

杂环光化学

III. 核酸碱基衍生物的电子光谱研究

周亚琳 刘晓云 樊美公*

(中国科学院感光化学研究所)

测定了腺嘌呤、胸腺嘧啶、6-氮杂腺嘌呤、6-氮杂胸腺嘧啶和它们的相应的二甲基衍生物以及鸟嘌呤、8-氮杂鸟嘌呤等十个化合物的吸收光谱、荧光光谱和磷光光谱。讨论了这类化合物的分子结构与光物理过程及激发态之间的关系。

核酸碱基光物理的研究对阐明光生物过程和光化学反应机理是不可缺少的。同时，核酸碱基又是一类重要的杂环化合物。可见，核酸碱基电子光谱的研究，无论在生物光化学还是杂环光化学中都是非常重要的。

腺嘌呤、胸腺嘧啶、鸟嘌呤及其甲基化衍生物的电子光谱在文献中已经有过一些报导^[1,2]。但是有关它们的相应氮杂类似物的电子光谱在文献中未见记载。

本研究的主要目的是：测定腺嘌呤、胸腺嘧啶、6-氮杂腺嘌呤、6-氮杂胸腺嘧啶及它们相应的甲基化产物以及鸟嘌呤、8-氮杂鸟嘌呤等十个化合物的吸收光谱、荧光光谱和磷光光谱；讨论这类化合物的分子结构与光物理过程及激发态之间的关系。

实验部分

实验仪器 吸收光谱是用 Opton, DMR22 自动记录分光光度计在室温(25℃)下进行的。荧光光谱及磷光光谱是用日立 MPF-4 荧光分光光度计在低温玻璃态(77K)中进行的。

试剂 腺嘌呤(U)、胸腺嘧啶(T)、鸟嘌呤(G)、8-氮杂鸟嘌呤(AG)是 Aldrich 化学公司产品进一步重结晶纯化而

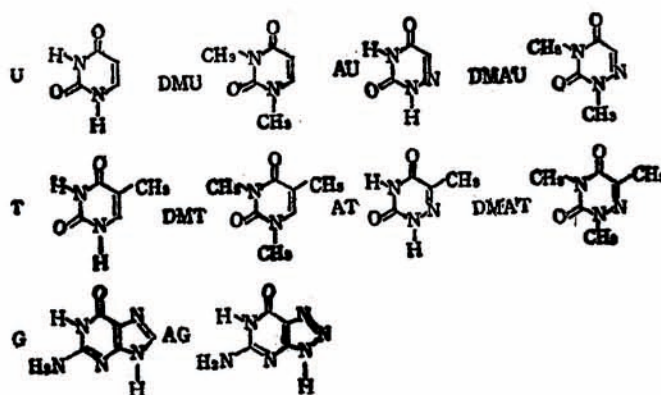


图1 (Fig. 1)

得。1,3-二甲基脲嘧啶(DMU)、1,3-二甲基胸腺嘧啶(DMT)、6-氮杂脲嘧啶(AU)、1,3-二甲基-6-氮杂脲嘧啶(DMAU)、6-氮杂胸腺嘧啶(AT)及1,3-二甲基-6-氮杂胸腺嘧啶(DMAT)是由本实验室按文献^[3]方法合成、纯化而得。其结构式如图1。

溶剂 无水乙醇、甲醇；2-甲基四氢呋喃均为国产分析纯，在测定光谱内无干扰。

浓度 吸收光谱为 $\sim 10^{-5} \text{mol L}^{-1}$ ，荧光光谱及磷光光谱为 $10^{-4} \sim 10^{-3} \text{mol L}^{-1}$ 。

结果与讨论

1. 分子结构与吸收光谱、激发态类型的关系

表1 核酸碱基及其类似物的吸收光谱数据*

Table 1 Absorption spectra data of nucleic acid bases and their derivatives*

Compound	$\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$		$10^3 \epsilon_{\text{max}}/\text{mol}$
	Exp.	Ref. [1]	
U	257	262	7.849
DMU	263	265	9.139
T	262	267	8.724
DMT	269	272	9.119
AU	260		7.079
DMAU	271		7.595
AT	261		5.798
DMAT	273		8.860
G	254	250 ^[2]	30.34
AG	257		38.27

* Date of absorption spectra was determined in EtOH-MeOH 3:1

由表1数据可知，在吸收光谱中，二甲基衍生物比相应的母体化合物最大吸收波长红移7—10nm。

对U和T吸光以后形成的激发态，究竟是 (n, π^*) 态还是 (π, π^*) 态，在文献中有过一些争论，Eaton^[4]等人认为是 (n, π^*) 态，Annex等人^[5]则认为是 (π, π^*) 态，而Becker等人^[1]又说核酸碱基的母体(U和T)为 (n, π^*) 态，而相应的二甲基衍生物(DMU)和(DMT)则为 (π, π^*) 态。我们认为，在这里所研究的分子中，由于其结构的特殊性，既含有多个 π 电子，又含有多对孤对电子，故应用纯粹的 (n, π^*) 态或 (π, π^*) 态的概念都不能很好地解释我们的实验数据。用混合态的概念来描述时则比较恰当，也与我们的实验数据相吻合。

就这些化合物的吸收波长而言，它们同典型羰基的 $n \rightarrow \pi^*$ 吸收类似。但就其摩尔消光系数而言，均在 10^3 以上。因此，所有的跃迁都是允许的，又不是典型的 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁。当用混合态的概念来描述时，就此时态而言，其波函数可用如下公式表示^[6]：

$$\Psi(s_1) = \psi(n, \pi^*) + \lambda \psi(\pi, \pi^*)$$

此处 λ 为混合系数，可用如下公式表示：

$$\lambda = \frac{\langle n, \pi^* | H | \pi, \pi^* \rangle}{E_{n, \pi^*} - E_{\pi, \pi^*}}$$

H 为两个激发态之间相互作用的算子。

由上式可知,这种相互作用越大,能差越小,混合的程度也越大。

类似地,我们也可以写出 (π, π^*) 态的状态波函数表达式。

由表1中的 ε 值可以看出,二甲基衍生物都比相应的母体要大些。这说明二甲基衍生物的 (π, π^*) 态的成分多于其母体,反之,母体中的 (n, π^*) 态成分则比其二甲基衍生物中的 (n, π^*) 成分要多。这和Becker等人的结论类似。

2. 分子结构与发射光谱、量子产率的关系

核酸碱基及其类似物的荧光光谱、磷光光谱和相对荧光、磷光量子产率在77K测定的结果见表2。

表2 核酸碱基及其类似物的发射光谱数据^[a]
Table 2 Emission spectra data of nucleic acid bases and their derivatives^[a]

Compound	Fluorescence spectrum(F)		Phosphorescence spectrum(P)	
	$(\lambda_f/nm) \pm 2$	$10^{-3}\phi_f$ (b)	$(\lambda_p/nm) \pm 2$	$10^{-3}\phi_p$ (b)
T	330	3.50	490	3.0
DMT	345	9.30	475	0.68
AT	335	0.25	515	5.0
DMAT	345	1.45	495	4.5
U	340	0.01	420	0.066
DU	330	0.09	430	0.05
AU	335	0.03	460	0.22
DMAU	340	0.04	460	0.32
G	320	7.21	450	7.45
AG	325	3.50	460	12.8

(a) Concentration of the samples for emission determination was 10^{-4} — 10^{-5} mol L⁻¹ in EtOH-MeOH 3:1.

(b) The quantum yield of fluorescence(ϕ_f) and the quantum yield of phosphorescence(ϕ_p) of thymine were used as standards, $\phi_{fs} = 0.035$ and $\phi_{ps} = 3 \times 10^{-3}$. The relative quantum yield of other compounds were calculated as follows^[7, 8].

$$\phi_f = \frac{I_f}{I_{fs}} \cdot \frac{\varepsilon_s}{\varepsilon} \cdot \frac{c_s}{c} \cdot \phi_{fs}$$

The relative quantum yields of phosphorescence were calculated as the same as fluorescence method.

从表2的数据可以看出,无论是荧光光谱还是磷光光谱,其最大发射波长,氮杂衍生物都比相应的类似物红移。而且磷光光谱红移较荧光光谱大得多。氮杂类似物的荧光量子产率比相应的母体要低,说明用N原子代替C原子后,有利于激发态进行系间窜跃。也就是说,使单线态形成三线态速度增加^[9]。结果降低了荧光量子产率,所形成的三线态,能量降低,致使红移。另一个原因是由于氮原子的引入,增加了一对孤对电子,通过旋-轨耦合,有利于 $n^2 \rightarrow {}^3(n, \pi^*)$ 态的形成。使这一过程由禁阻变为允许的了。因此,也必然降低其荧光量子产率。从表中还可以看出,二甲基衍生物都比相应的母体荧光量子产率大,说明二甲基衍生物中的 ${}^1(\pi, \pi^*)$ 成份多于其相应的母体。因为 ${}^1(\pi, \pi^*) \rightarrow {}^0(\pi, \pi)$ 跃迁是轨道

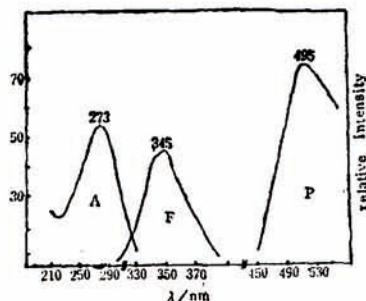


图2 在乙醇-甲醇中DMAT的吸收与发射光谱(77K)

Fig.2 Absorption(A), Fluorescence(F), Phosphorescence(P) spectra of DMAT in EtOH-MeOH at 77K

对称性允许的。

氮杂类似物比相应的核酸碱基的磷光量子产率要大,说明N原子代替C原子后,由于旋-轨耦合的结果,促进了系间窜跃,形成三线态以及 $n^2 \rightarrow {}^3(n, \pi^*)$ 跃迁过程。这是磷光量子产率增加的原因。

鸟嘌呤(G)和8-氮杂鸟嘌呤(AG)的磷光量子产率比所有的化合物都大1—2个数量级。这进一步证实了上面的结论。因为这两个化合物分别含有四个和五个氮原子。Buland^[10]和Becker^[11]等人指出吡嗪,嘧啶和均三嗪等杂环化合物的最低三线态是 $T_1(n, \pi^*)$ 。同理,由于旋-轨耦合的结果,使 $T_1(n, \pi^*) \rightarrow s_0(n^2)$ 过程变为允许跃迁过程,故增加磷光量子产率是完全可以理解的。

3. 激发波长的影响

表3 激发波长对发射光谱的影响

Table 3 Influence of excited wavelength on emission spectra

Compound	λ_f /nm		λ_p /nm	
	λ_{ex}	λ_{em}^{max}	λ_{ex}	λ_{em}^{max}
T	266	330	266	490
	285	350		
DMT	266	345	266	480
	300	350		
DMAT	266	345	266	495
	300	350		
U	266	340	266	420
	290	345		
AG	266	320	266	460
	280	325		

(a) Date of emission spectra were determined in EtOH-MeOH.

(b) Concentration(mol L⁻¹) of relative compounds were, T, 6.343×10^{-4} ; DMT, 5.18×10^{-4} ; DMAT, 1.57×10^{-3} ; U, 9.92×10^{-4} ; respectively.

从表3的典型数据可见,就大多数的化合物而言,当激发波长在254—280nm范围内改变时,其发射波长基本不变。但是,当使用285—300nm范围内的光激发时,则发射波长有红移现象。Salet等人^[12]的研究结果指出,就胸腺嘧啶和尿嘧啶而言, ${}^1(n, \pi^*)$ 态的能量低于 ${}^1(\pi, \pi^*)$ 态的能量。Daniels等人^[13]在研究了胸腺嘧啶的偏振荧光激发光谱时,测出了隐藏在 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁中的 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁,其最大波长为285nm。由此可见,当用285—300nm的光谱激发时, $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁的成份增加,能量降低,致使发射波长有所红移是不难理解的。

结 论

研究了十个核酸碱基及其类似物的吸收光谱、荧光光谱和磷光光谱,讨论了这些化合物的分子结构与激发态类型和光物理过程之间的关系。作者认为所有这些化合物的激发单线态既不是纯 ${}^1(n, \pi^*)$ 态,也不是纯 ${}^1(\pi, \pi^*)$ 态。用二者形成混合态的概念来描述是比较恰当的,

对姜永才同志在发射光谱测定中给予的帮助表示衷心感谢。

参 考 文 献

- [1] Becker, R.S., Kogan, G., *Photochem. Photobiol.*, 1979, 31, 5—13.
[2] Wilson, R.W., Callis, P.R., *Photochem. Photobiol.*, 1979, 31, 323—327.
[3] Bobek, M., Farkas, J., Gut, J., *Collection of Czechoslovak Chemical Communication.*, 1967, 32(3), 1295.
[4] Eaton, W.A., Lewis, T.P., *J. Chem. Phys.*, 1970, 53, 2164—2172.
[5] Annex, B.G., Fucalero, A.F., Dutta-Ahmed, A., *J. Phys. Chem.*, 1975, 79, 2636—2639.
[6] Turro, N.J., "Modern Molecular Photochemistry", pp.96—103, The Benjamin/Cummings Pub. Comp., Inc. California, 1978.
[7] Rbaer, J.F., "Experimented. Methods in Polymer Chemistry", Chap.16, 1983.
[8] 葱云祥、贾欣, 分析化学, 1986, 14(8), 616.
[9] Tuanvo-Dinh, "Room Temperature Phosphorimetry for Chemical Analysis" Chap.1, Wiley-Interscience, New York, 1984.
[10] Burland, D.M., Schmidt, J., *Mol. Phys.*, 1971, 22, 19.
[11] Becker, R.S., "Theory and Interpretation of Fluorescence and Phosphorescence", Wiley-Interscience, New York, 1969.
[12] Saleh, C.R., Becker, R.S., *Photochem. Photobiol.*, 1979, 30, 325—329.
[13] Morgan, J.P., Daniels, M., *J. Phys. Chem.*, 1982, 86, 4004—4007.

PHOTOCHEMISTRY OF HETEROCYCLES

III. INVESTIGATION OF ELECTRON SPECTROSCOPY OF

NUCLEIC ACID BASES AND ITS DERIVATIVES

Zhou Yalin Liu Xiaoyun Fan Meigong*

(Institute of Photographic Chemistry, Academia Sinica, Beijing)

ABSTRACT

Absorption, Fluorescence and Phosphorescence Spectra of uracil, 1,3-dimethyl uracil, thymine, 1,3-dimethylthymine, 6-aza-uracil, 1,3-dimethyl-6-aza-uracil, 6-aza-thymine, 1,3-dimethyl-6-aza-thymine, guanine and 8-aza-guanine were determined. Relationship of molecular structure with photophysics and excited state was discussed.

The conclusion is that the singlet state of these compounds is neither pure $^1(n, \pi^*)$ nor pure $^1(\pi, \pi^*)$. It is suitable when the mixing state was used to describe the singlet state of the compounds.