

EXCITED-STATE REACTION PATHS OF CYTOSINE AND ISOCYTOSINE: C=O ELONGATION

P. Kancheva, V. Delchev

*Dept. Physical Chemistry, University of Plovdiv,
Tzar Assen 24 Str., 4000-Plovdiv, Bulgaria,
Email: vdelchev@uni-plovdiv.bg*

ABSTRACT

We investigated the excited-state reaction paths for the C=O elongation in the most stable oxo-amino tautomers of cytosine and isocytosine. They were studied at the B3LYP (TD) level of theory and aug-cc-pVDZ basis functions. As expected for this kind of reactions no conical intersections S_0 - S_1 were found for both compounds. We explained the ps-relaxation of cytosine with the population of the ${}^1n_o\pi^*$ excited state via conical intersection ${}^1n_o\pi^*/{}^1\pi\pi^*$ and subsequent fluorescence to the S_0 state at C=O = 1.443 Å. For isocytosine we found a channel for the population of the ${}^1\pi\sigma^*$ excited state, which would contribute to the photochemical dissociation of this compound. This is the first step for the formation of the hydroxo tautomer of isocytosine.

Ключови думи: *Възбудени състояния, DFT изчисления, Изоцитозин, Цитозин.*

ВЪВЕДЕНИЕ

Цитозинът е основна градивна единица на макромолекулите на нуклеиновите киселини (ДНК и РНК). Той се свързва комплементарно,

чрез водородни връзки, с гуанина и по този начин участва в процесите на кодиране и предаване на генетичната информация [1]. Експерименталните изследвания показват, че аминоксо формата на цитозина е най-стабилна [2–5]. Въпреки наличието на голям брой теоретични изследвания на реакционните механизми [6–8], в които участва цитозинът, все още липсва яснота за влиянието на карбонилната група върху фотохимичните трансформации на съединението.

Изследването на кристалната структура на изоцитозина дава сведения за съществуването на два стабилни аминоксо тавтомера: 1Н и 3Н [9]. Този факт показва, че изоцитозинът много лесно тавтомеризира. Наличието и на други тавтомерни форми (хидроксо) е доказано също от анализа на вибрационните спектри на съединението в газова фаза [10]. Изоцитозинът и механизмите на реакциите, в които той участва са значително по-слабо изучени, отколкото тези на цитозина. Липсват данни също така за влиянието на С=О групата върху фотохимичните трансформации на това съединение.

Целта на настоящото изследване е да се изучат реакционните пътища на възбудените състояния на цитозина и изоцитозина при удължаване на С=О връзката. Този реакционен механизъм е важен за населването на триплетните състояния на пиримидиновите производни. Предполагано е, че фосфоресцентните ивици в спектрите на някои пиримидини се дължат на преходи $S_1 \rightarrow T_1$, които често се извършват при удължаване на С=О връзки [11].

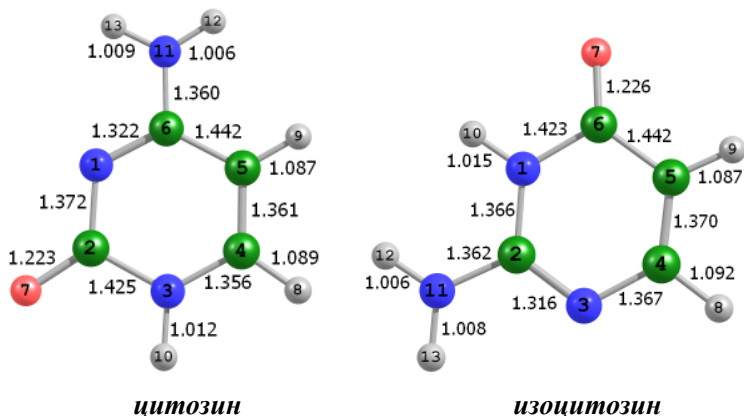
МЕТОДИ

Структурите на оксо-амино тавтомерите на цитозина и изоцитозина са оптимизирани с помощта на теорията за функционала на плътността (B3LYP) и базисни функции aug-cc-pVDZ. Използвана е програмата GAUSSIAN 03 [12]. Релаксационните (реакционните) пътища на възбудените състояния са изучени при удължаване на С=О връзката в двете съединения: от нейната равновесна стойност до около 1.45 Å.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

Оптимизираните структури на основното състояние на цитозина и изоцитозина са представени на фиг. 1. Както се вижда, те имат равнинни геометрии, което показва, че аминоксо групата е спрегната с ароматния

пръстен. Връзките C=O в двете съединения са приблизително равни, въпреки, че в цитозина карбонилната група е свързана за два азотни атома от пръстена.



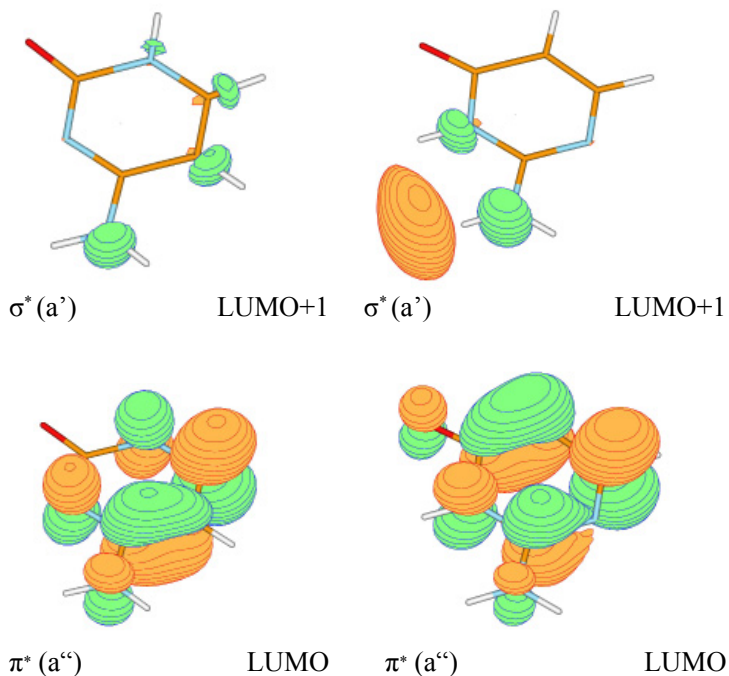
Фигура 1. Оптимизирани структури на цитозина и изоцитозина.

Вертикалните енергии на възбуждане на ниско лежащите възбудени състояния и експерименталните УВ-абсорбционни максимуми на двете съединения са представени в таблица 1. Поради равнинния строеж на молекулите на съединенията е възможно класифицирането на молекулните орбитали и възбудените състояния по симетрия, в рамките на точковата група C_s . Така например, орбиталите n_o , σ , и σ^* имат симетрия a' , а орбиталите π и π^* са със симетрия a'' (фиг. 2). Респективно, основното състояние S_0 и възбуденото състояние ${}^1\pi\pi^*$ имат симетрия A' , а възбудените състояния ${}^1n_o\pi^*$, ${}^1\sigma\pi^*$, и ${}^1\pi\sigma^*$ са със симетрия A'' . Съгласно правилата за запазване на симетрията при електронните преходи, електронните състояния със симетрия A'' се класифицират като „тъмни“ и абсорбционни ивици за тях не би трябвало да се наблюдават в УВ-спектъра (или ако се наблюдават са ниско интензивни). Симетрията на ${}^1\pi\pi^*$ възбуденото състояние го класифицира като „светло“ електронно състояние, със значителна сила на осцилатора. Следователно, абсорбционните ивици на цитозина и изоцитозина се дължат предимно на $\pi \rightarrow \pi^*$ електронни преходи в молекулите на съединенията.

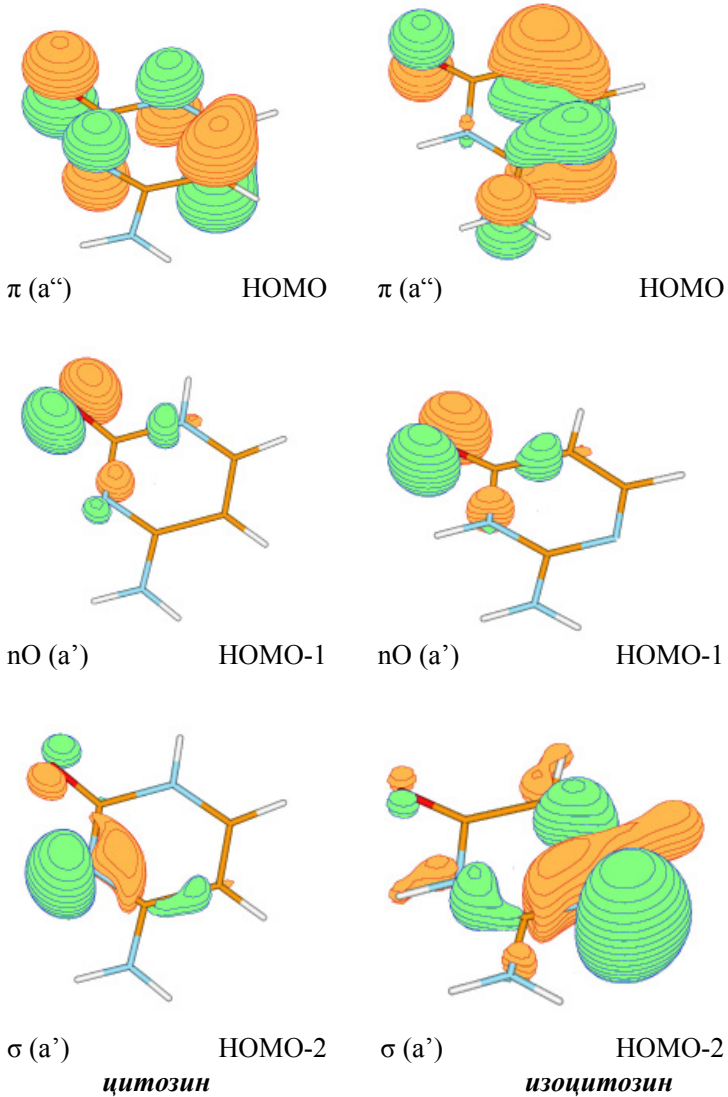
Таблица 1. Вертикални енергии на възбуждане на цитозина и изоцитозина.

възбудено състояние	ЦИТОЗИН			възбудено състояние	ИЗОЦИТОЗИН		
	eV	nm	експ. eV		eV	nm	експ. eV
$^1\pi\pi^*$	4.58	271	4.6 ^a / 4.65 ^b	$^1\pi\pi^*$	4.64	267	4.79 ^a
$^1n_o\pi^*$	4.72	263		$^1\pi\sigma^*$	4.77	260	
$^1\sigma\pi^*$	5.09	244		$^1n_o\pi^*$	4.85	256	
$^1\pi\sigma^*$	5.15	241		$^1\sigma\pi^*$	5.42	229	
$^1\pi\pi^*$	5.26	236	5.2 ^a	$^1\pi\sigma^*$	5.66	219	

^a Лит. [13,14], ^b воден разтвор [15,16], ^a ацетонитрил [15].



Фигура 2. (продължава)



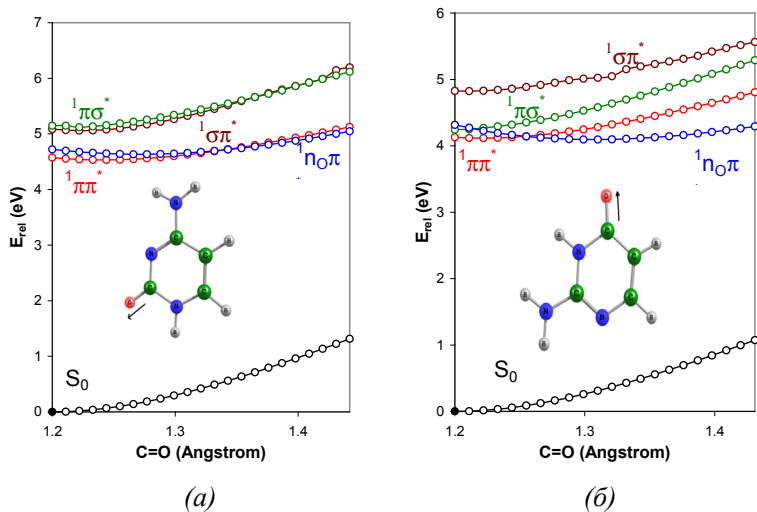
Фигура 2. Оптимизирани орбитали на цитозина и изоцитозина, които участват в електронните преходи.

Както се вижда от таблицата изчислените вертикални енергии на възбуждане на ${}^1\pi\pi^*$ възбудените състояния са доста близки до УВ-абсорбционните максимуми на двете съединения [13–16]. При молекулните орбитали π и π^* от фиг. 2 вълновата функция се анулира в молекулната равнина и показва максимуми под и над нея, но с различен знак. Второто по енергия електронно състояние в двете съединения е „тъмно“, като при цитозина то е ${}^1n_o\pi^*$, а при изоцитозина е ${}^1\pi\sigma^*$ – при около 4.7 eV. Наличието на ниско лежащо ${}^1\pi\sigma^*$ възбудено състояние в изоцитозина е предпоставка за N-H дисоциация на молекулата. Както е известно базите на нуклеиновите киселини участват в процеси на NH-дисоциация през ${}^1\pi\sigma^*$ възбудени състояния по т. нар. PIDA (*photo-induced dissociation-association*) механизъм [17–19].

Възбуденото ${}^1\pi\sigma^*$ електронно състояние на цитозина е с по-ниска енергия от второто „светло“ ${}^1\pi\pi^*$ възбудено състояние, което показва, че е възможно населване на ${}^1\pi\sigma^*$ електронното състояние през конично сечение ${}^1\pi\pi^*/{}^1\pi\sigma^*$ при подходящ реакционен път на тези две състояния.

На фиг. 3 са представени реакционните пътища на четири възбудени състояния на цитозина и изоцитозина при удължаване на C=O връзките. От фиг. 3а се вижда, че реакционните пътища на възбудените състояния на цитозина при удължаването на C=O връзката не водят до конични сечения от типа S_0 - S_1 . Обаче, при разстояние C=O = 1.366 Å се наблюдава конично сечение ${}^1n_o\pi^*/{}^1\pi\pi^*$. Това конично сечение е индикация за населване на „тъмното“ ${}^1n_o\pi^*$ възбуденото състояние на цитозина от „светлото“ ${}^1\pi\pi^*$ възбудено състояние чрез вътрешна конверсия.

Този процес може да ускори последващото населване на T_1 възбуденото състояние (интеркомбинация), което да доведе до фосфоресценция на цитозина. Подобен механизъм е предложен от Marian за 6-азаурацила [11]. По-вероятно е да се наблюдава флуоресцентен преход от населеното ${}^1n_o\pi^*$ възбуденото състояние на цитозина до основно състояние. Както е известно от експеримента цитозина показва две релаксационни времена на възбудените състояния: в ps-скала (1.86 ps) и в fs-скала (160 fs) [20]. Според нас, по-дългото релаксационно време 1.86 ps се дължи на флуоресценция ${}^1n_o\pi^* \rightarrow S_0$. При около C=O = 1.3 Å реакционният път на ${}^1n_o\pi^*$ възбуденото състояние показва плитък минимум. Обаче, флуоресцентният преход се осъществява при C=O = 1.443 Å, където енергетичната разлика ${}^1n_o\pi^* - S_0$ е 3.383 eV. Експериментът е показал, че флуоресцентният максимум на цитозина е при 325 nm (3.818 eV) [21,22]. Флуоресценция през ${}^1\pi\pi^*$ възбуденото състояние не се наблюдава, тъй като това състояние се дезактивира чрез вътрешна конверсия до S_0 [19,23–25].



Фигура 3. Реакционни пътища на възбудените състояния на (а) цитозина и (б) изоцитозина при удължаване на C=O връзката. Плътните точки на двете фигури посочват оптимизираната структура, докато контурните точки съответстват на геометрия на съединението при дадено C=O разстояние на оптимизираната структура.

Реакционните пътища на ${}^1\sigma\pi^*$ и ${}^1\pi\sigma^*$ възбудените състояния на цитозина (фиг. 3а) показват повишаване на енергията към края на реакционната координата и пресичане в конично сечение ${}^1\sigma\pi^*/{}^1\pi\sigma^*$. Тези два реакционни пътя нямат никакъв особен принос към флуоресцентните и фосфоресцентните процеси на цитозина от гледна точка на C=O реакционната координата.

На фиг. 3б са представени реакционните пътища на възбудените състояния на изоцитозина. Прави впечатление, че във Франк-Кондоновата област първите три възбудени състояния са квазиизродени, като все пак ${}^1n_0\pi^*$ възбуденото състояние е с най-висока енергия. Още в началото на реакционния път (C=O между 1.237 – 1.248 Å) се наблюдава конично сечение ${}^1n_0\pi^*/{}^1\pi\sigma^*$, което е предпоставка за населването на ${}^1\pi\sigma^*$ възбудено състояние. Както е известно [17,19], през това състояние се осъществява NH-дисоциацията на базите на нуклеиновите киселини. Следователно, при изоцитозина NH-дисоциацията на молекулата по PIDA механизма би следвало да е осъществима.

Населването на ${}^1n_o\pi^*$ възбуденото състояние на изоцитозина се осъществява от „светлото“ ${}^1\pi\pi^*$ възбудено състояние през конично сечение ${}^1n_o\pi^*/{}^1\pi\pi^*$ (фиг. 3б). Както се вижда от фигурата това конично сечение е при $C=O = 1.281 \text{ \AA}$. Реакционният път на ${}^1n_o\pi^*$ възбуденото състояние на изоцитозина показва по-дълбок минимум (0.218 eV изчислен спрямо вертикалната енергия на възбуждане), отколкото в цитозина (0.084 eV изчислен спрямо вертикалната енергия на възбуждане). Това показва, че флуоресцентният преход ${}^1n_o\pi^* \rightarrow S_0$ при изоцитозина би могъл да се очаква от минимума на реакционния път на ${}^1n_o\pi^*$ възбуденото състояние. За съжаление липсват данни за експериментален флуоресцентен спектър на изоцитозина, за да се потвърди или отхвърли това наше твърдение.

Реакционният път на ${}^1\sigma^*$ възбуденото състояние на изоцитозина няма принос към дискутираните по-горе механизми на възбудените състояния при удължаване на $C=O$ връзката. Прави впечатление обаче, че този реакционен път е независим от реакционния път на ${}^1\pi\sigma^*$ възбуденото състояние.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изследваните механизми на удължаване на $C=O$ връзките в цитозина и изоцитозина показаха, че липсват конични сечения от типа S_0-S_1 за двете съединения. При цитозина посочихме канал за населване на „тъмното“ ${}^1n_o\pi^*$ възбуденото състояние през конично сечение ${}^1n_o\pi^*/{}^1\pi\pi^*$, което вероятно е причина за наблюдаване на релаксационен процес в ps-ната времева скала. Тази флуоресценция през ${}^1n_o\pi^*$ възбуденото състояние се извършва при $C=O = 1.443 \text{ \AA}$. За изоцитозина установихме възможност за населване на ${}^1\pi\sigma^*$ възбуденото състояние във Франк-Кондоновата област, което е предпоставка за фотохимична дисоциация на молекулата. С други думи, очакваме цитозина да бъде фотохимично стабилен, докато изоцитозинът би могъл да тавтомеризира до хидроксо или имино тавтомери.

БЛАГОДАРНОСТИ

Единият от авторите (ВБД) благодари на поделение НПД при ПУ „Паисий Хилендарски“ за финансовата подкрепа (проект НИ11-ХФ-007) при разпечатване на постера, с който тези изследвания бяха представени на **9-тата научна конференция по химия с международно участие 2011**, ПУ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lehninger, A., in *Principles of Biochemistry* – 4 ed., 2004, Freeman. pp. 608.
2. Jeffrey, G. A.; Kinoshita, Y., *Acta Cryst.*, 1963, 16, 20–28.
3. Kobayashi, R., *J. Phys. Chem. A*, 1998, 102, 10813–.
4. Les, A.; Adamowicz, L.; Bartleu, R. J., *J. Phys. Chem.*, 1989, 93, 4001–4005.
5. Gorb, L.; Podolyan, Y.; Leszczynski, J., *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)*, 1999, 487, 47–55.
6. Civcir, P.Ü., *J. Mol. Str. (THEOCHEM)*, 2000, 532, 157–169.
7. Tian, S. X.; Zhang, C. F.; Zhang, Z. J.; Chen, X. J.; Xu, K. Z., *Chem. Phys.*, 1999, 242, 217–225.
8. Gould, I. R.; Burton, N. A.; Hall, R. J.; Hiller, I. H., *J. Mol. Struct.*, 1995, 331, 147–154.
9. McConnell, J. F.; Sharma, B. D.; Marsh, R. E., *Nature*, 1964, 203, 399–400.
10. Vranken, H.; Smets, J.; Maest, G., *Spectrochim. Acta A*, 1994, 50, 875–889.
11. Etinski, M.; Marian, C. M., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2010, 12, 15665–15671.
12. Frisch, M., et al., *Gaussian03*, Revision D.01, Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 2004.
13. Fülcher, M. P.; Roos, B. O., *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, 117, 2089–2095.
14. Ismail, N.; Blancafort, L.; Olivucci, M.; Kohler, B.; Robb, M. A., *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, 124, 6818–6819.
15. Morita, H.; Nagakura, S., *Theoret. Chim. Acta (Berl.)*, 1968, 11, 279–295.
16. Brown, D. J.; Lyall, J. M., *Australian J Chem.*, 1962, 15, 851–857.
17. Chmura, B.; Rode, M.; Sobolewski, A.; Lapinski, L.; Nowak, M., *J. Phys. Chem. A*, 2008, 112, 13655–13661.
18. Sobolewski, A.L., *Chem. Phys. Lett.*, 1993, 211, 293–299.
19. Delchev, V. B.; Sobolewski, A. L.; Domcke, W., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2010, 12, 5007–5015.
20. Canuel, C.; Mons, M.; PiuZZi, F.; Tardivel, B.; Dimicoli, L.; Elhanine, M., *J. Chem. Phys.*, 2005, 122, 074316(6).

21. Sharonov, A.; Gustavsson, T.; Carre, V.; Renault, E.; Markovitsi, D., *Chem. Phys. Lett.*, 2003, 380, 173–180.
22. Callis, P. R., *Chem. Phys. Lett.*, 1979, 61, 563–567.
23. Matsika, S., *J. Phys. Chem. A*, 2004, 108, 7584–7590.
24. Matsika, S., *J. Phys. Chem. A*, 2005, 109, 7538–7545.
25. Perun, S.; Sobolewski, A. L.; Domcke, W., *J. Phys. Chem. A*, 2006, 110, 13238–13244.