе впервые обнаружена хемилюминесценция в видимой области спектра, сопровождающая реакции озона с аденином и цитозином в водных растворах. Установлено, что прекращение подачи O_3-O_2 -смеси в водные растворы азотистых оснований приводит к спаду интенсивностей свечения по закону реакции первого порядка. Значения эффективных констант скорости первого порядка связаны прямо пропорциональными зависимостями с начальными концентрациями исходных реагентов (аденина и цитозина). В интервале от 285 до 309 К исследована температурная зависимость констант скорости второго порядка и определены параметры уравнения Аррениуса, характеризующие процессы тушения хемилюминесценции в изученных нами реакциях.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-73-20073).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Simandan T., Sun J., Dix T.A.* // *Biochem. J.* 1998. V. 335. № 2. P. 233. <https://doi.org/10.1042/bj3350233>
2. *Кузнецова А.А., Кнорре Д.Г., Федорова О.С.* // *Успехи химии.* 2009. Т. 78. № 7. С. 714. 4. <https://doi.org/10.1070/RC2009v078n07ABEH004038>
3. *Cadet J., Douki T., Ravanat J.L.* // *Free Radic. Biol. Med.* 2010. V. 49. № 1. P. 9. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.03.025>
4. *Agnihotri N., Mishra P.C.* // *Chem. Phys. Letters.* 2011. V. 503. № 4–6. P. 305.
5. *Pratviel G., Meunier B.* // *Chemistry – A European Journal.* 2006. V. 12. № 23. P. 6018. <https://doi.org/10.1002/chem.200600539>
6. *Wagner J.R., Cadet J.* // *Acc. Chem. Res.* 2010. V. 43. № 4. P. 564. <https://doi.org/10.1021/ar9002637>
7. *Nugumanov T.R., Ivanov S.P., Starikova Z.A., Murinov Yu.I.* // *Mend. Commun.* 2008. V. 18. № 4. P. 223. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2008.07.020>
8. *Grabovskiy S.A., Konkina I.G., Murinov Y.I., Kabal'nova N.N.* // *Curr. Org. Chem.* 2012. V. 16. № 11. P. 1447. <https://doi.org/10.2174/138527212800672619>
9. *Ахатова Г.Р., Сафарова И.В., Герчиков А.Я., Еникеев А.А.* // *Кинетика и катализ.* 2012. Т. 53. № 3. С. 309.
10. *Зимин Ю.С., Хайруллина Л.Р., Кутлугильдина Г.Г., Мустафин А.Г.* // *Журн. физ. химии.* 2015. Т. 89. № 12. С. 1864. <https://doi.org/10.7868/S0044453715120365>
11. *Петрова С.Ф., Остахов С.С., Иванов С.П. и др.* // *Химия высоких энергий.* 2018. Т. 52. № 6. С. 468.
12. *Максютова А.А., Зимин Ю.С., Гимадиева А.Р., Мустафин А.Г.* // *Журн. физ. химии.* 2019. Т. 93. № 9. С. 1322. <https://doi.org/10.1134/S0044453719090139>
13. *Максютова А.А., Хайнасова Э.Р., Зимин Ю.С.* // *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* 2020. Т. 63. Вып. 10. С. 17. <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20206310.6263>
14. *Максютова А.А., Моисеева Е.Д., Зимин Ю.С., Мустафин А.Г.* // *Вестн. Башк. ун-та.* 2020. Т. 25. № 2. С. 302. <https://doi.org/10.33184/bulletin-bsu-2020.2.13>
15. *Зимин Ю.С.* Кинетика и механизм озонированного окисления спиртов, эфиров, кетонов и олефинов в водной среде: Дис. ... докт. хим. наук. Уфа: Институт органической химии УНЦ РАН, 2006. 302 с.
16. *Шляпникох В.Я., Карпунин О.Н., Постников Л.М., Захаров И.В., Вичутинский А.А., Цепалов В.Ф.* Хемилюминесцентные методы исследования медленных химических процессов. М.: Наука, 1966. 300 с.
17. *Evans M.D., Dizdaroglu M., Cooke M.S.* // *Mutation Research/Reviews in Mutation Research.* 2004. V. 567. № 1. P. 1–61. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2003.11.001>
18. *Wang S., Hu A.* // *Chemical Physics Letters.* 2016. V. 653. P. 207.