

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
«УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ»

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ШАФРАНЬОШ МИРОСЛАВ ІВАНОВИЧ

УДК 539.18/.19, 537.563.2, 544.173/.174

ДИСЕРТАЦІЯ

НЕПРУЖНІ ЗІТКНЕННЯ ЕЛЕКТРОНІВ З МОЛЕКУЛАМИ
АЗОТИСТИХ ОСНОВ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ

Спеціальність 01.04.04 – фізична електроніка

(Природничі науки)

Подається на здобуття наукового ступеня доктора фізико-математичних наук.
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Шафраньош М.І.

Науковий консультант: Малінін Олександр Миколайович, доктор фізико-
математичних наук, професор

Ужгород – 2024

АНОТАЦІЯ

Шафраньош М.І. Непружні зіткнення електронів з молекулами азотистих основ нуклеїнових кислот. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора фізико-математичних наук за спеціальністю 01.04.04 «фізична електроніка». – Державний вищий навчальний заклад «Ужгородський Національний університет», Ужгород, 2024.

У дисертаційній роботі представлені підсумки комплексного дослідження фізичних процесів та відповідних структурних змін, спричинених у нуклеотидних основах нуклеїнових кислот низькоенергетичним монокінетичним пучком електронів з енергією від 0,1 еВ до десятків еВ та ультрафіолетовим випромінюванням з енергією, меншою 5 еВ. Запропонований новий підхід до вивчення впливу на біосистеми низькоенергетичних чинників, в основі якого лежить методика отримання біомолекул в ізольованому стані, формування молекулярних пучків і реалізація методу пучків, що пересікаються: молекулярного і електронного. Розроблена оригінальна методика створення плівок біомолекул методом квазірівноважного термічного наплення у вакуумі.

Досліджені процеси збудження, іонізації і фрагментації молекулярних складових нуклеїнових кислот електронним ударом. Отримані спектри випромінювання урацилу, цитозину, тиміну, гуаніну та аденіну в діапазоні довжин хвиль 200 – 500 нм при різних енергіях електронного пучка. Експериментальним чином встановлено та теоретичними засобами квантової хімії підтверджено, що складне суперпозиційне походження спектрів віддзеркалює одночасне протікання різноманітних фізичних процесів. Інакше кажучи, крім безпосереднього збудження синглетних та триплетних станів біомолекул основ, присутні процеси дисоціативного збудження, а також збудження іонізованих біомолекул та їх фрагментів. Для ідентифікації спектральних ліній детально досліджені відповідні функції збудження, визначені енергетичні пороги процесів, здійснений мас-спектрометричний аналіз процесів

іонізації біологічно важливих молекул електронним ударом, проведені напівемпіричні квантово-хімічні розрахунки параметрів їх структури.

Експериментальним шляхом визначено абсолютні величини повних перерізів утворення позитивних і негативних іонів для канонічних основ нуклеїнових кислот, досліджено відповідні енергетичні залежності перерізів (функції іонізації), виміряно енергетичні пороги процесів. Встановлено, що перерізи утворення позитивних іонів більші для пуринових основ, ніж для піримідинових. Показано, що перерізи утворення негативних іонів є меншими на два порядки ніж для позитивних. Показано, що електрони енергією, меншою за поріг електронного збудження (< 3 eV), ефективно руйнують молекули основ, продукуючи радикали водню і негативно заряджені фрагменти цих молекул. а утворення позитивного молекулярного іону може ініціювати точкові зміни.

Методами абсорбційної (в інфрачервоній і ультрафіолетовій областях) спектроскопії та діелектрометрії досліджено вплив ультрафіолетового випромінювання різних довжин хвиль на молекули ДНК і її компоненти. На підставі аналізу експериментальних даних та квантово-хімічних розрахунків з'ясовано, що, на відміну від електронів тих же енергій, ультрафіолет, в основному, модифікує міжмолекулярні взаємодії.

Ключові слова: нуклеїнові кислоти, азотисті основи, низькоенергетичні електрони, ультрафіолетове випромінювання, квантово-хімічні напівемпіричні розрахунки, мас-спектрометрія, абсорбційна спектроскопія.

SUMMARY

Shafranyosh M.I. Inelastic collisions of electrons with molecules of nucleic acid bases. – The manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of Sciences in Physics and Mathematics by speciality 01.04.04 "Physical electronics" (10 - Natural sciences). – Uzhhorod National University, Uzhhorod, 2024.

Thesis presents the results of a complex study of the physical processes and corresponding structural changes initiated in the molecular components of nucleic acids by slow electrons with energies from 0.1 eV to tens of eV. A new approach to the study of the influence of low-impact factors on biological systems is proposed. It is based on the development of methods for obtaining biomolecules in an isolated (gaseous) state, the formation of molecular beams, and the implementation of the method of crossed electron-molecular beams. The processes of excitation, ionization, and fragmentation of nucleic acid base molecules under electron impact were studied. Emission spectra of cytosine, thymine, uracil, guanine, and adenine in the wavelength range from 200 nm to 500 nm for different incident electron energies were obtained. Complicated nature of the spectra shows the simultaneous passage of several physical processes, including dissociative excitation and excitation of the ionized fragments of the nucleobase molecules. The identification of the spectral bands of the excitation functions of biomolecules was studied, and the mass spectrometric analysis of the bases was performed. Semi-empirical quantum-chemical calculations of structure parameters were carried out. The absolute ionization cross section value of positive ions production of canonical nucleic acid bases and energy dependences of ionization cross-sections (ionization functions) from a threshold up to 200 eV incident electron energy range were determined. Ionisation functions had smooth form with weakly-pronounced features and a broad maximum in the 73 – 95 eV region.

In particular, the ionization cross section value for adenine came to the maximum at an electron energy 90 eV and was equal to $(2,8 \pm 0.15) \cdot 10^{-15} \text{ cm}^2$, for guanine the

maximum ionization cross section value was equal to $(3,2 \pm 0.15) \cdot 10^{-15} \text{ cm}^2$ and was observed at an an electron-beam energy of 88 eV. The absolute ionization cross section value of negative ions formation of these molecules were determined at the energy range from the threshold to 200 eV. The maximum value of the ionization cross section for adenine was $(6.0 \pm 1.2) \cdot 10^{-18} \text{ cm}^2$ and reached at an energy of 1.1 eV, for guanine it acquired a value of $(7.8 \pm 1.2) \cdot 10^{-18} \text{ cm}^2$ at an electron energy of 1, 2eV. It was shown that process of negative ion production has resonant character and is accompanied with dissociation of molecules. Mass spectra of adenine and guanine molecules were investigated at electron energy 95 eV. The most intensive lines of mass spectra correspond to molecular ions and also for products of fragmentation of pyrimidine and purine. It is noticed that electrons with energies below the threshold of electronic excitation ($< 3\text{eV}$), effectively destroy a molecule of bases, producing thus radicals of hydrogen and negatively charged fragments of these molecules, and formation of a positive molecular ion causes point damage to DNA.

The influence of ultraviolet radiation of different wavelengths on DNA and nucleotide bases were investigated using methods of absorption spectroscopy and dielectrometry. To compare the changes in the DNA components caused by the electrons and by electromagnetic radiation within the given energy range, the investigation of the ultraviolet radiation affect on the nucleobases was done. Films of cytosine, guanine and their complex were obtained by thermal vacuum sublimation. Infrared absorption spectra of cytosine, guanine and their complex were recorded. It was found that the molecules had formed different cluster types (associates) in the films including crystalline hydrates. A number modifications in the spectra under ultraviolet have been detected. Based on a comparative analysis of the ultraviolet- irradiated and control samples spectra it was proposed that the influence of the ultraviolet radiation leads to modification of the nucleobases intermolecular interactions through redistribution of relative amount of different cluster types, which agrees with quantum-chemical calculations. Most probably the process occurs via ultraviolet induced electronic excitation of some selective stereochemical types of associates. It was suggested that in the living cell conditions long-wave ultraviolet radiation alterants the

molecular recognition processes. This interpretation was confirmed via investigation of ultraviolet radiation effect on the nucleic acids in vivo at the biological model (through regeneration dynamics study). Based on the analysis of experimental data and quantum-chemical calculations is found the fact that ultraviolet mostly modify intermolecular interactions, in contradistinction to the same energies electrons.

Keywords: nucleic acids, nucleobases, low energy electrons, ultraviolet radiation, semi-empirical quantum-chemical calculations, mass spectrometry, absorption spectroscopy.

**НАУКОВІ ПРАЦІ, В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ
ОСНОВНІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ**

*Статті наукових періодичних видань, які індексовано в наукометричних
базах даних Scopus та Web of Science Core Collection*

1. **Shafranyosh M.I.**, Zapotokova M., Sukhoviya M.I., Petruyak V.I., and Shafranyosh I.I. Electronic Ionization of Cytosine Molecules // Surface Engineering and Applied Electrochemistry. 2022. V. 58, № 1. P. 82–86. **Scopus Q3**
2. Shpenyk, V., **Shafranyosh, M.**, Molnar, S., Shpenik, O., Sukhoviia, M., Shafranyosh, I. Specifics of the Photoluminescence of Cytosine in Water Solution // Journal of Physical Studies. 2022. V. 26, № 4. P. 4802-1–4802-5. **Scopus Q3**
3. **Shafranyosh M.I.**, Zapotokova M., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I., Svida Yu.Yu. Luminescence of cytosine vapor in an electric discharge // Journal of Applied Spectroscopy. 2020. V. 87, № 2. P. 256–259.
4. **Shafranyosh, M.I.**, Kish, D.B. Processes of formation of positive ions at the electron - thymine molecule interactions // Bulletin of the Taras Shevchenko National University of Kyiv. Physics and Mathematics, 2019. № 2. P. 104–107.
5. Sukhoviya, M.I., Birdus, S.E., **Shafranyosh, M.I.**, Svida, Yu.Yu., Shafranyosh, I.I. Molecular mechanisms of influence of slow electrons on biological structures // Biophysical Bulletin, 2019. № 42. C. 68–74.
6. Minaev B.F., **Shafranyosh M.I.**, Svida Y.Y., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I., Baryshnikov G.V., Minaeva V.A. Fragmentation of the adenine and guanine molecules induced by electron collisions // J. Chem. Phys. 2014. V.140. P. 175101-1–175101-15. **Scopus Q1**
7. Sukhoviya M.I., Shafranyosh M.I., Chavarga M.M., Shafranyosh I.I. Electron impact ionization and excitation of uracil molecules // Ukr. J. Phys. 2012. V. 57, № 7. P. 752–760. **Scopus Q3**
8. Sukhoviya M.I., **Shafranyosh M.I.**, Shafranyosh I.I. Spectral investigation of the electron-impact excitation of the nucleic acid base molecules // In:Spectroscopy of

Biological Molecules: New Directions. Kluwer Academic Publishers (Dordrecht / Boston/ London), Edited by J.Greve, G. Puppels, C. Otto. 1999. P. 281–282.

9. Sukhovija M.I., Voshchepinec E.I., **Shafranyosh M.I.**, Shimon L.L. Electron-impact excitation and ionization of the adenine // Biopolymers and Cell. 1996. V. 12, № 3, P. 97–100.

Статті у наукових фахових періодичних виданнях України та інших держав із напрямку, з якого підготовлено дисертацію

10. Шпеник В.Ю., **Шафраньош М.І.**, Молнар Ш.Б., Шпеник О.О., Свида Ю.Ю., Суховія М.І., Шафраньош І.І. Люмінесценція нуклеотидної основи гуаніну при різних способах збудження // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія : Фізика. 2020. №. 47. С. 112–119.

11. Кузьма В.В., **Шафраньош М.І.**, Митропольський І.Є., Суховія М.І., Свида Ю.Ю., Шафраньош І.І. Люмінесценція молекул азотистої основи урацилу в різних фазових станах під дією електронного пучка // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Фізика. 2018. Т. 43. С. 117–124.

12. Шафраньош І.І., Свида Ю.Ю., **Шафраньош М.І.**, Маргітич М.О., Суховія М.І., Чаварга М.М., Маргітич Б.М., Бокоч Ю.В. Люмінесценція молекул аденіну в газовій фазі під дією пучка електронів // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Фізика. 2017. Т. 41. С. 126–131.

13. Свида Ю.Ю., **Шафраньош М.І.**, Шамудовський Е.Ю., Перчак І.І., Маргітич М.О., Суховія М.І., Чаварга М.М., Шафраньош І.І. Люмінесценція молекул гуаніну в газовій фазі під дією пучка електронів // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Фізика. 2016. № 39. С. 106–110.

14. Шафраньош І.І., Свида Ю.Ю., Суховія М.І., Шкиндя В.Ю., **Шафраньош М.І.** Спектр свічення електричного розряду в парах цитозину // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Фізика. 2016. № 39. С. 88–92.

15. Свида Ю.Ю., Суховія М.І., Маргітич М.О., Шафраньош М.І., Шафраньош І.І. Спектр свічення електричного розряду в парах аденіну // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Фізика. 2015. № 38. С. 33–37.

16. **Шафраньош М.І.**, Жиган А.В., Свида Ю.Ю., Суховія М.І., Сільваші В.С., Шафраньош І.І., Мінаєв Б.П., Баришніков Г.В., Мінаєва В.А. Іонізація молекул гуаніну в зіткненнях з електронами // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Фізика. 2014. № 36. С. 137–143.
17. **Шафраньош М.І.**, Хмара І.Ю., Суховія М.І., Головня М.С., Шафраньош І.І. Фрагментація молекул цитозину під дією електронного удару // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Фізика. 2013. № 33. С. 137–141.
18. Суховія М.І., Шваб Р.Л., **Шафраньош М.І.**, Павлючок-Гогерчак О.В., Стецович В.В., Шафраньош І.І. Деякі фізичні аспекти радіаційних змін біомолекулярних структур // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Фізика. 2010. № 28. С. 82–86.
19. Артур Пелешко, Йолана Туровці-Шютєв, Олександр Шпенік, **Мирослав Шафраньош**. Перспективи розвитку навчального фізичного експерименту // ГУ: історія і сучасність. 2024. №. 32. С. 209–224.

Монографії

20. **Шафраньош М.І.**, Суховія М.І., Шафраньош І.І. Молекулярні механізми впливу низькоенергетичних факторів довкілля на біологічні структури; монографія. Ужгород : Видавництво УжНУ «Говерла», 2022. 338 с. ISBN 978-617-7825-74-5.

Наукові праці апробаційного характеру

21. **Шафраньош М.І.**, Магус Г.Р., Різак М.В., Шафраньош О.І., Маргітич М.О., Суховія М.І. Біофізичне моделювання первинних процесів радіаційного ураження біосистем // XV Міжнародна конференція по прикладній біофізиці. біоніці та біокібернетиці : Тези доп., 11 квітня 2024, Київ, 2024. С. 43–44.
22. Sukhoviya Maria, **Shafranyosh Miroslav**, Rizak Mihaylo, Matyovka Yuriy, Shafranyosh Ivan. Electron impact effect on the biostructures // 8 Int. Conf.

Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects : Book of Abstr., 3–6 October 2023, Kyiv, 2023. P. 65.

23. Сароз М.М., **Шафраньош М.І.**, Маргітич М.О., Суховія М.І., Молнар Ш.Б., Лемко А.І., Шпеник О.О., Шафраньош І.І. Фотолюмінесценція водного розчину молекул тиміну // Міжнародна конференція молодих учених та аспірантів ІЕФ-2023 : Тези доп., 15–18 травня 2023, Ужгород, 2023. С. 74–89.

24. **Шафраньош М.І.**, Суховія М.І., Шафраньош І.І. Утворення позитивних і негативних іонів біомолекул під дією електронів // Міжнародна конференція «Ужгородська школа з атомної фізики та квантової електроніки» до 100-річчя від дня народження професора І.П. Запісочного : Тези доп., 26–27 травня 2022, Ужгород, 2022. С. 84–89.

25. Sukhoviya M.I., Shastun M.O., Tretiakova T.J., Birdus S.E., **Shafranyosh M.I.**, Tovt V.C., Semenuk K.A., Chavarga M.M., Margitych B.M., Shafranyosh I.I. Biophysical mechanisms of the influence of slow electrons on biostructures // 7 Int. Conf. Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects : Book of Abstr., 4–8 October 2021, Kharkiv, 2021. P. 90.

26. Sukhoviya M.I., Shastun M.O., **Shafranyosh M.I.**, Tovt V.Ch., Shafranyosh I.I. Ionization of the nucleic acid base molecules under electron impact // 7 Int. Conf. Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects : Book of Abstr., 4–8 October 2021, Kharkiv, 2021. P. 91.

27. Брандіс Й.Й., Кузьма В.В., **Шафраньош М.І.**, Круцан А.М., Колесніченко А.-М.С., Суховія М.І., Митропольський І.Є., Шафраньош І.І. Свічення гліцину під дією електронів // Міжнародна конференція молодих вчених та аспірантів ІЕФ-2021 : Тези доп., 26–28 травня 2021, Ужгород, 2021. С. 122.

28. Шпеник В.Ю., **Шафраньош М.І.**, Маргітич Б.М., Суховія М.І., Молнар Ш.Б., Шпеник О.О., Шафраньош І.І. Люмінесценція молекул цитозину різними способами збудження // Міжнародна конференція молодих вчених та аспірантів ІЕФ-2021 : Тези доп., 26–28 травня 2021, Ужгород, 2021. С. 66.

29. Суховія М.І., Балоба М.Т., **Шафраньош М.І.**, Маргітич. Б.О., Бузін І.І., Свида Ю.Ю., Шафраньош І.І. Біофізичні механізми впливу низькоенергетичних

випромінювань на біоструктуру // VIII з'їзд Українського біофізичного товариства (УБФТ) : Тези доп., 12–15 жовтня 2019, Київ-Луцьк, 2019. PC23.

30. Sukhoviya M., Baloha M., Makosiy Y., **Shafranyosh M.**, Petruyak V., Shafranyosh I. Excitation and ionization of biomolecules by slow electrons // 6-th International Conference NBP-2019, Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects : Book of Abstr., 1–4 October 2019, Kyiv, 2019. P. 88–89.

31. Шпеник В. Ю., **Шафраньош М. І.**, Молнар Ш. Б., Шпеник О. О., Свида Ю. Ю., Суховія М. І., Шафраньош І. І. Люмінесценція нуклеотидної основи гуаніну при різних способах збудження // Міжнародна конференція молодих учених і аспірантів ІЕФ-2019 : Тези доп., 21–24 травня 2019, Ужгород, 2019. С. 114–115.

32. **Шпеник В.Ю., Шафраньош М.І.**, Молнар Ш.Б. Флюоресценція водних розчинів гуаніну // Всеукраїнська наукова конференція «Аналітична хімія – методи та інструменти : Тези доп., 15–17 травня 2019, Ужгород, 2019. С. 78.

33. **Shafranyosh M.I.**, Svida Yu.Yu., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I. Emission of spectral bands and lines at electron impact excitation of gas-phase guanine molecules // International Scientific Conference: «Molecular Engineering and Computational Modelling for Nano and Biotechnology: From Nanoelectronics to Biopolymers» : Book of Abstr., 25–26 September 2018, Cherkasy, Ukraine, 2018. P. 115–118.

34. Суховія М.І., Бірдус С.Е., **Шафраньош М.І.**, Митропольський І.Є., Кузьма В.В., Свида Ю.Ю., Шафраньош І.І. Спектри люмінесценції основ нуклеїнових кислот у різних фазових станах під дією електронного пучка // VII з'їзд Українського біофізичного товариства (УБФТ) : Тези доп., 29 жовтня – 2 листопада 2018, Київ-Луцьк, 2018. С. 51.

35. **Shafranyosh M.I.**, Svyda Y.Y., Margitych M.O., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I. Luminescence of adenine molecules in gas phase under the low energy electron beam // International Symposium on Molecular Spectroscopy, 72nd Meeting, Section: Small molecules. Intermission: Book of Abstr., 19–23 June 2017, Champaign-Urbana, Illinois, 2017. TK10. P. 24–25.

36. Sukhoviya M.I., **Shafranyosh M.I.**, Perchak I.I., Marchuk V.M., Birdus S.E., Shafranyosh I.I. Interaction of slow electrons with DNA molecules // 5-th International

Conference. Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects Aspects «NBP-2017» : Book of Abstr., 2–5 October 2017, Kharkiv, 2017. P. 45.

37. Shafranyosh I.I., Svida Yu.Yu., **Shafranyosh M.I.**, Margitich M.O., Sukhoviya M.I., Petruljak V.I. The luminescence of guanine molecules under the electron beam. // 5-th International Conference. Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects Aspects «NBP-2017» : Book of Abstr., 2–5 October 2017, Kharkiv, 2017. P. 93.

38. Svida Yu.Yu., **Shafranyosh M.I.**, Margitich M.O., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I. Excitation of guanine molecules in gas phase under the low energy electron beam // XIII International Scientific Conference “Electronics and Applied Physics”. Section 5: Medical Physics : Book of Abstr., 24–27 October 2017, Kyiv, 2017. P. 141.

39. Svida Yu.Yu., **Shafranyosh M.I.**, Margitich M.O., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I. Excitation of guanine molecules in gas phase under the low energy electron beam // XXX Int. Conf.on Photonic, Electronic and Atom Collisions : Book of Abstr., 26 July – 1 Aug 2017, Queensland, Australia, 2017. P. TH-57.

40. Свида Ю .Ю., Шафраньош І.І., Суховія М.І., **Шафраньош М.І.** Свічення парів молекул гуаніну під дією електронного пучка // Міжнародна конференція молодих учених і аспірантів ІЕФ-2017 : Тези доп., 23–26 травня 2017, Ужгород, 2017. С. 147–148.

41. **Shafranyosh M.I.**, Svida Yu.Yu., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I. Luminescence spectra of guanine molecules under the electron impact // 33rd European Congress on Molecular Spectroscopy : Book of Abstr., 31 July – 4 August 2016, Szeged, Hungary, 2016. P. 93.

42. Shafranyosh I.I., Svyda Yu.Yu., **Shafranyosh M.I.**, Sukhoviya M.I. Luminescence spectra of cytosine molecules under the conditions of electrical discharge // XXIX Int. Conf.on Photonic, Electronic and Atom Collisions : Book of Abstr., 22–28 July 2015, Toledo, Spain, 2015. P. MO-045.

43. Svyda Y.Y., **Shafranyosh M.I.**, Chavarga M.M., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I. Peculiarities of Cytosine Molecules Luminescence under Different Excitation Conditions // Fundamental and Applied Aspects. IV Int. Conf. (Nanobiophysics 2015): Book of Abstr., 1–4 Oct. 2015, Kyiv, 2015. P. 60.

44. Svyda Yu.Yu., **Shafranyosh M.I.**, Chavarga M.M., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I. Luminescence spectra of adenine molecules under the conditions of electrical discharge // XXII Int. School-Seminar of Galyna Puchkovska «Spectroscopy of Molecules and Crystals : Book of Abstr., 27 Sept. – 4 Nov. 2015, Chynadiyovo, Zakarpattia, Ukraine, 2015. P. 66.
45. Свида Ю.Ю., **Шафраньош М.І.**, Дзяпко О.В., Суховія М.І., Маргітич М.О., Гала С.І., Шафраньош І.І. Спектр свічення електричного розряду в парах аденіну // Міжнародна конференція молодих учених і аспірантів ІЕФ : Тези доп., 18–22 травня 2015, Ужгород, 2015. С. 227.
46. Хмара І.Ю., Свида Ю.Ю., **Шафраньош М.І.**, Суховія М.І., Перчак І.І., Шафраньош І.І. Фрагментація молекул урацилу в процесі зіткнень з електронами // Міжнародна конференція молодих учених і аспірантів ІЕФ : Тези доп., 18–22 травня 2015, Ужгород, 2015. С. 126.
47. Суховія М.І., **Шафраньош М.І.**, Дзяпко О.В., Парлаг В.В., Свида Ю.Ю., Шафраньош І.І. Процеси іонізації і збудження біомолекул та їх біофізичне значення // VI з'їзд Українського біофізичного товариства : тези допов., 27–29 трав. 2015 р., Світязь, Луцьк, 2015. С. 76.
48. **Шафраньош М.І.** Іонізація гетероциклічних компонент молекул ДНК і РНК електронним ударом // Ungvári Nemzeti Egyetem Magyar Tannyelvű Humán-és Természettudományi Karának Tudományos Közleményei. 2015. С. 360-367.
49. Shafranyosh Ivan, Svyda Yuri, **Shafranyosh Miroslav**, Gala Serhiy, Sukhoviya Maria. Uracil Cluster Formation under the Conditions of Discharge above the Surface of Water Solution. // 6th Conference on Elementary Processes in Atomic Systems – CEPAS 2014 : Contributed papers, 9–12 July 2014, Bratislava : Comenius University, Slovakia, 2014. P. 253.
50. Sukhoviya M.I., **Shafranyosh M.I.**, Tovt V.Ch., Shafranyosh I.I. Formation of the negative ions of biomolecules by electron impact // X Int. Conf. “Cosmos and Biosphere” : Book of Abstr., 23–28 Oct. 2013, Crimea, Ukraine, 2013. P. 236.
51. Sukhoviya M.I., Isak T.I., **Shafranyosh M.I.**, Tovt V.Ch., Shafranyosh I.I. Inelastic interaction of slow electrons with biomolecules// 3rd Int. Conf.

“Nanobiophysics: fundamental and applied aspects” : Book of Abstr., 7–10 Oct. 2013, Kharkiv, 2013. P. 190.

52. **Shafranyosh M.I.**, Isak T.I., Tovt V.Ch., Shafranyosh I.I., Sukhoviya M.I. Electron impact excitation and ionization of nucleic acid base molecules // Spectroscopy of Molecules and Crystals. Galyna Puchkovska International School-Seminar : Book of Abstr., 22–29 Sept. 2013, Beregove, Crimea, Ukraine, 2013. P. 247.

53. **Shafranyosh M.I.**, Sukhoviya M.I., Chavarga N.N, Shafranyosh I.I. Electron impact dissociative excitation and dissociative ionization of gas-phase nucleic acid base molecules // XXVIII ICPEAC. Abstract ID 18268 : Book of Abstr., 24–30 July 2013, Lanzhou, China), 2013. P. Th-67.

54. Хмара І.Ю., **Шафраньош М.І.**, Суховія М.І., Шафраньош І.І., Мінаєв Б.П., Баришніков Г.В., Мінаєва В.А. Моделювання фрагментаційних процесів молекул аденіну та гуаніну в зіткненнях з електронами // Міжнародна конференція молодих учених і аспірантів ІЕФ-2013 : Тези доп., 20–23 травня 2013, Ужгород, 2013. С. 72.

55. Sukhoviya M.I., **Shafranyosh M.I.**, Shafranyosh I.I. Inelastic interaction of secondary electrons with biostructures // IX Int. Conf. “Cosmos and Biosphere” : Book of Abstr., 10–15 Oct. 2011, Alushta, Crimea, Ukraine, 2011. P. 164.

56. Sukhoviya M.I., **Shafranyosh M.I.**, Shvab R.L., Shafranyosh I.I. Excitation and ionization of uracil molecules by electron impact // Nanobiophysics: fundamental and applied aspects : Second Int. Conf. : Book of Abstr., 6–9 Oct. 2011, Kyiv, 2011. P. 123.

57. Shafranyosh I.I., Stetsovych V.V., **Shafranyosh M.I.**, Sukhoviya M.I. Luminescence of uracil molecules under the influence of electron impact // XX ISSSCM : Book of Abstr., 20–27 Sept. 2011, Beregove, Crimea, Ukraine, 2011. P. 275.

58. I.I. Shafranyosh, M.I. Sukhoviya, M.O. Margitich, **M.I. Shafranyosh**, L.L. Shimon Shafranyosh I.I. Electron impact excitation and ionization functions of gas-

phase thymine molecules // XXV ICPEAC : Book of Abstr., 25–31 July 2007, Freiburg, Germany, 2007. P. Fr 111.

59. Petrushko I., Sukhoviya M., **Shafranyosh M.** Thymidine and 5-bromouridine perturbation upon anion formation. Quantum chemical study // XXV ICPEAC : Book of Abstr., 25–31 July 2007, Freiburg, Germany, 2007. P. Th 069.

60. Margitych M.O., Sukhoviya M.I., **Shafranyosh M.I.**, Shafranyosh I.I. Electron impact excitation and ionization functions of gas-phase nucleic acid base molecules // XVIII ISSSMC : Book of Abstr., 20–27 Sept. 2007, Beregove, Crimea, Ukraine, 2007. P. 112.

61. **Shafranyosh M.I.**, Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I. Spectral investigation of the slow-electrons interaction with nucleic acid bases // XXVIII EUCMOS : Book of Abstr., 3–8 Sept. 2006, Istanbul, Turkey, 2006. P. Th 04.

62. Petrushko I.A., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I. **Shafranyosh M.I.** Investigation of the slow-electrons inelastic interaction with biomolecules // Int.Conf. "Current developments in atomic, molec. and opt. physics with applications" : Book of Abstr. Edited by Man Mohan, 21–23 March 2006, Delhi, India, 2006. P. 151

63. Суховія М.І., **Шафраньош М.І.**, Шимон Л.Л., Шафраньош І.І. Спектральне та мас-спектрометричне вивчення процесів взаємодії повільних електронів з нуклеотидними основами // IV з'їзд Українського біофізичного товариства : Тези доп., 19–21 груд. 2006 р., Донецьк, 2006. С. 321–322.

64. Суховія М.І., Петрушко І.А., **Шафраньош М.І.**, Шафраньош І.І. О значении медленных электронов в радиобиологических применениях // Мат. Межд. Конгр. по Мед. Физике. Секц. Новые физ. методы, приборы и технол. для медицины ч.2.: тез. докл., 21–24 июля 2005, Москва, 2005. С. 76–77.

65. **Shafranyosh M.I.**, Sukhoviya M.I., Shimon L.L., Shafranyosh I.I. Investigation of the slow-electrons inelastic interaction with nucleic acid bases // Int. Conf. EPAS : Book of Abstr., Aug. 2005, Miskolc. Hungary, 2005. P. 116.

66. Sukhoviya M.I., Vladika N.Yu., **Shafranyosh M.I.**, Perehanec V.V., Shafranyosh I.I. Spectral investigation of the slow-electrons inelastic interaction with nucleic acid bases // Spectroscopy of Molecules and Crystals: XVII Galyna Puchkovska

International School-Seminar : Book of Abstr., Beregove, Crimea, Ukraine, 2005. P. 275–276.

67. **Shafranyosh M.**, Sukhoviya M., Shimon L., Shafranyosh I. Physical processes in nucleic acid bases under electron impact and its significance // Int. Conf. ECAMP8 : Book of Abstr., 6–10 July 2004, Rennes, France, 2004. P. 13-19-B.

68. Sukhoviya M.I., **Shafranyosh M.I.**, Shimon L.L., Shafranyosh I.I. Structural changes in biomolecules under electron impact // Проблеми біологічної і медичної фізики. I Укр. наук. конф. : тези доп., 20–22 вер. 2004 р., Харків, 2004. С. 63.

69. Sukhoviya M.I., **Shafranyosh M.I.**, Shafranyosh I.I. Physical processes in nucleic acid bases under electron impact and their significance // X. European Conf. on the Spectroscopy of Biological Molecules (X ECSBM) : Book of Abstr., 30 Aug. – 04 Sep. 2003, Szeged, Hungary, 2003. P. 285.

70. Sukhoviya M.I., Petrushko I.A., **Shafranyosh M.I.** Excitation functions of the thymine molecules emission under the electron impact // 9 Europ. Conf. on the Spectr. of Biol. Mol. : Book of Abstr., 8–13 Sep. 2001, Prague, Czech Republic, 2001. P. 194.

71. Sukhoviya M., Bogdan M., Petrushko I., **Shafranyosh M.** Spectral investigation of the slow electron interaction with biomolecules in gas phase // XXV European Congress on Molecular Spectroscopy (EUCMOS XXV) : Book of Abstr., 27 Aug. – 1 Sep. 2000, Coimbra, Portugal, 2000. P. 329.

72. Суховия М.И., **Шафраньош М.И.** Возбуждение и ионизация биомолекул электронным ударом // II Биофизический съезд России : Тезисы докл., 23–27 августа 1999, Москва, 1999. С. 164–165.

73. **Shafranyosh M.I.**, Sukhoviya M.I., Shimon L.L. Electron-impact ionization of the nucleic acid base molecules // XXI ICPEAC : Book of Abstr., 22–27 July 1999, Sendai, Japan, 1999. P. 320, TU038.

Підручники та освітні видання із напрямку, з якого підготовлено дисертацію

74. Суховія М.І., **Шафраньош М.І.**, Шафраньош І.І. Методи медико-біологічних досліджень : навчальний посібник для студентів спеціальності «Біомедична інженерія». Ужгород : Видавництво УжНУ «Говерла», 2022. 53с.

75. Шафраньош І.І., Суховія М.І., **Шафраньош М.І.** Фізичні поля і живі організми : підручник для студентів спеціальності «Біомедична інженерія». Ужгород : Видавництво УжНУ «Говерла», 2021. 213 с.
76. Шафраньош І.І., **Шафраньош М.І.** Електронні зіткнення : підручник. Ужгород : Гражда, 2016. 256с.
77. Шимон Л.Л., **Шафраньош М.І.**, Шафраньош І.І. Вакуумна та плазмова електроніка : лабораторний практикум. Ужгород : Видавництво «Інватор», 2014. 61 с.

До даного переліку не входять публікації, що ввійшли до кандидатської дисертації.

ЗМІСТ

ВСТУП	22
РОЗДІЛ 1	
ОСНОВНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ ВЗАЄМОДІЇ ВИПРОМІНЮВАННЯ З БІОМОЛЕКУЛАМИ	37
Вступ до розділу 1	37
1.1. Загальна характеристика первинних процесів поглинання енергії іонізуючого випромінювання	39
1.1.1. Фізична взаємодія електромагнітних випромінювань з речовиною	39
1.1.2. Поглинання енергії заряджених частинок. Фізичні процеси, викликані у біомолекулах електронним ударом	44
1.2. Фізичні процеси, викликані електронним ударом в молекулах	53
1.3. Процеси збудження молекул повільними електронами	58
1.3.1. Електронна структура молекул	59
1.3.2. Експериментальні дослідження процесів збудження молекул нуклеїнових кислот	65
1.4. Процеси іонізації біомолекул повільними електронами	70
1.4.1. Позитивні іони.	70
1.4.2. Негативні іони	73
1.4.3. Ефективні перерізи утворення іонів.	77
1.4.4. Огляд досліджень іонізації молекул нуклеїнових кислот	79
1.5. Огляд результатів досліджень піримідинових основ отриманих методом пучків, що перетинаються.	88
1.5.1 Енергетичні залежності перерізів утворення позитивних іонів піримідинових основ	88
1.5.2. Мас-спектри та схеми фрагментації молекул піримідинових основ	93

1.5.3. Парціальні перерізи утворення позитивних іонів піримідинових основ	102
1.5.4. Процеси утворення негативних іонів піримідинових основ	111
Висновки до розділу 1	122
РОЗДІЛ 2	124
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ КОМПЛЕКС ТА МЕТОДИКИ ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ	
Вступ до розділу 2	124
2.1. Вакуумна камера та система її відкачки	125
2.2. Джерело пучка молекул	127
2.3. Електронна гармата	130
2.4. Система реєстрації фотонів при вивченні процесів збудження молекул електронним ударом та методика проведення експериментів	132
2.5. Фізичні принципи і технічні методи мас-спектрометрії	136
2.6. Система реєстрації іонів при визначенні повних перерізів іонізації та методика проведення експериментів	144
2.7. Джерела ультрафіолетового випромінювання	146
2.8. Методика отримання плівок біомолекул	147
2.9. Інфрачервона абсорбційна спектроскопія плівок основ нуклеїнових кислот.	149
2.10. Контрольні досліди та невизначеності експериментів	150
Висновки до розділу 2	155
РОЗДІЛ 3	
ПРОЦЕСИ ЗБУДЖЕННЯ АЗОТИСТИХ ОСНОВ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ ПОВІЛЬНИМИ ЕЛЕКТРОНАМИ	156
Вступ до розділу 3	156
3.1. Характеристика досліджуваних мішеней.	156
3.2. Збудження молекул піримідинових основ нуклеїнових кислот електронним ударом	164

3.3. Збудження молекул пуринових нуклеотидних основ	182
3.4. Квантово-хімічне моделювання структури біомолекул	199
3.4.1. Методики виконання напівемпіричних квантово-хімічних розрахунків	199
3.4.2. Результати розрахунків структурних параметрів нуклеотидних основ	206
Висновки до розділу 3	231
РОЗДІЛ 4	
ІОНІЗАЦІЯ МОЛЕКУЛЯРНИХ СКЛАДОВИХ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ ЕЛЕКТРОННИМ УДАРОМ	232
Вступ до розділу 4	232
4.1. Визначення ефективних перерізів утворення іонів молекул	232
4.2. Процеси утворення позитивних іонів азотистих основ нуклеїнових кислот	237
4.2.1. Мас спектри та функції іонізації утворення позитивних іонів молекул пуринових основ	237
4.2.2. Схеми фрагментації молекул пуринових основ	248
4.3. Процеси утворення негативних іонів азотистих основ нуклеїнових кислот	261
4.3.1. Функції іонізації утворення негативних іонів молекул пуринових основ	261
4.3.2. Схеми утворення негативних іонів молекул пуринових основ	262
4.4. Біофізичні наслідки взаємодії повільних електронів з біомолекулярними структурами.	274
Висновки до розділу 4	280
РОЗДІЛ 5	
ВПЛИВ УЛЬТРАФІОЛЕТОВОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ	281
Вступ до розділу 5	281

5.1. Вивчення впливу низькоенергетичного УФ випромінювання на нуклеотидні основи в конденсованій фазі	282
5.2. Дослідження асоціатоутворення в молекулярних компонентах нуклеїнових кислот	290
5.3. Діелектрометричне вивчення впливу ультрафіолету на нуклеотидні основи у водних розчинах	301
5.4. Дія низькоенергетичного випромінювання на ДНК <i>in vitro</i> та <i>in vivo</i>	309
5.5 Молекулярні механізми геномодифікуючої здатності ультрафіолетового випромінювання	321
Висновки до розділу 5	329
ЗАКЛЮЧЕННЯ	331
ВИСНОВКИ	335
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	339

ВСТУП

В останні десятиріччя у природничих науках розвивається новий перспективний напрям, в якому, на відміну від численних дослідницьких робіт минулого століття, приділяється основна увага слабким взаємодіям. Класичні дослідження, в яких вивчались біологічні ефекти великих доз та значних енергій, без сумніву, дали багато вагомих фундаментальних і прикладних результатів, без яких зараз уже неможливо уявити науковий поступ і життя суспільства. В рамках нового напрямку об'єднуються актуальні дослідження, присвячені впливу на біологічні об'єкти чинників малих інтенсивностей, серед яких особливе місце займають низькоенергетичні фізичні фактори довкілля. Наведена ситуація зумовлена кількома причинами, серед яких можна виділити, передусім, наступні.

По-перше, у різних наукових галузях, дотичних до біофізики, на сьогодні відомо досить багато фактів, які не вдається задовільно пояснити в рамках уявлень про лінійну залежність «доза-ефект», особливо за малих значеннях інтенсивності діючого чинника, тобто у припороговій області. Приклади зазначених нелінійних процесів зустрічаються у радіаційній біофізиці, космобіофізиці, магнітобіології тощо [1–5].

По-друге, відомо, що в реалізації первинних фізичних стадій складних біологічних процесів (до прикладу: біоенергетичні перетворення, фотосинтез, ферментативний каталіз, а також деструктивні реакції та навіть канцерогенез) фундаментальну роль відіграють збуджені, в тому числі, метастабільні та іонні стани біомолекул [6–11]. Збудження, іонізація молекул та міграція енергії та у біоструктурах не лише лежать в основі важливих біологічних явищ, а й зумовлюють радіаційні зміни в клітинах живих організмів [12–14]. Ефективним способом передачі молекулярним системам декотрої кількості енергії від 0 до 20 еВ, тобто в діапазоні знаходження нижніх синглетних й триплетних збуджених рівнів та потенціалі іонізації біомолекул, є використання монокінетичного пучка низькоенергетичних електронів регульованих енергій. В таких експериментах, на

відміну від фотозбудження, можна отримати інформацію не лише за оптично дозволених переходів між станами електронної системи молекули, але і за прямого збудження інтеркомбінаційних переходів, в результаті яких можуть ефективно утворюватися метастабільні триплетні стани молекул [10–14]. Не виключено, що дані процеси можуть стосуватися і одного з таких виняткових питань біофізики як абіогенний синтез біомолекул, викликаний електронною похідною космічного випромінювання [15–18].

По-третє, зацікавленість у експериментальному вивченні процесів, зумовлених повільними електронами, пов'язана також з важливим значенням питання внутріклітинного опромінення біологічних структур вторинними електронами, що утворюються у значній мірі в речовині [11, 17–20] внаслідок дії випромінювання різних видів (швидкі заряджені частинки, γ -промені тощо). Процес взаємодії високоенергетичної радіації з живими організмами, в основному, не приводить безпосередньо до деградації біополімерних молекул. Вищезазначену функцію виконують вторинні електрони з орієнтовною кількістю в $4 \cdot 10^4$ одиниць на 1 MeV налітаючої високоенергетичної частинки. Переважна більшість вторинних електронів, а саме $\sim 90\%$ їх загальної кількості [18, 19] є повільними (низькоенергетичними) з діапазоном енергій від долей електрон-вольт до десятків eV. Наприклад, кожна з альфа-частинок, проникаючи у живі тканини, вибиває до 160 тисяч низькоенергетичних електронів.

Саме з повільними електронами поєднують переважну частину деструктивних змін на атомарно-молекулярному рівні біоструктур. За наведених обставин головною мішенню стають важливі генетичні макромолекулярні структури [12–14, 16]. З огляду на вищеприведенене, для вирішення багатьох вагомих проблем в області біофізики, екології та медицини необхідною є, насамперед, інформація про молекулярні перебіги впливу випромінювання різного походження на біомолекули, а особливо, на ДНК і РНК, які є, як відомо, носіями спадкової інформації. Особливості механізмів фізичних процесів у молекулах нуклеїнових кислот (НК) та їх компонентів при дії низькоенергетичних електронів будуть адекватно відображати різноманітні

біологічні наслідки у живих клітинах, в тому числі й радіаційно-індуковані генетичні зміни (мутації, синтез аномальних білків тощо). Зокрема, відкритим є питання про природу радіосенсибілізуючого ефекту інкорпорації галогензаміщених аналогів у нуклеїнових кислотах. Дослідження особливостей взаємодії електронів малих енергій з біомолекулами становить інтерес не лише для фізики і біофізики, але й для радіобіології, медрадіології та радіаційних технологій [2–4, 19–22].

Таким чином, вивчення процесів збудження синглетних і триплетних станів біомолекул, а також утворення під дією електронного удару позитивних і негативних іонів сприяє вирішенню цілої низки завдань не лише теоретичних, але й прикладних. Однак ці процеси, особливо їхні кількісні характеристики, практично мало вивчені, про що свідчить незначна кількість публікацій на цю тему в літературі. Зрозуміло, що пряме отримання інформації про такі прецизійні взаємодії було довгий час недосяжним через багатократні експериментальні труднощі. Це, в першу чергу, створення молекулярних частинок - мішеней, транспортування їх в область взаємодії з електронами, а також виділення корисного сигналу від досліджуваних взаємодій на великому фоні супутніх процесів. Тому вдосконалення існуючих та пошук нових методик для вивчення таких процесів є актуальною задачею.

З іншого боку, відродно відмітити, що експериментальна науково-методична база, якою володіють зараз дослідники-біофізики знаходиться на високому рівні. Це дозволяє успішно вирішувати завдання фізичного моделювання надслабких впливів, регулюючи при цьому їхні фізичні характеристики: енергію, інтенсивність, потік, а також за допомогою сучасних чутливих методик виявляти тонкі зміни у біоречовині.

Пріоритетні дослідження процесів взаємодії низькоенергетичних електронів з біомолекулярними структурами розпочалися на фізичному факультеті Ужгородського національного університету ще у далеких 80-х роках ХХ сторіччя [23–26]. В якості біологічно вагомих об'єктів були вибрані азотисті основи нуклеїнових кислот, молекули (гетероциклічні компоненти)

яких виявилися оптимальними фізичними моделями для таких дослідів [27]. Таким чином, станом на сьогодні, одна із проблем аналізу наслідків контактного внутріклітинного опромінення біоструктур починає отримувати окреслених шляхів її вирішення. Поступ у цьому напрямку обумовлений наступними методично-експериментальними досягненнями. Першим кроком, насамперед, можна вважати розроблення методики отримання біомолекул в газовому (ізолюваному) стані [23, 25, 28]. Зазначений підхід дозволяє вивчати процеси, що реалізуються за прямим механізмом, іншими словами завдяки поглинанню енергії безпосередньо самими молекулами, що дає можливість зменшити вплив навколишнього середовища і міжмолекулярних взаємодій. Подальшими кроками є розробка методів формування молекулярних пучків та реалізація техніки пересічних пучків: молекулярного і електронного [26, 29]. Важливим етапом стало удосконалення джерела пучка електронів, що надало змогу отримати пучки з регульованими енергіями та монокінетичністю 0,3 – 0,01 eV [27, 30]. Таким чином були створені передумови для безпосереднього вивчення фізичних процесів, спричинених у біомолекулах електронним ударом у діапазоні енергій від десятих долей eV до десятків електрон-вольт.

У підсумках ще раз відмітимо той факт, що іонізуюче випромінювання високих енергій при взаємодії з атомами і молекулами вивільнює велику кількість вторинних електронів, енергія яких така ж, як і енергія фотонів видимого та ультрафіолетового діапазонів спектру.

Важливим фізичним фактором довкілля є ультрафіолетове (УФ) світло. Слід звернути увагу, що внаслідок пошкодження озонового шару Землі у природньому радіаційному фоні зростає інтенсивність цього виду радіації [31–34]. Залишається відкритим питання про молекулярні механізми біологічної, в тому числі і генодеструктивної здатності УФ випромінювання.

Відомо, що інтенсивність поглинання нуклеїновими кислотами довгохвильового ультрафіолету залежить від міжмолекулярних взаємодій. Тому доцільно провести дослідження молекул складових нуклеїнових кислот і в конденсованому стані (плівки), який якраз і дозволяє реалізувати

міжмолекулярні взаємодії. Такі паралельні дослідження дії двох випромінювань одного енергетичного діапазону, але різної природи (корпускулярної та хвильової), дають можливість поглибити розуміння молекулярних механізмів їх впливу на біомакромолекули.

Слід відмітити, що на кафедрі біофізики університету раніше також проводились дослідження впливу високоенергетичних електромагнітних випромінювань (рентгенівського і гамма-квантів) на клітини і біомолекули [35–39].

Широке застосування джерел корпускулярної та хвильової радіації для прикладних цілей у біофізиці, генетиці та медицині вимагає оптимізації радіотерапевтичних методик, зокрема у напрямку радіосенсибілізації патологічних (канцерогенних) тканин, розкриття механізмів різних генетичних захворювань тощо.

Вирішення жодної з цих проблем не може бути реалізованим без глибокого знання основних закономірностей та механізмів проходження фізичних процесів взаємодії електронів та УФ фотонів з біомолекулярними системами.

Актуальність теми. Проблема слабких взаємодій є вкрай актуальною не лише для фізики, але і для біофізики як з огляду на її виняткову теоретичну і практичну значущість, так і з врахуванням стану її недостатньої вивченості. Для свого вирішення вона потребує якісно нових підходів. Інформація щодо фізичної структури біологічно важливих молекул є надзвичайно необхідною для оцінки вагомості первинних фізичних процесів у забезпеченні функціонування біологічних макросистем та впливу на них різноманітних факторів довкілля. Встановлення механізмів генотоксичного впливу іонізуючої радіації та електромагнітного забруднення оточуючого середовища на біооб'єкти є однією з актуальних задач сучасної молекулярної фізики, біофізики, фізичної та біомедичної електроніки. Відомо, що при опроміненні речовин різними видами високоенергетичної радіації утворюються вторинні електрони. Велика кількість вторинних електронів має енергії від 0 до десятків еВ – тобто є повільними електронами. Тому взаємодія повільних електронів з молекулярними

складовими ДНК і РНК може служити адекватною моделлю для вивчення механізмів радіаційно-індукованих змін у генетичних структурах. За допомогою пучка монокінетичних низькоенергетичних електронів регульованих енергій, на відміну від фотозбудження, можна одержати дані не лише про дозволені електронні переходи між різними станами системи молекул, але й за інтеркомбінаційні переходи, внаслідок яких ефективно утворюються метастабільні триплетні стани молекул. Відомо, що збуджені, в тому числі метастабільні та іонні стани біомолекул, а також міграція енергії відіграють визначальну роль у формуванні первинних фізичних стадій комплексних біологічних процесів. Як приклад, можна зазначити біоенергетичні перетворення, фотосинтез, ферментативний каталіз, а також радіобіологічні реакції та навіть канцерогенез.

Однак, пряма інформація про такі процеси була довгий час недосяжною через багаточисленні експериментальні труднощі. Надійні дані про біофізичні особливості слабких взаємодій можуть бути одержані тільки у надзвичайно прецизійному експерименті, роль навколишнього середовища в якому є зведеною до мінімуму. Такий підхід є можливим, зокрема, при використанні техніки та методики молекулярних пучків і електронних пучків, що перетинаються.

Залишаються не до кінця з'ясованими питання про молекулярні механізми біологічної активності, в тому числі і геномодифікуючої здатності довгохвильового ультрафіолету ($E < 4,1$ eV). Паралельні дослідження дії двох випромінювань одного енергетичного діапазону різної природи (корпускулярної та хвильової) дають можливість поглибити розуміння впливу кожного з них на біомакромолекули. У зв'язку з цим, наукову актуальність і практичну цінність мають дослідження молекулярних механізмів впливу повільних електронів (енергією від нуля до десятків eV) та довгохвильового УФ світла на складові нуклеїнових кислот, а також оцінка біофізичних наслідків таких впливів.

Доцільність проведення таких досліджень зумовлена можливістю подальшого використання очікуваних від них фундаментальних результатів та

розроблених методик у вирішенні прикладних задач молекулярної фізики, біофізики, фізичної електроніки.

Метою досліджень є з'ясування механізмів перебігу фізичних процесів і структурних змін у азотистих основах нуклеїнових кислот, спричинених низькоенергетичними електронами ($10^{-1} - 10^2$ eV) та фотонами (ультрафіолет 3,2 – 5,6 eV).

Для досягнення мети було поставлено і вирішено такі основні наукові задачі:

1. Створення експериментального комплексу для дослідження фізичних взаємодій низькоенергетичних електронів з біомолекулами у газовому стані.
2. Розробка експериментальних методик для вивчення процесів збудження, іонізації та дисоціації молекул основ нуклеїнових кислот електронним ударом.
3. Проведення спектральних досліджень збуджених електронним ударом молекул основ нуклеїнових кислот; отримання та аналіз енергетичних залежностей перерізів збудження (функцій збудження) біомолекул.
4. Здійснення мас-спектрометричного аналізу особливостей формування позитивних і негативних іонів молекул компонентів нуклеїнових кислот при їх взаємодії з низькоенергетичними електронами.
5. Експериментальні дослідження іонізації молекул азотистих основ для визначення: а) повних ефективних перерізів утворення позитивних іонів і їх функцій іонізації; в) парціальних перерізів формування позитивних іонів і їх функцій іонізації; г) повних ефективних перерізів утворення негативних іонів досліджуваних молекул та їх енергетичних залежностей.

Об'єкт дослідження: фізичні процеси та структурні перетворення у нуклеїнових кислотах та їх молекулярних складових, спричинені низькоенергетичними електронами та УФ випромінюванням.

Предмет дослідження: фізичні механізми впливу випромінювання (низькоенергетичні електрони та довгохвильовий ультрафіолет) на генетичні структури.

У роботі були застосовані комплексні **методи дослідження**: електричний метод для визначення повних перерізів утворення позитивних та негативних іонів і їх функцій іонізації (енергетичних залежностей перерізів іонізації), спектральний метод для отримання спектрів люмінесценції (свічення) збуджених молекул та для вимірювання енергетичних залежностей перерізів збудження (функцій збудження), метод газофазної мас-спектрометрії із іонізацією електронним ударом для визначення продуктів взаємодії повільних електронів із біологічними молекулами та оптичний метод для з'ясування концентрації молекулярного пучка. Для досягнення мети та зазначених завдань досліджень переважна більшість цих експериментів проводилась в умовах електронного та молекулярного пучків, що перетинаються. Вищенаведений підхід забезпечував мінімізацію впливу навколишнього середовища на процес вимірювання абсолютних значень перерізів іонізації біомолекул та гарантував високу точність, прецизійність вимірів і надійність одержаних результатів. Для отримання плівок азотистих основ використовувалось вакуумне термічне напилення. Зміни у структурі плівок азотистих основ внаслідок дії УФ випромінювання реєструвались методом інфрачервоної абсорбційної спектроскопії. Біомолекули у розчині аналізувались діелектричним та кінетичним методами. Квантово-хімічні методи AM1, PM3 та DFT були застосовані для розрахунків фізичних параметрів структури молекулярних складових нуклеїнових кислот.

У роботі досліджувались наступні біологічні об'єкти: компоненти нуклеїнових кислот (нуклеотидні основи, нуклеозиди), ДНК *in vitro* та *in vivo*.

Наукова новизна отриманих результатів. Одержані у дисертаційній роботі результати носять пріоритетний характер.

1. Вперше оптичним та електричним методами здійснені комплексні дослідження процесів збудження, іонізації та дисоціації молекул основ

нуклеїнових кислот у газовій фазі низькоенергетичними монокінетичними електронами.

2. Вперше отримані спектри люмінесценції нуклеотидних основ тиміну, урацилу, цитозину, аденіну і гуаніну в діапазоні довжин хвиль від 200 до 600 нм. Здійснено ідентифікацію інтенсивних молекулярних смуг в емісійних спектрах вказаних молекул. Переважна частина спектральних артефактів пов'язана із процесами дисоціативного збудження та дисоціативного збудження з іонізацією. Показано, що найбільш інтенсивні молекулярні смуги із максимумами при довжинах хвиль 275–290 нм зумовлені радіаційним розпадом першого збудженого електронно-коливного стану молекулярного іону в його основний стан. Встановлені енергетичні залежності перерізів збудження (функції збудження) молекулярних смуг та проаналізовано їхні особливості: енергетичні пороги, форму функцій, положення максимумів. Аналіз функцій збудження показав наявність інтеркомбінаційних переходів з утворенням триплетних метастабільних станів молекул нуклеотидних основ. Виявлено пряме збудження триплетних метастабільних станів біомолекул електронним ударом.
3. Вперше досліджено фотолюмінесценцію нейтральних розчинів цитозину та гуаніну при одночасній дії випромінювання ксенонової лампи з довжиною хвилі $\lambda = 280$ нм та лазера з довжиною хвилі $\lambda = 530$ нм. Виявлено, що для кривих люмінесценції характерним є наявність широкого максимуму в спектральному інтервалі ~ 365 – 380 нм та додаткового максимуму при довжині хвилі $\lambda \sim 410$ нм. Показано, що максимуми в інтервалі довжин хвиль ~ 365 – 380 нм відображають флуоресценцію, а максимуми при $\lambda \sim 410$ нм фосфоресценцію.
4. Вперше експериментальним шляхом визначені абсолютні величини ефективних перерізів утворення позитивних іонів пуринових основ нуклеїнових кислот аденіну та гуаніну та енергетичні залежності перерізів іонізації (функції іонізації) в інтервалі енергій бомбардуючих електронів від

порогу до 200 еВ. Визначені енергетичні пороги утворення позитивних іонів. Досліджені мас-спектри молекул аденіну та гуаніну при їх іонізації в умовах молекулярного та електронного пучків, що перетинаються. Детально проаналізовані шляхи фрагментації азотистих основ нуклеїнових кислот під дією електронів. Визначені парціальні перерізи (перерізи утворення іонних фрагментів) молекул основ. Показано, що найбільші перерізи (ймовірності) утворення позитивних іонів при даних енергіях електронів властиві молекулярним іонам, що свідчить про відносну стабільність молекулярних носіїв генетичної інформації. Визначені абсолютні величини парціальних перерізів іонізації аденіну та гуаніну.

5. Вперше експериментальним шляхом визначені абсолютні величини ефективних перерізів утворення негативних іонів компонентів нуклеїнових кислот, аденіну та гуаніну, та енергетичні залежності перерізів іонізації (функції іонізації) у діапазоні енергій електронів від 0,3 до 5 еВ. Показано, що процеси утворення негативних іонів при зіткненнях низькоенергетичних електронів з біомолекулами мають нелінійний резонансний характер. На основі співставлення теоретичних розрахунків, виконаних напівемпіричним квантово-хімічним методом AM1, із експериментальними результатами встановлені домінуючі шляхи дисоціації негативних іонів нуклеотидних основ. Показано, що електронне захоплення молекулами аденіну і гуаніну відбувається за механізмом Фешбахівського коливально-збудженого резонансу.
6. Вперше отримані плівки цитозину, гуаніну та їх комплексу методом вакуумного термічного напилення. Також вперше виміряні інфрачервоні спектри поглинання контрольних та підданих дії ультрафіолетового світла ($E = 3,68$ еВ) плівок у діапазоні від 1100 до 3600 cm^{-1} . З'ясовано, що в усіх плівках наявні різнотипні гідратовмісні асоціати. Запропоновано можливі механізми впливу ультрафіолету з $E = 3,68$ еВ на молекулярні плівки: опромінення провокує перерозподіл відносного вмісту гідратоасоціатів

азотистих основ, імовірно за рахунок УФ-стимульованої додаткової абсорбції плівками молекул води з повітря.

7. Виконане квантово-хімічне вивчення різнотипних асоціатів цитозину для моделювання міжмолекулярних взаємодій у плівках. Встановлено, що розраховані частоти та інтенсивності нормальних коливань суттєво залежать від кількості молекул в асоціаті. Важливо, що при збільшенні кількості молекул в асоціаті зростає інтенсивність поглинання у довгохвильовій області ($E < 4$ eV), що вказує на можливість прямої дії на досліджувані молекули ультрафіолету даного діапазону.
8. Кінетичні та діелектрометричні дослідження ДНК *in vitro* показали, що ультрафіолетове випромінювання (лазерне і некогерентне) спричинює зміни вторинної структури ДНК і кластеризацію розчинів.
9. Вплив довгохвильового ультрафіолетового випромінювання на ДНК *in vivo* досліджений на біологічній моделі за критеріями зміни швидкості регенерації. Показано, що УФ промені з $E = 3,68$ eV сповільнюють швидкість регенерації, що свідчить про те, що наведений фактор впливу пригнічує функціональну активність ДНК, в тому числі і завдяки зміні міжмолекулярних взаємодій.

Практичне значення одержаних результатів. В результаті виконання роботи створені універсальні комплексні експериментальні установки з електронним та молекулярним пучками, що перетинаються, для спектральних досліджень особливостей збудження молекул електронним ударом з метою визначення повних перерізів та енергетичних залежностей утворення позитивних і негативних іонів біомолекул та для мас-спектрометричних досліджень.

Шляхом прецизійного експерименту, для кожної азотистої основи визначений діапазон температур, у якому є відсутньою термофрагментація молекул. Розроблене та сконструйоване дифузійне джерело, що генерує колімований молекулярний пучок з концентрацією $\sim 8 \cdot 10^{10}$ см⁻³. Опрацьована методика визначення концентрації молекул пучка, що базується на визначенні

оптичної густини конденсату пучка молекул. У представленій роботі вперше отримані плівки основ нуклеїнових кислот методом вакуумного термічного напилення.

Завдяки своїм винятковим біофізичним та фізико-хімічним властивостям, досліджувані в роботі молекули азотистих основ нуклеїнових кислот є новими перспективними біоматеріалами, становлять неабиякий науково-практичний інтерес та технологічну цінність в областях біосенсорики, молекулярної електроніки, біомолекулярної та генетичної інженерії.

Дослідження взаємодії низькоенергетичних електронів та довгохвильового ультрафіолетового випромінювання із складовими нуклеїнових кислот має наукову цінність як для фундаментальної біофізики, яка вивчає структурні й енергетичні параметри біомолекул, так і з погляду прикладного аспекту – для з'ясування механізмів біологічної дії низькоенергетичних випромінювань з метою оптимізації радіотерапевтичних методик, ціленаправленого радіаційного мутагенезу, для адекватної оцінки проблеми ефективності невеликих доз радіації та поняття відносності порогових доз. У цьому зв'язку особливого значення набуває експериментально встановлений факт про резонансну деградацію компонентів нуклеїнових кислот, починаючи практично з енергій $\sim 10^{-2}$ еВ. Таким чином, отримані результати можуть знайти застосування і в галузях молекулярної фізики, біофізики, фізичної та біомедичної електроніки.

Відомості про вплив ультрафіолетового випромінювання на ДНК і її складові в конденсованому стані і *in vivo* можуть використовуватися для розробки методів керування процесами поділу клітин, регенерації, пригнічення росту пухлин. Перспективні в цьому напрямку дослідження комплексів біомолекул з барвниками (в тому числі і природного походження), коли реалізуються нелінійні ефекти за рахунок двоквантового поглинання світла.

Отримані у роботі результати використовуються у навчальному процесі при читанні лекцій з атомної фізики, фізики електронних зіткнень, біофізики, радіобіології, екології, при виконанні бакалаврських та магістерських робіт.

Особистий внесок здобувача полягає в ініціюванні нового напрямку досліджень з вивчення особливостей взаємодії низькоенергетичних електронів з молекулами, які мають біологічне значення; у постановці експериментів для моделювання наслідків фізичних процесів (а саме: збудження, іонізації та дисоціації), викликаних у біомолекулах електронним ударом та ультрафіолетовим випромінюванням; в узагальненні отриманих результатів. Автору належить вибір методів дослідження, проведення експериментів з біооб'єктами *in vivo* та *in vitro*, участь в обговоренні результатів та написанні статей. Результати в роботах [1, 3, 4, 5, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18] отримано самостійно, в роботах [6, 7, 8, 9, 16] – під науковим керівництвом. Особистий внесок дисертанта в опублікованих разом із співавторами наукових працях становить: у роботах [1, 3, 4, 5, 10, 17, 18] – постановка експериментів, аналіз літератури, обговорення та інтерпретація експериментальних результатів, а також формулювання висновків та написання статей; у роботах [11, 12, 13, 14, 15] – пошук та критичний аналіз даних літератури, участь у постановці задачі експериментального дослідження, аналіз та обробка результатів, формулювання висновків та написання статей; у роботах [11, 12, 13] – аналіз даних літератури, постановка задач дослідження, обговорення та інтерпретація експериментальних результатів, а також формулювання висновків, написання статей; у роботах [14, 15] – постановка задачі, розробка плану фізичного експерименту, аналіз та обговорення результатів, формулювання основних висновків та написання статей.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації доповідалися і обговорювалися на таких наукових конференціях і семінарах:

1. 20-ій, 21-ій (Берегове, Крим, Україна, 2011, 2013), 22-ій (Чинадієво, Україна, 2015) міжнародних школах-семінарах “Спектроскопія молекул та кристалів” (ISSSMS);
2. 5-ому і 6-ому (Світязь, 2011, 2015), 7-ому, 8-ому (Київ-Луцьк, 2018, 2019) з'їздах Українського біофізичного товариства;

3. 9-й, 10-й Міжнародних конференціях “Космос і біосфера” (Крим, Україна, 2011, 2013);
4. 3-й, 5-й, 7-й (Харків, Україна, 2013, 2017, 2021); 2-й, 4-й, 6-й, 8-й (Київ, Україна, 2011, 2015, 2019, 2023); Міжнародних конференціях “Нанобіофізика: фундаментальні і прикладні аспекти”;
5. Міжнародних конференціях молодих учених і аспірантів ІЕФ (2013, 2015, 2019, 2021, 2022, 2023);
6. 28-й (Ланьчжоу, КНР, 2013) Міжнародній конференції з фізики електронних і атомних зіткнень (ISPEAS);
7. 33-й (Сегед, Угорщина, 2016) Європейській конференції із молекулярної спектроскопії (EUCMOS);
8. 6-й (Братіслава, Словаччина, 2014) Конференції з елементарних процесів в атомних системах (SERAS);
9. 29-й (Тоledo, Іспанія, 2015), 30-й (Квінсленд, Австралія, 2017), Міжнародних конференції з фотоніки, електронних та атомних зіткнень;
10. 26-ому, 27-ому (Прага, Чехія, 2014, 2016), Міжнародних симпозиумах з фізики плазми і технологій;
11. Міжнародній науковій конференції: «Молекулярна інженерія та комп'ютерне моделювання для нано- і біотехнологій: від наноелектроніки до біополімерів» (Черкаси, 2018);
12. Всеукраїнській науковій конференції «Аналітична хімія – методи та інструменти» (Ужгород, 2019);
13. Підсумкових щорічних наукових конференціях професорсько-викладацького складу Ужгородського національного університету (2012 – 2024);
14. Міжнародній конференції «Ужгородська школа з атомної фізики та квантової електроніки» до 100-річчя від дня народження професора І.П. Запісочного (Ужгород, 2022);
15. 15-й Міжнародна конференція по прикладній біофізиці. біоніці та біокібернетиці (Київ, 2024).

Публікації. Публікації. Основні результати дисертації опубліковані у монографії, двох підручниках, у 24 (19) статтях у вітчизняних і міжнародних наукових журналах, з яких 14 (9) реферуються науково-метричними базами даних Scopus і Web of Science (з яких одна стаття у виданні, віднесеному до першого квартиля (Q1 – рахується за три), три статті у виданнях, віднесених до третього квартиля (Q3 – кожна рахується за дві) та шість статей у виданнях, віднесених до четвертого квартиля (Q4) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank або Journal Citation Reports), 10 – у фахових виданнях, а також у 53 тезах доповідей на національних та міжнародних конференціях. До даного переліку не входять публікації, що ввійшли до кандидатської дисертації.

Структура та обсяг дисертації. Представлена робота складається із вступу, огляду літературних джерел, матеріалів та методів дослідження, особистих результатів досліджень і їхнього обговорення, які викладено у п'яти розділах, висновків і переліку використаної літератури, який налічує 403 найменувань. Зміст дисертації викладено на 381 сторінках машинописного тексту. Робота містить 167 рисунків і 30 таблиць.

РОЗДІЛ 1.

ОСНОВНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ ВЗАЄМОДІЇ ВИПРОМІНЮВАННЯ З БІОМОЛЕКУЛАМИ

Вступ до розділу 1

Розділ присвячено аналітичному огляду літератури з проблеми механізмів дії повільних електронів та ультрафіолетового випромінювання на важливі молекулярні структури живих клітин - нуклеїнові кислоти: ДНК і РНК та їхні складові компоненти.

Увага до повільних електронів зумовлена тим, що вони ефективно утворюються у біологічному середовищі вздовж треків іонізуючих частинок (рис. 1.1). Не можна ігнорувати і той факт, що в умовах пошкодження озонового шару Землі у складі природного радіаційного фону зростає вміст ультрафіолетового світла.

У живих клітинах повільні електрони та ультрафіолет, внаслідок своєї високої реакційної здатності, можуть впливати на різні біоструктури, але найсуттєвіші біологічні наслідки має взаємодія цих чинників з молекулами ДНК і РНК. Це закономірно, оскільки саме нуклеїнові кислоти призначені природою для зберігання та контрольованої передачі спадкової інформації. Таким чином, дослідження особливостей взаємодії повільних електронів та інших випромінювань з біоінформаційними молекулами є, по суті, фізичним моделюванням радіаційно-індукованого мутагенезу. Саме з цих причин процеси зіткнень повільних електронів із складовими нуклеїнових кислот привертають пильну увагу дослідників (див. перші роботи [23–26] і наступні публікації [27, 29, 30, 35-39 40–43]).

Експерименти з використанням двох випромінювань одного енергетичного діапазону, але різної фізичної природи (корпускулярної та хвильової) дозволяють поглибити розуміння механізмів впливу кожного з них на біоструктури. У зв'язку з цим, наукову актуальність і практичну цінність мають

дослідження особливостей фізичних процесів, структурних змін та біофізичних наслідків у молекулах нуклеїнових кислот, ініційованих повільними електронами ($10^{-1} - 10^2$ eV) та фотонами (ультрафіолет 3,2 – 5,6 eV). Таким чином, взаємодія цих низькоенергетичних факторів з молекулярними складовими ДНК і РНК може служити адекватною моделлю для вивчення механізмів радіаційно-індукованих змін у генетичних структурах.

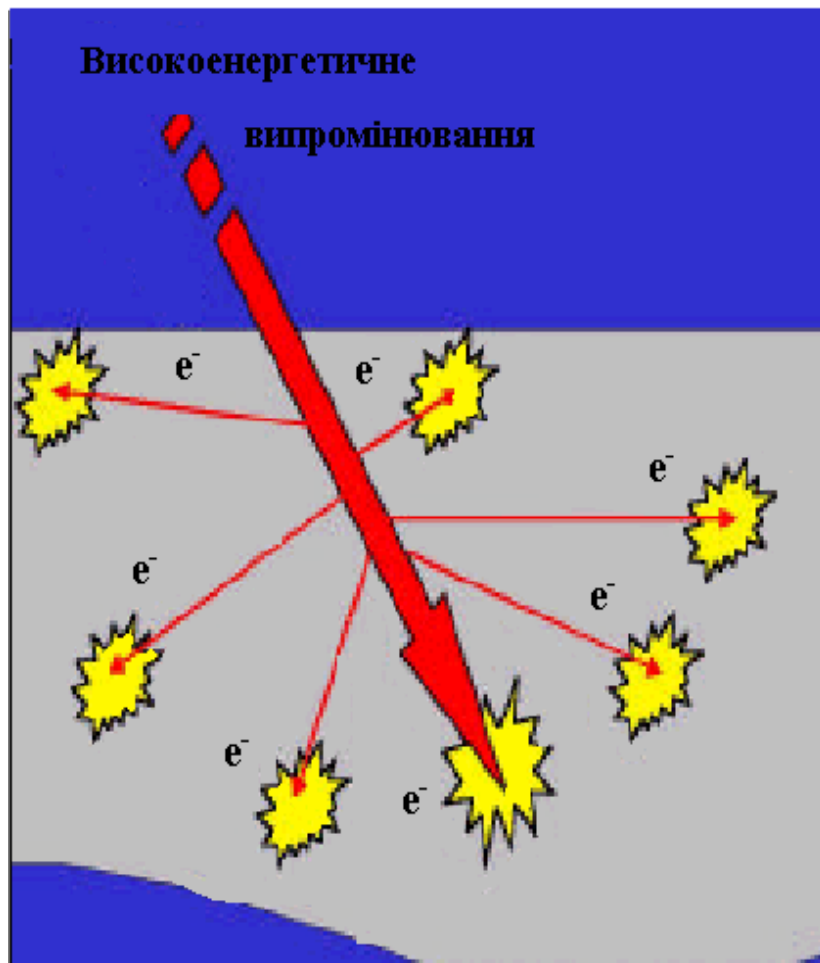


Рис. 1.1. Утворення вторинних повільних електронів у біотканинах внаслідок радіаційного ураження.

1.1. Загальна характеристика первинних процесів поглинання енергії іонізуючого випромінювання

Проходження через речовину фотонів, рентгенівського або γ -випромінювання, потоку нейтронів, електронів або прискорених ядер елементів може привести до поглинання частини енергії речовиною. При опромінюванні живої матерії спостерігаються певні біологічні наслідки радіаційної дії. У радіаційній фізиці виконується загальний принцип Гротгуса [44], згідно якому тільки та частина енергії випромінювання, яка поглинається речовиною, може викликати зміни у цій речовині. При опроміненні речовини виділення енергії відбувається в окремих мікрооб'ємах, оскільки обмін енергією між квантами випромінювання і атомами поглинача має дискретний імовірнісний характер. Нижче приведений аналіз елементарних фізичних процесів, у результаті яких здійснюється передача енергії іонізуючих частинок атомам і молекулам речовини.

1.1.1. Фізична взаємодія електромагнітних випромінювань з речовиною.

Поглинання рентгенівського і γ -випромінювання в речовині підкоряється закону

$$I = I_0 e^{-N_s S l}, \quad (1.1)$$

де I і I_0 — відповідно значення інтенсивності випромінювання до і після проходження через шар товщиною l ; N_s — кількість поглинаючих частинок; S — переріз процесу, що характеризує імовірність поглинання [4].

Енергія квантів рентгенівського і γ -випромінювання поглинається речовиною в результаті наступних процесів (рис.1.2):

- Фотоефект;
- Ефект Комптона;
- Утворення електронно-позитронних пар.

Фотоелектричний ефект (фотоелектр) полягає у тому, що квант випромінювання повністю передає енергію атому; цієї енергії достатньо для того, щоб атом випустив електрон. У результаті фотоелектру з атома вивільняється електрон, що володіє запасом кінетичної енергії, рівним енергії падаючого кванта $h\nu$ за вирахуванням енергії зв'язку електрона з відповідним атомом або молекулою.

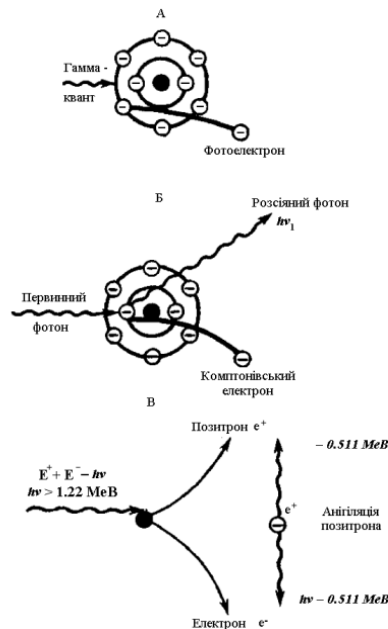


Рис. 1.2. Схема основних процесів поглинання енергії квантів рентгенівського і γ -випромінювання [45]: А – фотоелектр, Б – ефект Комптона, В– ефект утворення електронно-позитронних пар.

Ефект Комптона можна розглядати як результат пружного зіткнення кванта випромінювання з вільним електроном. При цьому квант віддає електрону не всю енергію, а лише деяку її частину, причому сам він продовжує рух як розсіяний квант - у новому напрямі і з меншою енергією. На відміну від фотоелектрона, комптон-електрон (його ще називають електроном віддачі) отримує не всю енергію первинного кванта.

У воді і біологічних тканинах поглинання випромінювання з енергією квантів, більшою 300 кеВ, в основному, відбувається за рахунок ефекту Комптона. В результаті декількох послідовних комптонівських взаємодій енергія кванта знижується настільки, що він вже може повністю поглинутися в результаті фотоелектру.

Якщо енергія падаючого кванта перевищує 1,022 MeV, стає можливим третій тип взаємодії – ефект утворення пар. Електронно-позитронні пари виникають у результаті взаємодії кванта випромінювання з ядерними полями. Квант високої енергії, наближаючись до поля ядра атома, зникає, і одночасно виникає пара елементарних частинок позитрон-електрон: $h\nu \rightarrow e^+ + e^-$.

Вся енергія падаючого кванта використовується на утворення пар, причому енергія, рівна 1,022 MeV, завжди перетвориться в «масу спокою» елементарних частинок, а залишок – в їх кінетичну енергію. Сумарну кінетичну енергію пари можна умовно розділити порівну між електроном і позитроном [4].

$$E_{\text{кін}_{e^-}} + E_{\text{кін}_{e^+}} = h\nu - 1,022(\text{MeV}) \quad (1.2)$$

Утворення пари може закінчитися анігіляцією електрона і позитрона, в результаті утворюється γ -квант, здатний передати енергію речовині за рахунок комптонівського і фотоефекту.

Вірогідність народження пари електрон-позитрон збільшується із зростанням енергії кванта і пропорційна Z^2 . У біологічних системах цей ефект виражений слабо, оскільки середній ефективний атомний номер Z має малі значення [45].

Поглинання квантів електромагнітного випромінювання високої енергії призводить до виникнення в речовині невеликого числа атомів, що втратили електрони. Ця первинна іонізація – наслідок фото- і комптонівського ефектів. Електрони, що вивільнялися, володіють величезним запасом кінетичної енергії (до них перенесена велика частина енергії падаючого кванта) і можуть багаторазово взаємодіяти з атомами та молекулами, віддаючи енергію на їх іонізацію і збудження. Так продовжується до тих пір, поки енергія вільного електрона не знизиться до того мінімального рівня, при якому електрон вже зможе поглинутися нейтральним атомом з утворенням негативного іона. Кожний первинний електрон від моменту свого народження до захоплення нейтральним

атомом або молекулою багато разів взаємодіє з атомами, розташованими уздовж напрямку його руху, генеруючи велику кількість вторинних електронів. Розподіл енергії вторинних електронів точно може бути розрахованим лише для атома водню. Для складніших молекул можливі лише якісні міркування. В середньому біля 70% енергії первинних електронів переноситься до вторинних електронів, що володіють енергією, достатньою для того, щоб індукувати подальшу іонізацію. Інші 30% енергії первинного електрона витрачаються на збудження молекул і звільнення електронів з «нульовою» кінетичною енергією. Незначна частка енергії затрачується на гальмівне випромінювання [18, 44–46]. Отже, перенесення у речовині енергії квантів випромінювання здійснюють головним чином *вторинні електрони*.

Рентгенівське і γ -випромінювання генерують в органічних речовинах іони, просторовий розподіл яких істотно відрізняється від такого при дії прискорених заряджених частинок. Електронейтральні частинки, володіючи високою проникаючою здатністю, заглиблюються в тканину на значні відстані. Якщо ж клітина поглинула фотон рентгенівського випромінювання з енергією 200 кеВ, то це означає, що породжений в межах клітини вільний електрон (він виник в результаті первинної іонізації якого-небудь атома) витратив запас кінетичної енергії на іонізацію і збудження субклітинних структур. Найімовірніше, що даний рентгенівський квант (200 кеВ) вивільнив електрон в результаті комптонівської взаємодії. Тоді середня енергія електрона близько 45 кеВ, а густина іонізації – 8,5 пари іонів на 1 мкм шляху [44]. При такій низькій густині іонізації в межах мішені малого розміру може відбутися лише одна іонізація (товщина клітинної мембрани близько 0,01 мкм, хромосоми — близько 0,1 мкм). Якщо при цьому тестований біологічний ефект (наприклад, розриви хромосом) все ж таки спостерігається, то це можна пояснити тим, що для його виникнення достатньо однієї іонізації в межах певної структури, так званої мішені [45].

М'яке рентгенівське проміння (до 100 кеВ) поглинається у поверхневих шарах тканин за рахунок фотоефекту. Довжина пробігу фотоелектронів не

перевищує 2 мм, тому біологічно важливий ефект, пов'язаний з іонізацією атомів і молекул, виникає поблизу місця поглинання падаючого кванта. Просторовий розподіл іонів визначається енергією вибитих фотоелектронів. Так, фотони м'якого рентгенівського випромінювання з енергією 10 кеВ (це відповідає $\lambda = 10\text{нм}$) передають фотоелектрону близько 9,5 кеВ енергії (0,5 кеВ — середня енергія іонізації атомів у біологічних системах) [44]. З таблиці 1.1 видно, що довжина пробігу такого електрону в тканині — 2,3 мкм, ЛПЕ = 2,4 кеВ/мкм, а густина іонізації — близько 32 пар іонів на 1 мкм шляху. Чисельність таких треків, тобто кількість вибитих фотоелектронів у результаті первинної іонізації, визначається поглиненою дозою. Картина іонізації тканини м'яким рентгенівським випромінюванням при поглиненій дозі 10^4 Гр показана на рис. 1.3 (А).

Жорсткі рентгенівські і γ -промені енергією фотонів вище 300 кеВ поглинаються, в основному, за рахунок ефекту Комптона. Максимум їх поглинання лежить на глибині декількох сантиметрів. Так, γ -промені ^{60}Co втрачають 60% всієї енергії при проходженні перших 5-6 см тканини, а фотони з енергією 35 МеВ, що генеруються в бетатронах, віддають максимум своєї енергії на глибині 6-8 см [45]. Ця важлива особливість дії жорсткого електромагнітного випромінювання дозволяє впливати на глибоко розташовані пухлини без надмірного пошкодження шкіри і проміжної тканини. Існування такого максимуму пояснюється тим, що в результаті комптонівської взаємодії фотонів високої енергії і електронів атома останнім передається значна частина енергії фотона (чим вище енергія випромінювання, тим більш вірогідне перенесення до електрона віддачі максимальної енергії, аж до 99,9% енергії кванта). Електрони таких високих енергій (декілька тисяч кеВ) проникають у тканину на глибину в декілька сантиметрів, утворюючи максимальне число іонізації і збуджень в кінці пробігу, коли швидкість їх значно знижується (див. рис. 1.3).

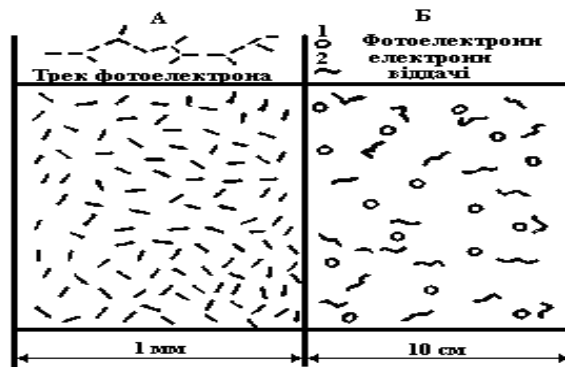


Рис. 1.3. Характер іонізації речовини фотонами м'якого (А) і жорсткого (Б) рентгенівського і γ -випромінювання [46]:

- 1 - фотоелектрони (вбиті розсіяним квантом);
- 2 - трек електронів віддачі.

Отже, електрони, що вивільняються квантами випромінювання на поверхні опромінюваного об'єму, утворюють максимальне число іонів на глибині тканини в декілька сантиметрів, тобто вони здійснюють перенесення енергії випромінювання вглиб тканини. Цей факт надзвичайно важливий для оптимізації медрадіологічних методик.

Первинна іонізація при дії рентгенівського або γ -випромінювання мала в порівнянні з тією кількістю іонізованих і збуджених атомів, які виникають у результаті взаємодії вторинних електронів з речовиною. Тому фотони рентгенівського і γ -випромінювання треба відносити до непрямо іонізуючих частинок, що вивільняють в речовині безпосередньо іонізуючі частинки – *вторинні низькоенергетичні електрони*.

1.1.2. Поглинання енергії заряджених частинок.

У радіобіологічних експериментах використовують і корпускулярні випромінювання – потоки атомних і субатомних частинок, що рухаються з різними швидкостями. Це потоки β -частинок, тобто швидких електронів, що випускаються у процесі радіоактивного розпаду; потоки електронів,

прискорених в електричному полі, протонне випромінювання, що генерується спеціальними прискорювачами; α -частинки, що випускаються радіоактивними речовинами тощо [45]. Опромінювання тканин непрямо іонізуючими частинками призводить також до появи заряджених частинок: фотони рентгенівського і γ -випромінювання звільнюють у тканинах електрони, нейтрони викликають появу в тканинах протонів віддачі, α -частинок і ядер інших елементів. Всі ці заряджені частинки мають значну енергію і здатні багато разів викликати іонізацію і збудження атомів та молекул. Зрозуміло, що іонізуюча здатність заряджених частинок залежить від величини їх енергії, від маси і величини заряду.

Прискорену заряджену частинку можна розглядати як джерело електричного поля, що переміщається в просторі. За рахунок взаємодії електричного поля частинки з полем орбітального електрона, останній дістає певний запас енергії. Якщо заряджена частинка пролітає достатньо близько від орбітального електрона, то перенесеної енергії достатньо для іонізації: електрон відривається від відповідного атома або молекули, і в результаті утворюються позитивно заряджений іон і вільний електрон. Якщо ж частинка значно віддалена від електронних оболонок, то електрон отримує запас енергії, недостатній для іонізації, і переходить на більш віддалену енергетичну орбіту в стані збудження. Така схема, заснована на принципі пружного і непружного зіткнень [44], ще не дозволяє визначити залежність характеру поглинання енергії прискореної зарядженої частинки від її параметрів.

Якісно на питання залежності поглинання енергії частинки від її параметрів – заряду, маси, швидкості відповідає модель, запропонована Дертінгером і Юнгом [47], яка враховує зміну поля частинки в часі (рис. 1.4). Розгляд такої моделі дозволяє сформулювати ряд положень, до яких приведе накладення на атом додаткового поля зарядженої частинки:

- 1 - дія поля прискореної частинки викликає тимчасове збудження кожного атома, поблизу якого ця частинка проходить;

- 2 - це збудження існує тим довше, чим повільніше рухається частинка;
- 3 - частинки, які мають декілька зарядів, надають більше збудження, ніж однозарядні;
- 4 - величина маси частинки, що рухається, не впливає на кількість перенесеної енергії, тобто при рівних швидкостях електрони і протони переносять у речовині однакову кількість енергії, хоча маси їх розрізняються майже в дві тисячі раз.

При збудженні атомів існує ймовірність їх переходу у збуджений або іонізований стан. Ця ймовірність зростає при збільшенні тривалості збудження або його інтенсивності, тому повільні частинки викликають більше переходів, ніж швидкі, а багатозарядні – більше, ніж однократно заряджені; маса частинки не чинить впливу на ці ефекти.

Кількісно диференціальна втрата енергії (або гальмуюча сила) зарядженої частинки, тобто втрата енергії на одиницю довжини трека, визначається з рівняння Бете – Блоха [47]:

$$-\frac{dE}{dx} = \frac{4\pi e^4 z^2 NZ}{m\nu^2} \left[\ln \frac{2m\nu^2}{I_0} - \ln(1 - \beta^2) - \beta^2 \right], \quad (1.3)$$

де m - маса електрона; e - заряд електрона; ν - швидкість частинки;
 z - заряд частинки в одиницях елементарного заряду e ; N - число атомів в 1 см^3 речовини; Z - середня кількість електронів в атомі, тобто «ефективний» атомний номер; I_0 - середній потенціал іонізації або збудження атома (експеримент); $\beta = \frac{\nu}{c}$ (відношення швидкості зарядженої частинки до швидкості світла).

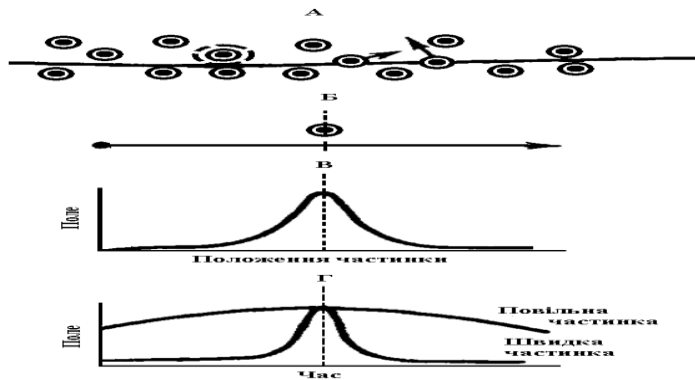


Рис 1.4. Модель, що пояснює характер взаємодії прискорених заряджених частинок з атомом [47]: А - частинка проходить через деяку сукупність атомів, проводячи декілька іонізацій і збуджень; Б - атом і частинка, що проходить біля нього; В - залежність величини поля, створюваного в атомі швидкою зарядженою частинкою, від положення частинки; Г - залежність того ж поля від часу.

Аналізуючи рівняння (1.3), можна кількісно обґрунтувати ті якісні уявлення, які були засновані на моделі взаємодії (рис. 1.4).

Дійсно, член $e^4 z^2$ відповідає взаємодії між полем зарядженої частинки і електроном. Залежність від швидкості визначається, в основному, першим множником, в який входить $1/v^2$, оскільки в другому множнику швидкість частинки входить у функцію, що поволі змінюється $\ln 2mv^2$. У формулі фігурує тільки маса електрона як маса порушеної в атомі частинки. Маса частинки, що летить, у рівняння (1.3) не входить. Втрата енергії пропорційна NZ , тобто, залежить від числа атомів в одиниці об'єму і від числа електронів в атомі (для багатьох біологічних тканин і води середнє число електронів на 1 г приблизно однакове і знаходиться в межах $3 \cdot 10^{23} - 3,48 \cdot 10^{23}$). Бічне стиснення електричного поля при великих швидкостях частинки (рис. 1.4) враховується за допомогою членів, залежних від β - відношення швидкості частинки до швидкості світла.

Слід врахувати ще одну особливість, яка впливає з рівняння (1.3).

Оскільки $\frac{dE}{dx}$ пропорційне $1/v^2$, то можна очікувати нескінченно велике перенесення енергії випромінювання за низьких швидкостей частинки. Але

це не відбувається. Уявна суперечність буде усунута при врахуванні, що заряд частинки при уповільненні її руху не буде залишатися постійним. Так, при зниженні швидкості α -частинки збільшується вірогідність захоплення нею електрона. При цьому вона продовжує свій шлях як частинка, що має одинарний заряд. При достатньо низьких швидкостях однозарядний іон гелію захоплює ще один електрон і перетворюється на атом гелію. Для врахування таких процесів у формулу Бете–Блоха вводиться уточнення, що пов'язує зміну заряду частинки з швидкістю;

$$z^* = z[1 - \exp(-125 \beta z^{-2/3})], \quad (1.4)$$

де z^* – заряд частинки, залежний від швидкості. Якщо $v \rightarrow 0$, то і член $\beta = v/c \rightarrow 0$, а отже, і $z^* \rightarrow 0$, тобто за достатньо низьких швидкостей частинки величина диференціальної втрати енергії $\frac{dE}{dx}$ буде знижуватися і прямувати до 0.

За високих швидкостей величина $\frac{dE}{dx}$ також буде знижуватися пропорційно $1/v^2$. В такому випадку, за певних швидкостей (а значить і енергій) частинок, величина $\frac{dE}{dx}$ повинна буде пройти свій максимум. Цей максимум експериментально доведений і відомий під назвою «пік Брегга». Для електронів пік Брегга спостерігається при енергії приблизно 200 еВ, для протонів – між 60 і 100 кеВ [45].

До прикладу, наявність існування піку Брегга сприяє, з максимальною ефективністю, процесу проведення променевої терапії пухлин. При цьому залежно від локалізації пухлини підбирають вид випромінювання і його енергетичну характеристику такими, щоб пік Брегга припадав на топографічно визначене місце злякисних клітин.

Таблиця 1.1.

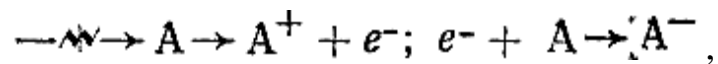
Довжина пробігу, втрата енергії, число первинних іонів, що викликаються електронами у тканині густиною 1 г/см³ [44]

Енергія електронів, кеВ	Довжина пробігу, мкм	Втрата енергії, кеВ/мкм	Число первинних іонів на 1 мкм/ткани, пара іонів/мкм
0,1	0,003	33,23	1697
0,2	0,006	28,71	843,1
0,8	0,038	14,17	285,3
2,0	0,1595	7,680	127,8
9,5	2,303	2,367	31,90
22,5	10,51	1,233	15,06
45,0	35,76	0,7255	8,452
90,0	118,0	0,4462	4,986
150,0	278,1	0,3278	3,567
450,0	1508,5	0,2108	2,166

Отже, електрони, що вивільняються квантами випромінювання на поверхні опромінюваного об'єму, утворюють максимальне число іонів на глибині тканини в декілька сантиметрів, тобто вони здійснюють перенесення енергії випромінювання вглиб тканини.

Процес «розміну енергії» випромінювання на цій початковій стадії можна умовно розділити на два етапи. Спочатку відбуватиметься акт первинної іонізації, при якому зв'язаному електрону різними способами передаватиметься певний запас енергії, достатній для того, щоб він з деякою швидкістю v покинув межі атома. При цьому виникнуть позитивно заряджений іон і вільний електрон із запасом кінетичної енергії $E_K=1/2m_e v^2$. Вільний електрон

проходитиме у тканині певну відстань, здійснюючи уздовж свого треку акти вторинної іонізації. На цьому етапі відбуватиметься подальша передача енергії випромінювання речовині. Витративши запас кінетичної енергії на процеси іонізації і збудження, вільний електрон сповільнюватиме рух та захоплюватиметься нейтральним атомом з утворенням негативно зарядженого іона. В результаті цих процесів енергія іонізуючої частинки витратилась на утворення пари іонів (позитивно заряджений іон A^+ і негативний A^-):



А також на збудження атомів:



Детальніше ці фізичні процеси розглядаються в п. 1.3.

На іонізацію атомів H, N, O, C, S, P, які найчастіше зустрічаються у живих клітинах, затрачується 10 – 15 eВ [48]. Значно менша енергія необхідна для їх збудження. На один іонізований атом приходить декілька збуджених. Тому одна пара іонів утворюється при поглинанні близько 34 eВ – величини, значно більшої потенціалу іонізації. Надлишок енергії розтрачується на збудження.

Як приклад, розглянемо картину іонізації, що виникає у клітині в результаті опромінення суспензії клітин α -частинками з енергією 6 MeВ (рис.1.5). Оскільки поглинання енергії іонізуючої радіації відбувається в результаті дискретних подій, при яких енергія частинки з певною вірогідністю переноситься атомам або молекулам поглинача, то можна говорити про певну ймовірність «попадання» частинки в даний об'єкт, наприклад у клітину. Попадання в даному випадку відповідає вірогідності абсорбції енергії частинки в межах клітини. Величина інтегральної поглиненої дози, яку визначають при опромінюванні суспензії клітин, показує яка кількість частинок, «бомбардуючих» даний об'єм, залишає в межах цього об'єму свою енергію. Існує така доза D, при якій в кожному клітині є одне попадання. Наприклад, α -частинка з енергією 6 MeВ у результаті одного попадання у клітині формує

короткий трек завдовжки 31 мкм з дуже високою густиною іонізації – в середньому утворюється 2,5 тисяч пар іонів на 1 мкм шляху [49]. Велика частина іонізацій є скупченнями із однієї-двох пар іонів, практично безперервно слідує одна за однією уздовж прямолінійного треку частинки. Деяка кількість іонізацій здійснюється високоенергетичними β -електронами, які відгалужуються від основного треку по всіх напрямках (сумарна довжина пробігу β -електронів удвічі перевищує шлях α -частинки).

Загалом, у клітині може існувати певна мікроструктура (мішень), попадання в яку прямо або побічно викличе кінцевий біологічний ефект. Наприклад, глибока деградація якої-небудь мембранної ділянки може різко порушити іонний гомеостаз і привести до швидкої загибелі клітини, а поразка певної ділянки хромосоми - до метаболічних змін, які поступово зумовляють порушення життєво важливих функцій і загибель клітини. Априорі можна припускати, що проходження треку α -частинки через «мішень» приведе до її ураження внаслідок іонізації великої кількості атомів, що складають мішень.

Такі міркування відкривають широкі можливості для формального аналізу первинних процесів, що призводять до тестованого біологічного ефекту опромінення. Виконавши відповідну математичну обробку дослідних кривих, відображаючих залежність біологічного ефекту від поглиненої дози випромінювання, можна оцінити мінімальну кількість актів іонізації, достатню для виникнення ефекту, і приблизний розмір мішені, в якій повинні відбутися акти іонізації [45, 47]. Такий аналіз дозволяє одержати важливу інформацію про характер іонізації, яка відбулася в об'єкті на початковій стадії дії випромінювання і після деякого певного часу (секунди, години або навіть місяці) приведе до кінцевого біологічного ефекту.

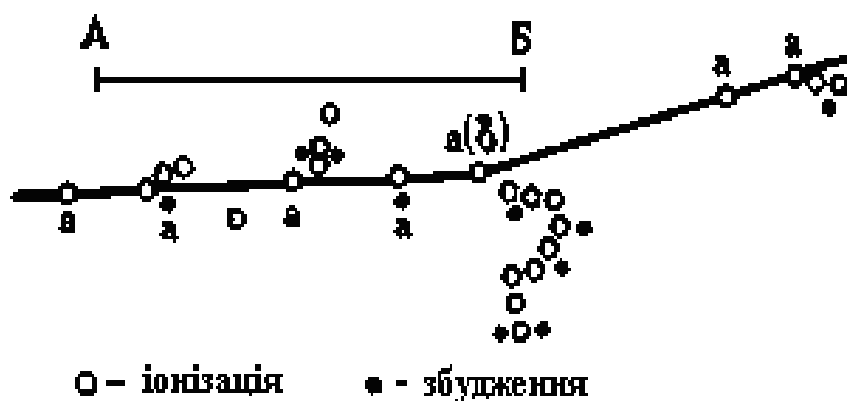


Рис. 1.5. Передача енергії по траєкторії важкої зарядженої частинки [49]. Для α -частинки з енергією 6 MeV відстань $AB=31$ А, що відповідає товщині середньої молекули білка.

Автори [46, 49, 50] звертають увагу на ще один важливий аспект. Розрахунки [51] виконані для взаємодій, пов'язаних з іонізацією і збудженням лише валентних електронів молекул середовища. Їх частка у воді і біомолекулах 70 - 80 % від загальної кількості електронів, і вони є найменш зв'язаними. Проте помітний вклад у біологічну дію вносить Оже-процес, ініційований вибиванням електрону з К-оболонки важких атомів, найперше з атома кисню. К-іонізація атомів С, N, O призводить до випускання атомом принаймні ще одного електрона з кінетичною енергією, сумірною з енергією К-рівня. Вірогідність вильоту Оже-електрона при іонізації К-оболонки атома кисню практично дорівнює одиниці [49]. Вірогідність конкуруючого з Оже-процесом випускання кванта рентгенівської флуоресценції не перевищує десятих долей відсотка. Спектр Оже-електронів складається з декількох енергетичних ліній; найбільшу інтенсивність має лінія, що відповідає енергії 500 eV [51].

І насамкінець, розглянемо особливості іонізації біосубстратів електрично нейтральними частинками. У даному випадку утворення іонів відбувається також непрямим шляхом. Взаємодію з орбітальними електронами здійснюють прискорені заряджені частинки, що вивільняються у речовині в результаті поглинання кінетичної енергії нейтронів. Ця обставина дозволяє віднести

нейтрони до розряду непрямо іонізуючих частинок і об'єднати їх за принципом дії в одну групу з фотонами рентгенівського і γ -випромінювання.

Максимальна іонізуюча дія, як вже вказувалось, спостерігається у кінці трека частинки, коли швидкість її значно знижується [51]. Таким чином, у результаті опромінення тканин нейтронами високих енергій у рідко розміщених мікрооб'ємах виникають короткі треки з високою густиною іонізації. Підбираючи відповідний тип випромінювання і варіюючи енергію іонізуючих частинок, можна добитися оптимального розподілу поглиненої дози, зокрема сприятливого співвідношення між ступенем ураження нормальних тканин і пухлин, що залягають на значній глибині.

Найістотношою особливістю іонізуючих випромінювань, як впливає із самої назви цієї групи високоенергетичних, електромагнітних і корпускулярних, випромінювань, є їх здатність прямо або побічно приводити до однакового результату – до виникнення іонізованих атомів і молекул. Всього 10^{-13} с займає перша, або фізична, стадія дії іонізуючого випромінювання на біологічні системи [45, 52]. За цей час енергія поглинених живою тканиною фотонів або заряджених частинок повністю розтрачується на іонізацію атомів і молекул, яка супроводжується появою вільних *вторинних низькоенергетичних електронів*.

1.2. Фізичні процеси, викликані електронним ударом у молекулах

Взаємодія електронів з молекулами супроводиться проходженням різноманітних фізичних процесів, які можна розділити на дві групи [53-55]:

- а) пружне розсіювання електронів, тобто взаємодії, які не приводять до зміни внутрішньої енергії молекули;
- б) непружні взаємодії.

При непружних взаємодіях змінюється внутрішня енергія молекули і налітаючого електрону. Приклади таких процесів:

- 1) збудження молекули;
- 2) вибивання одного або кількох електронів (іонізація);
- 3) захоплення іонізованою молекулою налітаючого електрону з утворенням нейтральної молекули (рекомбінація);
- 4) фрагментація молекули (дисоціація);
- 5) захоплення нейтральною молекулою налітаючого електрона (утворення негативного іона);
- б) передача внутрішньої енергії молекули повністю або частково налітаючому електрону (надпружне розсіювання).

Можливе також і поєднання кількох процесів, наприклад дисоціативне збудження чи дисоціативна іонізація тощо (рис. 1.6).

Для детального опису фізичних процесів у складових нуклеїнових кислот під впливом електронів доцільно використати основні поняття з фізики зіткнень [53-55].

Кінетична енергія електрона може витрачатись на *збудження молекули*:



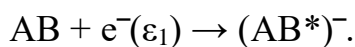
Якщо дане збудження представлено переходом одного з електронів на збуджений рівень, то це – електронне збудження. Коливальне збудження – це перехід молекули на вищий коливний рівень, а обертальне – збудження обертальних рівнів вільності молекули. Дисоціативне збудження означає збудження, внаслідок якого один або декілька зв'язків у молекулі розриваються. Зазначимо, що дезактивація збудження супроводжується свіченням (виділенням світла) у широкому спектральному діапазоні:



Іонізація молекули-мішені має місце, коли кінетична енергія налітаючого електрону тратиться на вивільнення одного з електронів цієї молекули:

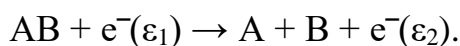


Також при взаємодії повільного електрона з молекулою може мати місце його *захоплення* молекулою-мішенню, внаслідок чого утворюється квазістаціонарний іон (КНІ) батьківської молекули $(AB^*)^-$:

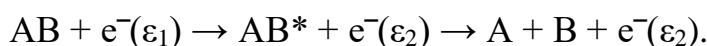


КНІ $(AB^*)^-$ в подальшому часто розпадається на фрагменти А і В – це *дисоціативне електронне захоплення*: $(AB^*)^- \rightarrow A + B^-$.

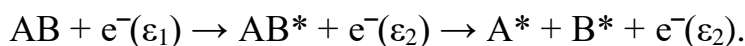
Зіткнення повільного електрона з молекулою може провокувати її *дисоціацію*:



Дисоціації може передувати збудження – *дисоціативне збудження*:



Імовірно, також, що самі продукти розпаду також збуджені:



У випадку, коли дисоціація супроводжується іонізацією, процес називається *дисоціативною іонізацією*:



Самі осколки, продукти розпаду, A^+ , B^- також можуть бути збудженими $[A^*]^+$, $[B^*]^-$ чи незарядженими: А, В та (або A^* , B^*).

Перебіг того чи іншого процесу йде з певною імовірністю. Мірою імовірності того, що при даних конкретних умовах реалізується певний процес, є ефективний переріз даного процесу. Величина перерізу залежить від виду взаємодіючих частинок, типу реакції, енергії зіткнення та багатьох інших факторів [53-55].

У загальному випадку повний переріз Q непружного розсіювання електронів визначається із співвідношення [55]:

$$Z = N n_e Q \cdot v_e, \tag{1.5}$$

де Z - кількість непружних зіткнень електронів з N молекулами в об'ємі 1 см^3 за 1 с ;

n_e - кількість електронів у 1 см^3 ;

v_e - швидкість електронів.

Повний переріз непружного розсіювання можна представити у вигляді суми перерізів окремих процесів: збудження, іонізації, рекомбінації, фрагментації і т. д.

За способами одержання інформації про процеси таких взаємодій методи їх дослідження можна умовно поділити на прямі і непрямі [53]. До прямих методів відносяться методи, за допомогою яких визначається ефективний переріз взаємодії і його залежність від енергії. Непрямі методи дають інформацію лише про середні значення ефективних перерізів відповідних процесів або про їх коефіцієнти швидкостей. Найбільш достовірні дані про ефективні перерізи процесів взаємодії можна одержати в експериментах, коли молекули відомої концентрації взаємодіють з пучком електронів заданих енергій, і при цьому безпосередньо реєструються продукти реакцій.

Як відмічалось вище, найбільш достовірні дані про ефективні перерізи процесів взаємодії можна одержати в експериментах, коли молекули відомої концентрації взаємодіють з пучком електронів заданих енергій, і при цьому безпосередньо реєструються продукти реакцій. Наприклад, для визначення перерізу процесу збудження прямим методом за аналогією з (1.5) можна використати співвідношення [53]:

$$I = N n_e \cdot Q_{зб.} v_e h\nu, \quad (1.6)$$

де $Q_{зб.}$ - переріз збудження відповідної молекулярної спектральної смуги; I - інтенсивність випромінювання фотонів енергією $h\nu$.

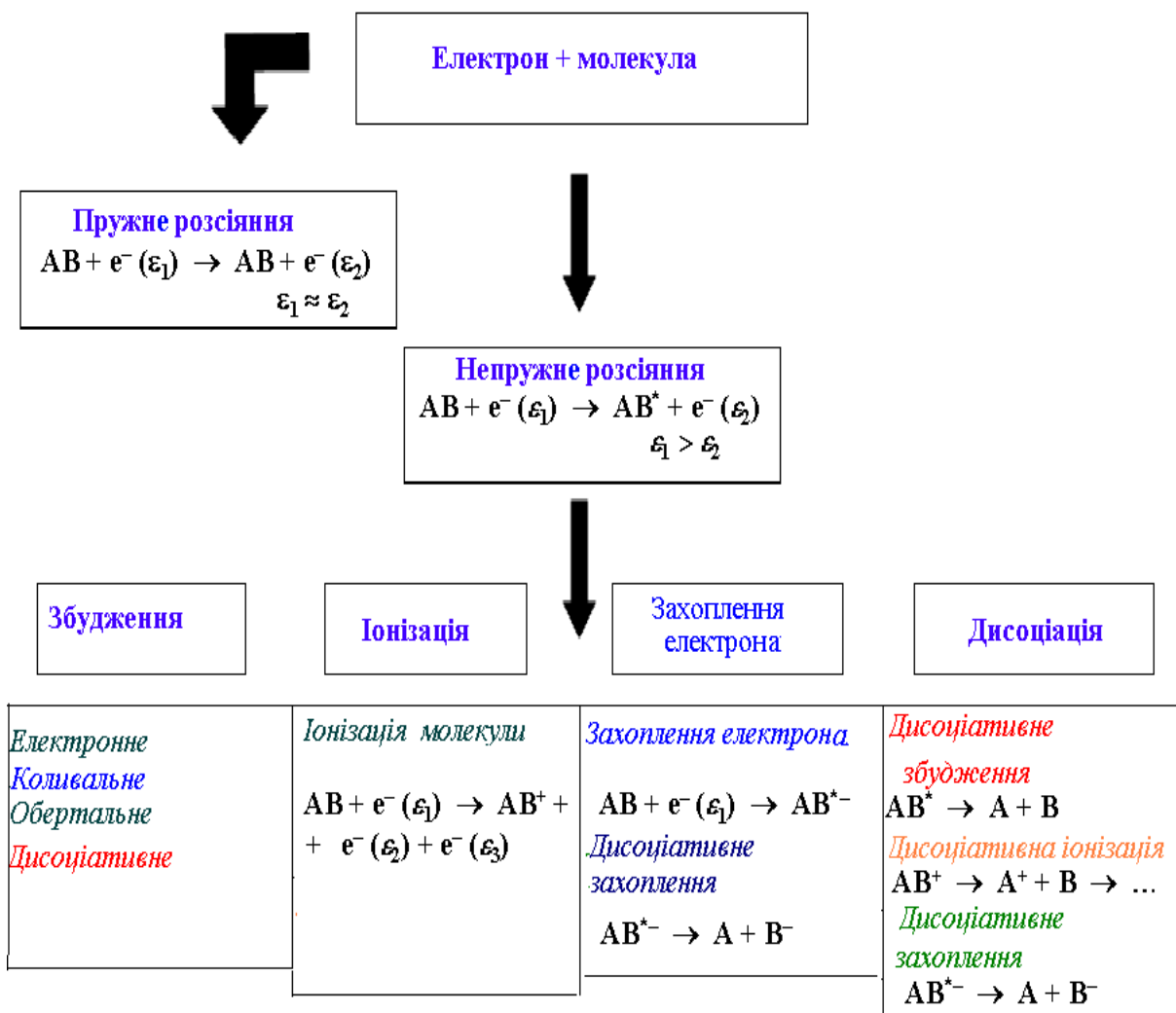


Рис. 1.6. Схема процесів, що супроводжують взаємодію електронів з молекулами [53–55].

Переріз іонізації $Q_{\text{іоніз}}$ входить у формулу:

$$i = i_e N Q_{\text{іоніз}}, \quad (1.7)$$

де i – величина струму молекулярних іонів, i_e – струм електронного пучка.

Експериментальне визначення ефективних перерізів процесів збудження, іонізації та інших є надзвичайно складною методичною задачею. При реальній постановці таких експериментів виникає ряд суттєвих труднощів, насамперед пов'язаних із одержанням достатньої концентрації молекул. Найбільш суттєвими

методичними ознаками методів є: а) способи отримання молекул у газовому стані; б) спосіб введення молекул в область взаємодії з електронним пучком; в) спосіб детектування продуктів реакцій; г) метод визначення ефективного перерізу реакції.

Для вивчення структури молекул різної природи та їх змін внаслідок дії повільних електронів успішно застосовується мас-спектрометрія з іонізацією електронним ударом [56, 57]. Автори піонерських робіт з мас-спектрометрії негативних іонів в органічній хімії [58] виявили процес дисоціативного електронного захоплення молекулами. Даний метод дає можливість виконати прямі вимірювання іонів, що утворюються при зіткненнях електронів з молекулами, без впливу міжмолекулярних взаємодій та розчинника. В роботі [59] досліджується свічення, що виникає внаслідок збудження невеликих органічних молекул (галогензаміщених молекул метану) та їх фрагментів при зіткненнях з електронами.

Аналіз цих методик показав, що газофазна мас-спектрометрія з іонізацією електронним ударом в умовах однократності зіткнень та оптична спектроскопія дають можливість прямого вивчення фізичних процесів, ініційованих повільними електронами і в біологічно важливих молекулах. Важливо, що при реалізації таких фізичних моделей можна максимально усунути вплив міжмолекулярних взаємодій та розчинника, що є цінним не лише з точки зору з'ясування черговості стадій процесів, але й дозволяє отримати інформацію про ефективні перерізи процесів та їх залежність від енергії електронів.

1.3. Процеси збудження молекул повільними електронами

Початкова стадія важливих біологічних процесів (наприклад, фотосинтезу, транскрипції, радіаційної інактивації біомолекул, фотодинамічного ефекту, фотодимеризації основ нуклеїнових кислот тощо) є фізичною. Суть її полягає у

зміні електронної структури біомолекул внаслідок поглинання енергії, переходу в електронно збуджений стан відповідних молекул, їх іонізації та міграції енергії.

1.3.1. Електронна структура молекул

Для вивчення електронної структури молекул зараз використовують різні фізичні методи досліджень, однак незамінними, внаслідок їх точності і чутливості, залишаються спектральні методи [53–55]. Фізичні процеси, які лежать в основі спектроскопії біомолекул, пояснюють енергетичні діаграми, приведені на рис. 1.7 – 1.9.

Процеси збудження та іонізації молекули – це утворення збудженої молекули або її фрагментів, позитивно або негативно заряджених іонів в результаті електронних переходів у молекулі. Відповідні переходи можуть відбуватися у результаті внутрішнього або зовнішнього збурення, тобто електронного удару, іонного удару, поглинання або випромінювання квантів електромагнітного поля.

Надалі проводяться аналізи процесів збудження та іонізації молекул, що мають місце при їх взаємодії з електронами (електронним ударом). У таких процесах виникає низка нових факторів, які не проявляються у зіткненнях електронів з атомами [11,59–65]. У відповідності до твердження Франка-Кондона: за проміжок часу під час якого відбуваються переходи електронів, ядра практично не змінюють своїх координат, тобто ядра можна вважати «замороженими». Така наближена фізична модель значно спрощує аналіз кривих потенціальної енергії початкового та кінцевих станів молекули. Рис.1.7 ілюструє на прикладі двоатомної молекули переходи з основного стану АВ у збуджені стани А'В.

У всіх трьох випадках, показаних на рис.1.7, крива потенціальної енергії 1 ілюструє початковий електронний стан молекули, а різні збуджені стани зображуються кривими потенціальної енергії 2a, 2b і 2c. Найменш можлива відстань між ядрами становить $0-a$, а найбільша, відповідно $0-b$ для молекули

АВ, яка знаходиться в основному електронному та коливному стані. Ці ж відстані залишаються без змін, у відповідності до твердження Франка-Кондона, і в кінці завершення електронного переходу в збуджений стан молекули. Заштрихована область на рис.1.7 іменуються ділянкою Франка-Кондона (різницю між найбільшими і найменшими віддальми між ядрами). Розглянемо можливі варіанти потенціальних кривих збуджених станів. Їх є три [54].

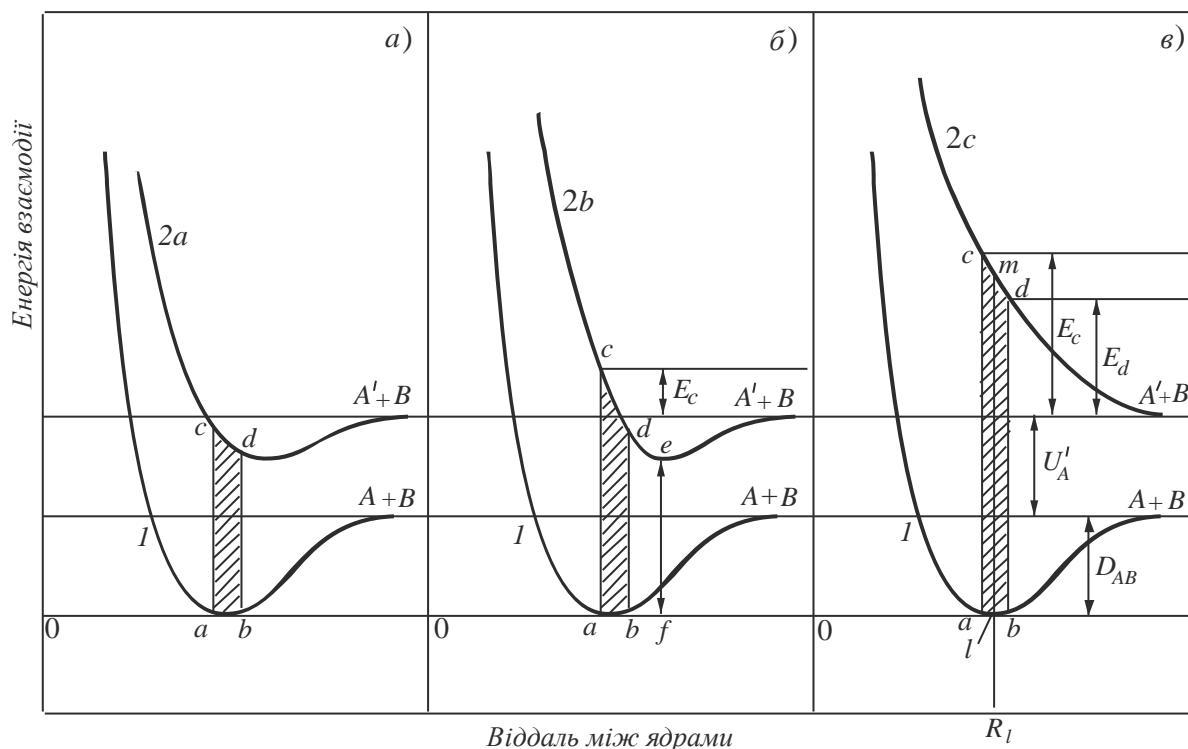


Рис. 1.7. Ілюстрація принципу Франка-Кондона. Електронні переходи в молекулах здійснюються із основного стану АВ у три різні збуджені стани А'В, які описуються різними кривими потенціальної енергії [55].

Перший – а). У цьому випадку електронний перехід формує потенціальну енергію збудженого стану, який характеризується потенціальною ямою з набором дискретних колибних рівнів. У розглянутому варіанті молекула залишається у зв'язаному збудженому стані (рис. 1.7а).

Другий – б). У цьому випадку електронний перехід формує потенціальну енергію збудженого стану, який характеризується потенціальною ямою з набором дискретних станів та рівнів, які попадають в область суцільного спектру

енергій. Коли електронні переходи здійснюються на рівні суцільного спектру – молекула дисоціююється на дві складові (A^+B^- або A^-B^+). В результаті дисоціації кінетична енергія знаходиться у межах від 0 до E_c (рис. 1.7б).

Третій – в). У цьому випадку всі електронні переходи із основного стану здійснюються в область суцільного спектру енергій збудженого стану, що приводить до дисоціації молекули. В результаті дисоціації кінетична енергія знаходиться у межах від E_c до E_d (рис. 1.7в).

На рис. 1.8 зображена залежність потенціальної енергії багатоатомної молекули від міжатомної відстані. Мінімум кривої відповідає рівноважному стану, в якому сили притягання рівні силам відштовхування. Горизонтальні лінії відповідають енергіям коливних рівнів. Потенціальна енергія електронно-збудженого стану S_1 лежить над кривою основного стану S_0 на висоті, рівній енергії електронного збудження. На рисунку показані також відповідні молекулярні спектри із демонстрацією закону Стокса.

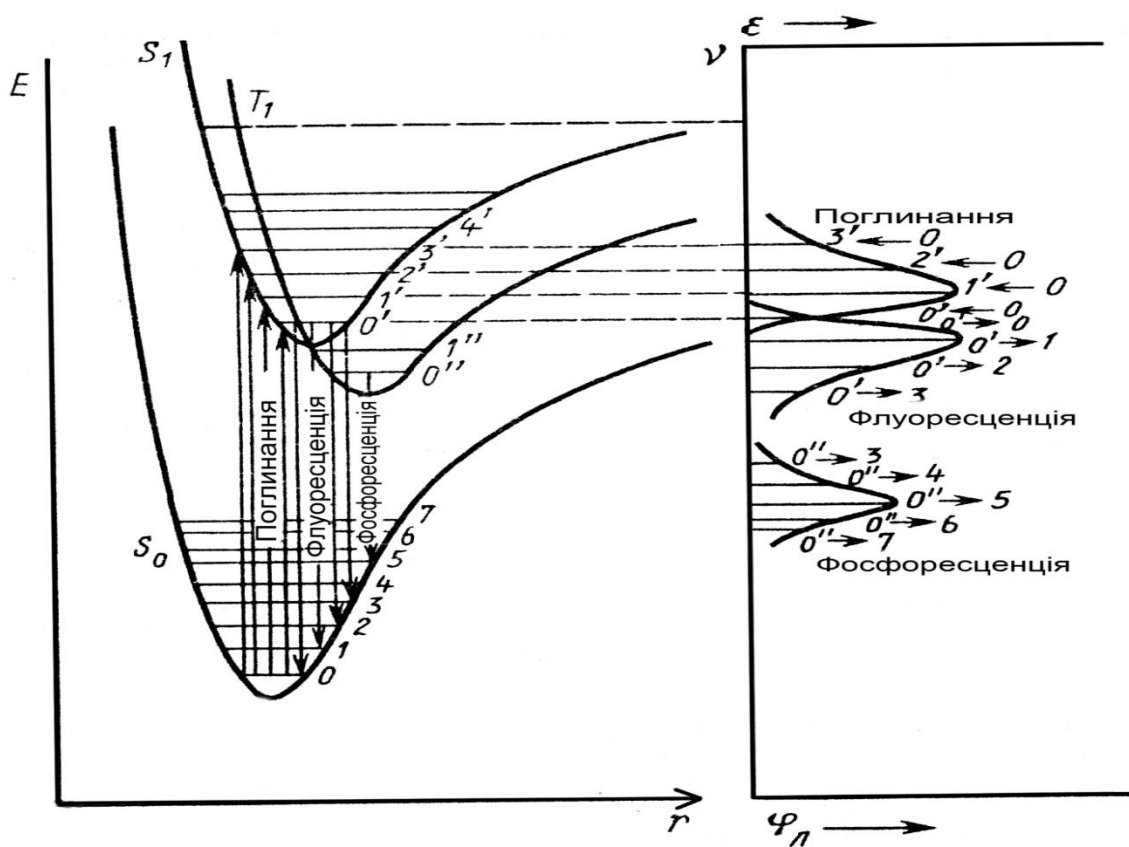


Рис. 1.8. Залежність потенціальної енергії багатоатомної молекули від міжатомної відстані [61].

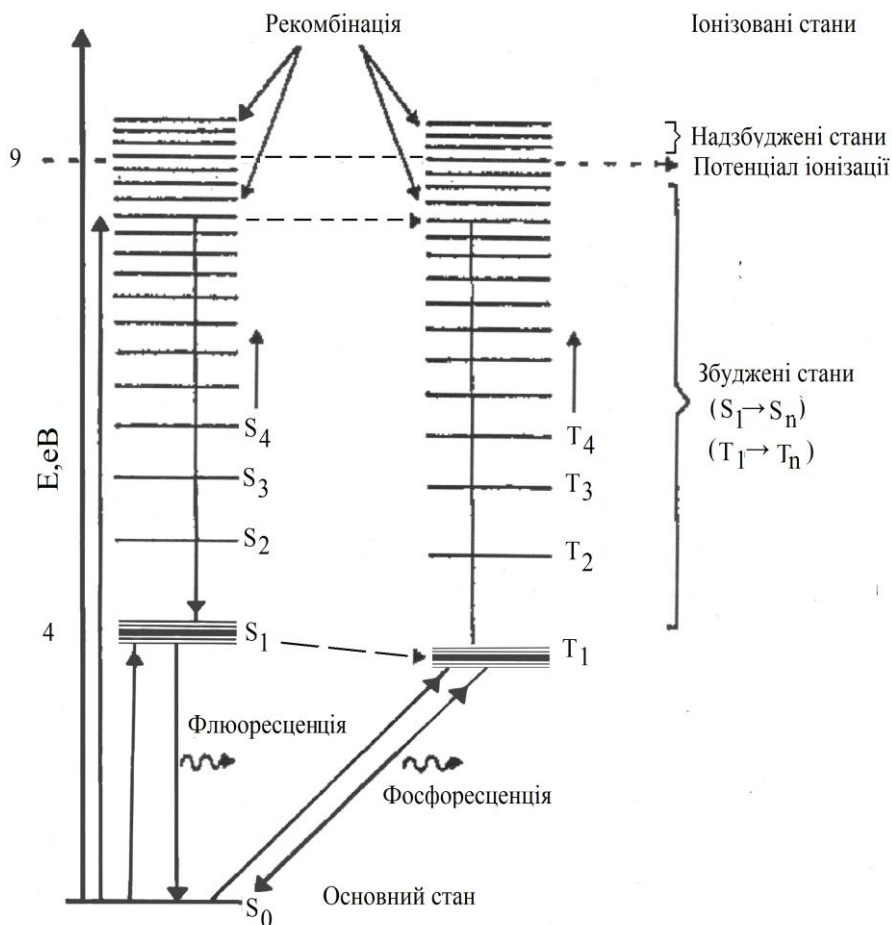


Рис. 1.9. Діаграма енергетичних рівнів молекулярних систем [6,7].

Квантово-механічні розрахунки [61–63] показали, що молекули повинні мати дві системи збуджених рівнів: синглетну і триплетну (рис. 1.9). За спектроскопічними правилами відбору переходи більш імовірні між різними рівнями в одній системі. Міжсистемні переходи мають набагато меншу імовірність, хоч у різних умовах збудження заборона не є абсолютною.

У випадку таких складних молекул, як нуклеїнові кислоти та їх складові, багаточисленні рівні коливної енергії фактично зливаються в одну неперервну смугу. Тому спектри поглинання і люмінесценції ДНК і РНК мають вигляд широких смуг із слабо вираженою структурою. В ультрафіолетовій області максимуми поглинання нуклеїнових кислот і їхніх компонентів знаходяться при

таких довжинах хвиль: 260, 197, 117 і 66 нм [61-63, 66]. Важливою особливістю азотистих основ нуклеїнових кислот є наявність в їх структурі системи спряжених подвійних зв'язків. З фізичної точки зору, це є системи делокалізованих π -електронів [62, 64], які належать молекулам пурину або піримідину, в цілому.

Для первинних стадій біопроеесів на молекулярному рівні особливо важливі довгоживучі носії енергії у вигляді метастабільних триплетних станів [9, 12–14]. Одним з найбільш імовірних механізмів реалізації останніх є інтеркомбінаційні електронні переходи з основного енергетичного стану молекул. Проте достовірні дані про перебіг таких процесів практично відсутні.

Важлива інформація може бути отримана у дослідженнях процесів збудження молекул саме такими агентами, як електрони, взаємодії з якими характеризуються важливими фізичними особливостями. На відміну від фотонів, електрони, які мають достатню енергію, можуть збудити довільний енергетичний рівень молекули [53–55]. При цьому суттєвою особливістю прямого збудження молекул є можливість збудження оптично заборонених переходів (рис. 1.9).

Є кілька механізмів збільшення імовірності збудження заборонених синглет-триплетних переходів у молекулі. Перший механізм полягає в обміні електрона молекули на падаючий електрон [12, 67]. Під час такого обміну може відбутися зміна мультиплетності рівня, якщо спінові моменти падаючого і вибитого електронів протилежно направлені. Імовірність збудження забороненого переходу має різкий максимум для електронів з енергіями, що відповідають енергії переходу. При великих кінетичних енергіях електрона імовірність такого процесу різко спадає, оскільки обмін електронами залежить від часу взаємодії.

Друга причина, що обумовлює високу імовірність утворення триплетних збуджених станів, полягає у тому, що при збудженні вторинними електронами утворюється велика кількість вищих збуджених рівнів [14]. У роботі [68] проаналізовано роль вторинних електронів в утворенні збуджених станів

складних органічних сполук при опроміненні електронним пучком. Показано, що вплив електронного газу на інтенсивність і кінетику флуоресценції можна описати, в основному, із врахуванням вторинних електронів. Для вищих енергетичних рівнів імовірність переходу на триплет більша, ніж для нижніх рівнів.

Висока імовірність утворення триплетних рівнів пов'язана також і з тим, що високоенергетичні частинки з малою довжиною пробігу утворюють на своєму шляху більшу кількість іонізованих і збуджених молекул, які сильно локалізовані і утворюють групи (кластери) [11, 68]. Сильна взаємодія збуджених молекул у кластерах збільшує імовірність зміни кратності рівня.

Слід мати на увазі, що властивості молекул у синглетному (S) і триплетному (T) збуджених станах істотно відрізняються. Ці відмінності стосуються насамперед їхньої електронної структури: розподілу зарядів, спінової густини, симетрії π -електронів, порядків зв'язків [10–12]. Особливості електронної структури, відповідно, визначатимуть донорно-акцепторні властивості молекул, їхню реакційну здатність, часи життя та інші характеристики [11, 12, 67, 68], зумовлюючи швидкість хімічних перетворень. Визначальною ознакою триплетних збуджених станів у цих первинних стадіях є їхній великий час життя відносно короткотривалих синглетно збуджених станів. Так, перехід $T_1 - S_0$ є інтеркомбінаційним і заборонений правилами відбору за спіном. Час життя молекули у нижньому триплетному стані збільшується (до 10^{-4} с, а при низьких температурах навіть до декількох секунд) [68, 69]. Тому такі переходи з утворенням довгоживучих метастабільних станів мають виняткове значення в біологічних системах: як при протіканні основних природних біопроесів, так і при розвитку різних уражень, наприклад, радіаційних [8, 10–14, 64].

Таким чином, найбільш важливими для біофізики особливостями триплетних збуджених станів молекул є наступні:

а) у результаті кулонівського відштовхування неспарених електронів, які відносяться до одного орбітального рівня, рівень T_1 завжди енергетично нижчий від S_1 збудженого рівня і потребує, відповідно, меншої енергії активації.

б) Оскільки час життя в триплетному стані у $10^6 - 10^9$ разів більший від часу життя у синглетному стані, то створюються сприятливі умови для участі молекул у біохімічних реакціях, швидкості яких лімітуються дифузійними процесами при низькій концентрації реагуючих речовин.

в) Енергія триплетного стану може бути легко передана іншій, не збудженій, молекулі. Переріз триплетного переносу менший від синглетного, однак енергія довгоживучого триплетного стану встигає мігрувати на більші віддалі і з більшою вірогідністю досягатиме реакційного центру.

1.3.2. Експериментальні дослідження процесів збудження молекул нуклеїнових кислот

На сьогодні не викликає сумнівів, що у реалізації первинних фізичних стадій складних біологічних перетворень фундаментальна роль належить процесам збудження, міграції енергії та іонізації молекул у біоструктурах [7–14]. Оптимальним методичним підходом для отримання інформації про особливості збуджених станів біологічно важливих молекул є різноманітні спектральні методи.

Спектри поглинання і люмінесценції нуклеїнових кислот та їх складових вивчались багатьма дослідниками. Прикладом класичних досліджень стали роботи [61, 62, 66, 69–82], у яких отримані важливі результати для біомолекул у різних агрегатних станах – розчинах, кристалах, плівках, для ізольованих молекул в аргонових матрицях тощо. У всіх названих роботах досліджувалися процеси взаємодії *електромагнітних випромінювань* (в основному, оптичного діапазону) з біосистемами.

Одними з перших робіт цієї тематики були дослідження Додонової і співробітників [72, 73] та Зонтага і Вайбецана [66], виконані у 70-х рр. 20 ст.

Автори вивчали спектри поглинання та люмінесценції нуклеотидних основ у вакуумно-ультрафіолетовій області при довжинах хвиль 100 – 300 нм. Мета цих експериментів – вивчення електронно-збуджених станів молекул S_n для оцінки можливих фотопроцесів, що відбуваються при збудженні $S_0 \rightarrow S_n$. Під S_n потрібно розуміти сукупність електронних рівнів за рахунок переходів π -електронів пуринових і піримідинових кілець та σ -електронів. Усі виміри проводилися у тонких плівках, отриманих сублімацією у вакуумі. Спектри поглинання, отримані в роботах [72, 73], показані на рис.1.10. Дві довгохвильові смуги цих сполук - біля 260 і 210 нм - добре відомі і вивчалися багатьма авторами [63, 70, 78, 79]. Однак в області спектру при довжинах хвиль, менших від 200 нм, виявлені ще чотири смуги з максимумами при 180, 160, 140 і 120 нм.

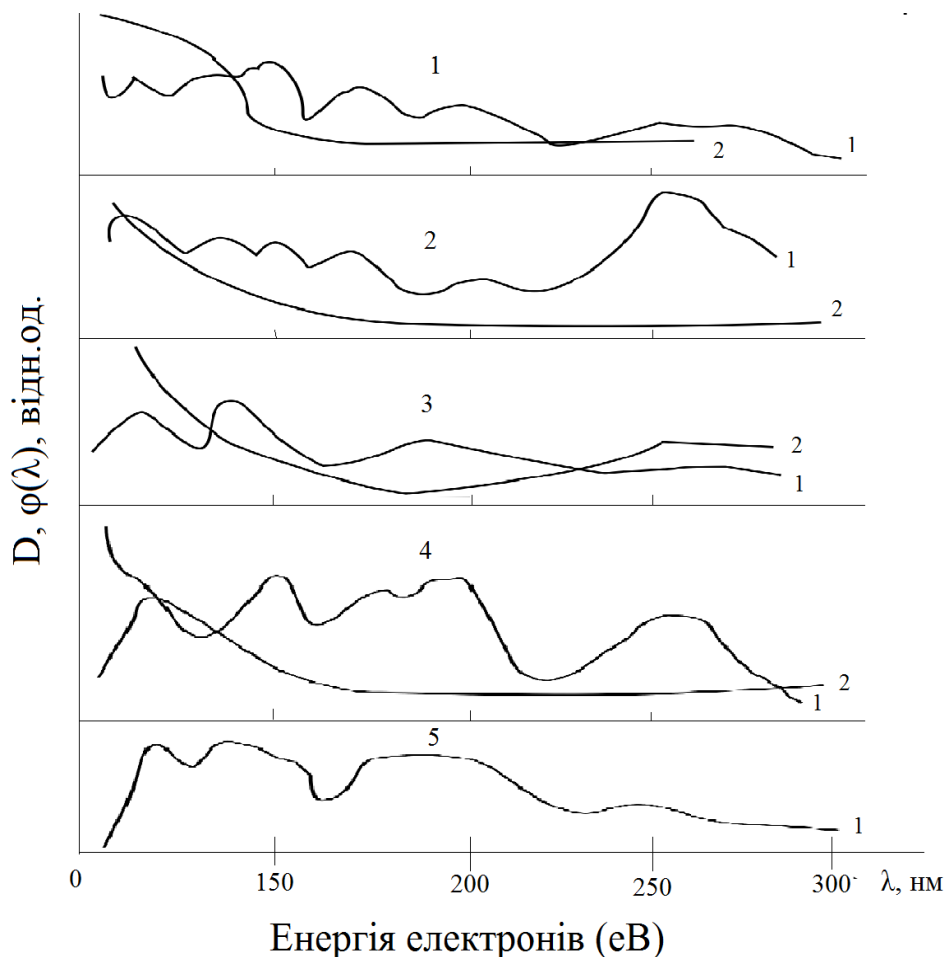


Рис. 1.10. Спектри поглинання (1) і залежність виходу фосфоресценції $\phi(\lambda)$ (2) для урацилу (1), тиміну (2), цитозину (3), аденіну (4), гуаніну (5) [72, 73].

Спектри люмінесценції плівок біомолекул отримані в [72,73] при збудженні інтенсивною смугою при 160 нм, виділеною із спектру розряду водню. Результати приведені на рис.1.11. і зводяться коротко до наступного. Тимін і аденін характеризуються смугами флуоресценції і фосфоресценції з максимумами відповідно біля 320 – 350 нм і 450 нм. Урацил, гуанін і цитозин мають одну смугу (фосфоресценції) біля 400 – 420 нм.

При кімнатних температурах збудження у першій довгохвильовій смузі поглинання приводить до простіших спектрів люмінесценції азотистих основ та полінуклеотидів. Проявляються лише смуги з максимумами біля 330 - 350 нм [62, 69, 70, 76].

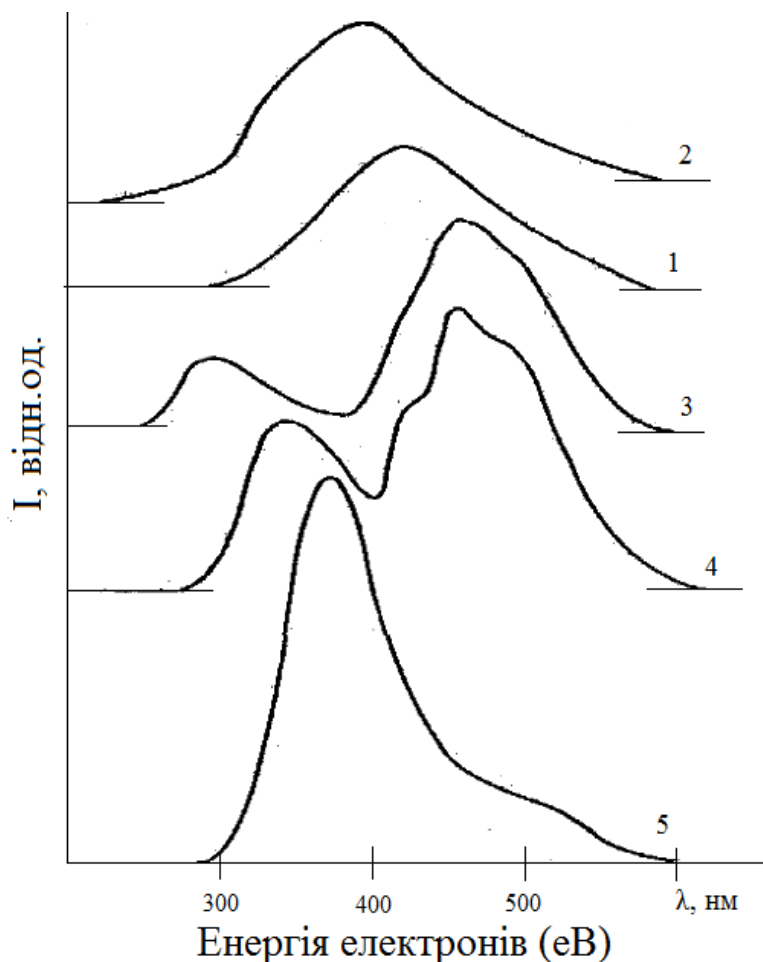


Рис. 1.11. Спектри люмінесценції нуклеотидних основ [73]:

1 - урацил, 2 - цитозин, 3 - тимін, 4 - аденін, 5 – гуанін.

Цікаві результати про спектральні особливості молекул ДНК у вакуумноультрафіолетовій (3 – 25 еВ) області отримані у роботі [66]. Експерименти проводились з плівками нативної і денатурованої нагріванням тимусної ДНК. Детальніше ці експерименти будуть проаналізовані в п. 5.5.

Зауважимо, що досліджувана область енергій електромагнітних випромінювань відповідає *енергіям повільних електронів*.

Специфіка фізичних особливостей електронних взаємодій зумовила використання електронного удару як тонкого інструменту для вивчення молекулярних об'єктів. Адже пряме заселення триплетних рівнів молекул шляхом інтеркомбінаційної конверсії можливе лише за допомогою електронного удару.

Аналіз опублікованих робіт вказує на великий інтерес до вивчення молекул, які збуджуються неоптичним шляхом. Можна вирізнити кілька основних напрямків експериментів із *збудження молекул електронами*.

По-перше, вивчення процесів, які моделюють низькотемпературну плазму, а також елементарні взаємодії, що відбуваються у верхніх шарах атмосфери Землі та інших планет, атмосфері Сонця і зірок, у кометах. Зокрема, автори [83–87] досліджували дисоціативне збудження електронним ударом двоатомних молекул, води, аміака, а також радикалів CH_3CN , C_2H_2 , C_3H_4 та C_3H_6 .

Трохи пізніше Грузинський і співавтори [88–90] розпочали цикл робіт з одержання генерації випромінювання на складних молекулах у різних агрегатних станах з використанням електронних пучків. У роботах підкреслена висока випромінювальна здатність молекул барвників. При електронному збудженні виявлені зміни спектрів флуоресценції деяких молекул у порівнянні з їх спектрами при оптичному збудженні.

Проведені модельні дослідження [91,92] коливного збудження у зіткненнях електрон-багатоатомна молекула. У молекулі розглядались дві коливні моди, одна з яких мала дуже низьку частоту. Показано, що ці дві моди не можна рахувати незалежними у ході зіткнення. У резонансній області спостерігалось значне утворення електронів з малими енергіями. Це явище дає

корисну інтерпретацію попередніх експериментальних даних про неспецифічне коливне збудження у великій багатоатомній молекулі. Систематизація даних, отриманих для лінійних і циклічних молекул [92], показала, що, навіть при використанні моноенергетичних пучків частинок, при їх проходженні в середовищі можуть відбуватися складні фізико-хімічні процеси – утворюються збуджені молекули, їхні іони, радикали, вторинні електрони широкого спектру, різні нейтральні і збуджені частинки сторонніх газів, які також можуть брати участь у процесі збудження. Незалежно від величини енергії електронів на збудження флуоресценції молекули затрачується лише частина їх енергії, достатня, в основному, для збудження нижнього електронного стану. Однак, у ряді випадків, особливо при великому струмі електричного розряду, спектри розмиваються, а при дальшому його рості молекули руйнуються, і спостерігається інтенсивне свічення фрагментів молекул. Для молекул аміаку в пучках, які перетинаються, виміряні перерізи утворення позитивних іонів при енергіях електронного удару від порогу до 1 кеВ [92]. Для подальшого прогресу в даній області необхідне систематичне вивчення елементарних процесів, механізмів збудження і дезактивації електронних станів і люмінесценції складних молекул у різних агрегатних станах.

Третій напрям застосування електронного удару пов'язаний з біомолекулами. Однак, довгий час вивчалися лише ефекти в біоструктурах, викликані швидкими електронами, енергія яких більша 1 кеВ. Інформація про такі взаємодії потрібна, в першу чергу, для аналізу електронно-мікроскопічних зображень та радіаційних ефектів. Зокрема, автори робіт [93, 94] на основі аналізу спектрів енергетичних втрат електронів енергією 25 кеВ на тонких плівках нуклеотидних основ визначили перерізи непружного розсіяння при збудженні електронів валентної і К-оболонки. Виявлені також пошкодження зразків при цих умовах.

Слід відмітити, що оптично заборонені переходи з утворенням довгоживучих метастабільних станів мають виняткове значення у біологічних системах: як при проходженні основних біологічних процесів, так і при розвитку

різних уражень, наприклад, радіаційних. Тому важливим є вивчення закономірностей взаємодії саме низькоенергетичних електронів з біологічно важливими молекулами.

Важливо, що дослідження ізольованих біомолекул, вільних від впливу середовища та міжмолекулярних взаємодій, має ряд переваг, дозволяє отримати додаткову інформацію, необхідну для повнішого розуміння фізики молекулярних систем. Наприклад, про їх геометричну конфігурацію, дипольні моменти, редуційні властивості, функції збудження та іонізації тепловими електронами.

1.4. Процеси іонізації біомолекул повільними електронами

Процес іонізації молекули – це утворення позитивно чи негативно заряджених іонів із нейтральної молекули в процесах її зіткнення (взаємодії) з іншими частинками чи полями.

У подальшому будуть розглянуті лише процеси іонізації молекул при їх взаємодії з електронами (т.з. електронний удар).

1.4.1. Позитивні іони

У загальному випадку процес утворення позитивних молекулярних іонів є складним. Перебіг цього процесу відбувається в результаті електронних переходів нейтральної молекули (початковий стан) із основного стану в основний або збуджений стан іона (кінцевий стан). При цьому, у відповідності до принципу Франка-Кондона, між'ядерні відстані у молекулі практично не змінюються. Наглядно електронні переходи краще всього розглядати за допомогою кривих потенціальної енергії на прикладі двоатомної молекули, як це показано на рис. 1.12. Окремим випадком переходу молекули у верхні стани є іонізація. При цьому аналіз переходів проводиться аналогічно тому, як це було зроблено вище [53–55].

У всіх трьох випадках, показаних на рис.1.12, крива потенціальної енергії 1 ілюструє початковий електронний стан молекули AB , а різні збуджені стани молекулярного іону AB^+ зображуються кривими потенціальної енергії $2a$, $2b$ і $2c$.

Переходи типу a) призводять до утворення стійкого молекулярного іона AB^+ або A^+B , переходи типу b) – частково до дисоціативної іонізації типу $A+B^+$, а частково до утворення стійкого молекулярного іона AB^+ на збудженому коливному рівні; переходи типу c) – до дисоціативної іонізації з утворенням нейтрального атома та іона з відносною кінетичною енергією між E_c і E_d .

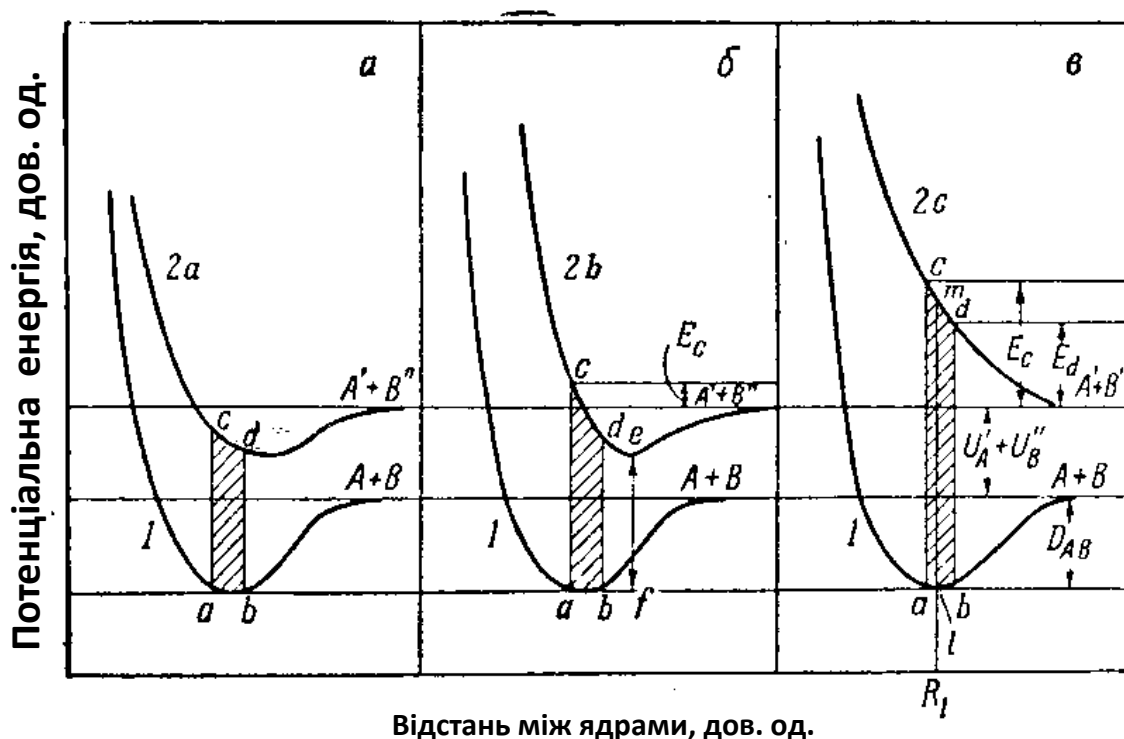
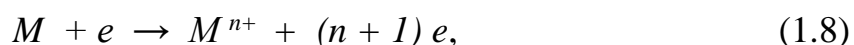


Рис. 1.12. Електронні переходи в молекулах із початкового стану у три кінцеві стани молекулярного іону, що відповідають різним кривим потенціальної енергії [54].

Енергія іонізації молекули визначається як мінімальна різниця значень енергій основних станів молекули і молекулярного іона при незмінних відстанях між ядрами. Вказана різниця має назву вертикальної енергії іонізації молекули і для прикладу показана на рис.1.12 відрізком bd .

Схематично реакції з утворенням позитивних іонів мають такий вигляд.



де M - молекулярна мішень,

M^{n+} - молекулярний іон із позитивним зарядом (n^+);

X^+ і Y - заряджений та нейтральний фрагменти молекули відповідно, що утворені в результаті її дисоціації;

e - електрон.

Реакція (1.9) відображає процес так званої дисоціативної іонізації.

У випадку багатоатомної молекули термін «молекулярний іон» вказує на заряджений стан тільки вихідної молекули. Молекулярний іон і фрагменти молекули можуть знаходитися як в основному, так і в збуджених станах. Останні у випадку їх дипольного зв'язку з нижче розташованими станами, шляхом радіаційного розпаду випромінюють спектральні смуги чи лінії.

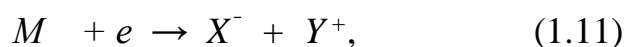
Поряд з дослідженнями продуктів іонізації, одночасно або незалежно можна вимірювати енергію, яку витратили електрони при зіткненні. Електрони, які вивільняються у процесі іонізації (вторинні електрони), володіють енергіями, не більшими за декілька електронвольт, якщо енергія бомбардуючих електронів у кілька разів більша від порогових енергій іонізації атому або молекули [55]. Із збільшенням енергії бомбардуючих електронів починають з'являтися вторинні електрони більш високих енергій, і при початкових енергіях в декілька кілоелектронвольт вже майже половина всіх вторинних електронів може мати енергію, більшу від порогу іонізації мішені [54, 55]. Вторинні і непружно розсіяні первинні електрони неможливо розрізнити між собою експериментально, і тому точних експериментальних даних про енергетичні спектри вторинних електронів при іонізації немає. З цієї причини особливо важливе значення мають спектри вторинних електронів, утворених протонним ударом, оскільки енергетичні спектри електронів, що вивільняються при іонізації електронами і

протонами, аналогічні, якщо первинні частинки бомбардують одну і ту ж мішень з однаковими швидкостями.

Загалом, можна відмітити, що вторинні електрони, як правило, мають невеликі (долі та одиниці eV) енергії. Так, при енергії бомбардуючих електронів у декілька кілоелектронвольт біля половини вторинних електронів можуть мати енергії, дещо більші від енергії іонізації мішені.

1.4.2. Негативні іони.

Утворення таких іонів відбувається двома шляхами: захопленням бомбардуючого електрона нейтральною молекулою; розпадом молекули на позитивно і негативно заряджені фрагменти в результаті електронного удару (біполярна іонізація). Відповідні реакції в цьому випадку мають вигляд:



де M^- - негативний молекулярний іон, який, у загальному випадку, є нестабільним, X^- , Y^+ - заряджені фрагменти молекули.

Спочатку розглянемо загальну картину утворення негативного іону для першого випадку. При захопленні електрона молекулою здійснюється електронний перехід між двома електронними станами негативного молекулярного іона (див. рис. 1.13). У початковому стані один із електронів знаходиться на незв'язаній орбіті, і йому відповідає крива потенціальної енергії, яка співпадає з відповідною кривою для нейтральної молекули AB у її початковому стані.

Результат захоплення буде визначатися формою кривої потенціальної енергії кінцевого стану та її положенням відносно кривої потенціальної енергії початкового стану [54]. Тут передбачаються три випадки, які приведені на рис. 1.13. Крива 1 для цих випадків характеризує потенціальну енергію початкового

стану молекули, а крива 2 – потенціальну енергію трьох різних кінцевих станів утвореного молекулярного іона.

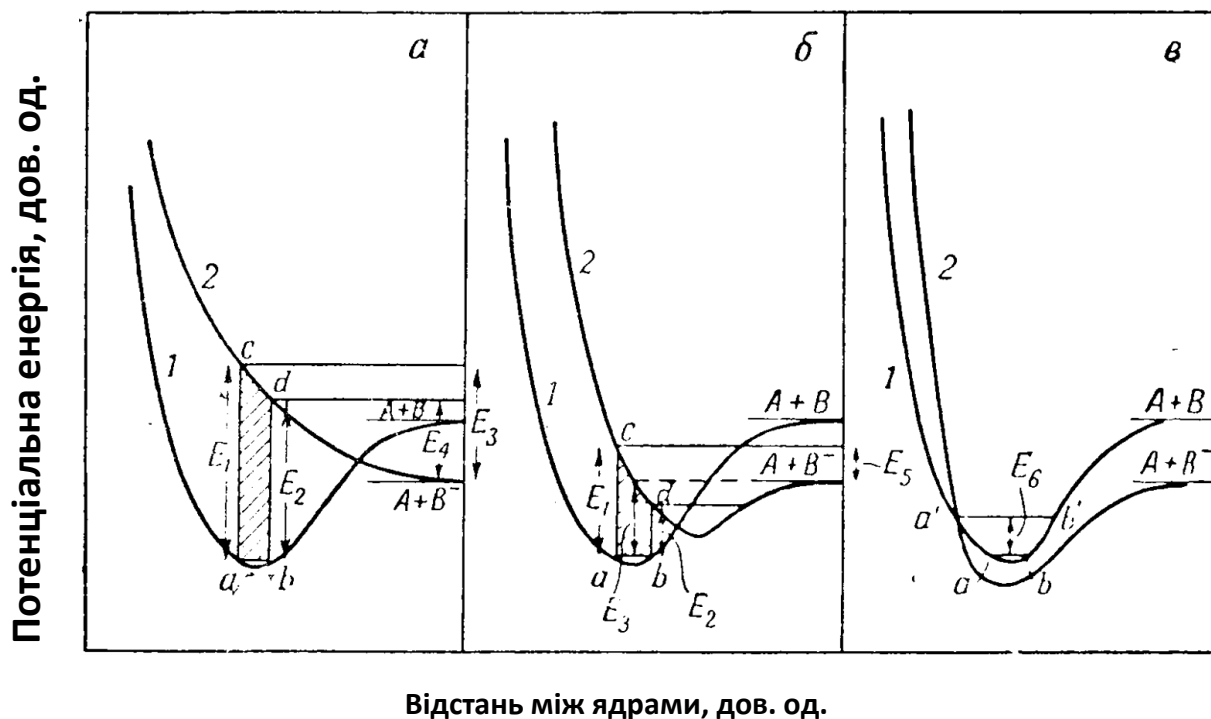


Рис. 1.13. Криві потенціальної енергії, які ілюструють три можливі шляхи утворення негативних іонів із молекули AB [54].

При зростанні між'ядерної відстані до нескінченності криві 2 прямують до суми енергій станів A і B^- . У випадку, коли ці стани є основними, верхня крива прямує до значення енергії меншого, ніж для кривої 1, на величину електронної спорідненості B .

Для випадків a і b (див. рис. 1.13) електронні переходи будуть зосереджені в межах чотирикутника $abcd$, а кінцеві стани іона знаходяться на відрізку кривої cd . Для випадку a енергія кінцевого стану є більшою, ніж енергія, що відповідає нескінченній віддалі між ядрами. З цієї причини утворений молекулярний іон розпадається на атом A та іон B^- , а їхня повна кінетична енергія буде знаходитись у межах від E_3 до E_4 . Випадок b допускає можливість реалізації кінцевих станів, енергії яких менші від енергії, що відповідає нескінченній віддалі між ядрами. При

цьому дисоціація проходить лише тоді, коли енергія бомбардуючого електрона знаходиться в межах від E_1 до E_3 , а повна кінетична енергія A і B^- знаходиться від 0 до E_5 . Захоплення електрона з енергією від E_1 до E_2 приводить до утворення іона у збудженому коливному стані. Стабільність цього іона буде визначатися можливими механізмами передачі набутої ним енергії. У випадку їх відсутності утворений іон розпадеться на нейтральну молекулу і електрон. Набута іоном енергія може бути передана у вигляді випромінювання або третій частинці у процесі її зіткнення з іоном. Радіаційний перехід між коливними рівнями відноситься до повільного процесу, і тому ним, як правило, нехтують. Зіткнення є швидким процесом, але його ймовірність стає помітною лише при достатній концентрації третіх частинок.

У випадку v відбувається захоплення електрона з енергією, близькою до E_6 . При цьому утворюється іон AB^- у збудженому стані, який розпадається, якщо тільки не відбудеться його стабілізація в зіткненні з третьою частинкою.

Розглянемо зараз детальніше систему електрон + молекула, утворену в результаті тимчасового захоплення електрону потенціалом певного стану молекули. Таке захоплення проходить у вузьких областях енергій бомбардуючого електрона, тому енергетична залежність перерізу має вигляд вузьких піків (резонансів). З таких міркувань резонанс можна представити як квазістаціонарний стан з часом життя, більшим, ніж час прольоту електроном відстані порядку молекулярних розмірів. Згідно з квантовою механікою, негативний іон можна розглядати як систему, що має ряд квантових станів. Як зазначалося вище, молекулярний негативний іон буде нестабільним. Можливі канали його розпаду такі: канал пружного розсіяння; канал дисоціативного захоплення електрона; канал непружного розсіяння. Стан молекули, при якому відбувається захоплення електрона, називають «материнським». Енергія резонансу дорівнює різниці енергії «материнського» стану молекули і енергії зв'язку захопленого електрона.

За природою зв'язку молекули та захопленого нею електрона розрізняють такі види резонансів [54]: резонанс форми; електронно-збуджений резонанс Фешбаха; коливально-збуджений резонанс Фешбаха.

У випадку резонансу форми електрон захоплюється потенціальною ямою, обмеженою бар'єром, який формується доцентровим відштовхувальним потенціалом. Цей вид резонансу реалізується, якщо момент імпульсу руху електрона відносно молекули відмінний від нуля. Для резонансів форми «материнськими» можуть бути як основний, так і збуджені молекулярні стани. При цьому стан негативного іона енергетично розташований вище «материнського» стану. З цієї причини резонанс форми називають резонансом відкритого каналу розсіяння електронів. Даний резонанс розпадається внаслідок тунелювання захопленого електрону через потенціальний бар'єр.

Електронно-збуджений резонанс Фешбаха утворюється так. Налітаючий електрон збуджує електронний стан молекули і при цьому відбувається його захоплення. Енергетично стан негативного іону знаходиться нижче «материнського», тому розпад іона є неможливим до тих пір, поки молекула знаходиться у збудженому стані. Цей резонанс ще називають закритим резонансом у перерізі утворення негативного іону. Розпад даного резонансу відбувається внаслідок зв'язку закритих і відкритих каналів. Резонанси Фешбаха мають більший час життя і, відповідно, малу ширину.

Коліально-збуджений резонанс Фешбаха утворюється, якщо відбувається захоплення бомбардуючого електрону на коліально-збуджені рівні основного стану молекули. При цьому кінетична енергія електрона прямо переходить в коліальну енергію ядер. Час життя такого резонансного стану є досить великим ($>10^{-6}$ с.).

Визначення конфігурацій і термів короткоживучих станів негативних іонів можливе за наявності теоретичних розрахунків, що відтворюють енергетичне положення, ширину і форму резонансних особливостей у перерізах утворення іонів. Деяку інформацію про стан негативних іонів також можна отримати із загальних закономірностей теорії розсіяння та із спектроскопічних даних, порівнюючи спектри негативних іонів та їх ізоелектронних систем.

У процесі біполярної іонізації молекула під дією електронного удару може перейти у збуджений електронний стан, який дисоціює на іони X і Y^+ . Останні

можуть знаходитися в основному або збудженому станах. Відмінність цього процесу утворення негативних іонів від процесу, викликаного захопленням, полягає в тому, що ймовірності його перебігу по-різному залежать від енергій налітаючих електронів. Процес із захопленням електрона може відбутися лише у вузькому інтервалі енергій порядку долей і одиниць eV , а енергетична залежність перерізу процесу біполярної іонізації у багатьох випадках подібна до енергетичної залежності перерізу процесу електронного збудження [55].

1.4.3. Ефективні перерізи утворення іонів.

Реакції (1.8) – (1.11), що відображають процеси утворення іонів різного складу, зарядового чи енергетичного стану, проходять з різною вірогідністю. Приводимо визначення такої вірогідності в аналітичному виді [53,55].

Розглянемо пучок моноенергетичних бомбардуючих частинок густиною J_0 част/м²с, які рухаючись паралельними траєкторіями вздовж осі x , проходять через середовище, яке містить n нерухомих частинок-мішеней в м³. При цьому деяка частина бомбардуючих частинок зазнає зіткнення з мішенями і буде розсіяна. Внаслідок таких зіткнень густина потоку бомбардуючих частинок при його проходженні відстані від x до $x + dx$ зменшиться на величину dJ , яка буде рівна:

$$dJ = - J_x n \sigma dx, \quad (1.12)$$

де dJ – зміна густини потоку бомбардуючих частинок на відстані від x до $x + dx$; J_x – густина потоку бомбардуючих частинок у точці x ; n – число мішеней в одиниці об'єму (концентрація мішеней); σ – коефіцієнт пропорційності, фізичний зміст якого розкритий нижче [4]. Для густини потоку бомбардуючих частинок після його проходження шляху l у середовищі мішеней отримаємо:

$$J = J_0 \exp(-n\sigma l), \quad (1.13)$$

де J_0 – густина потоку бомбардуючих частинок на вході в середовище мішеней [4]. Таким чином, загальне зменшення густини потоку бомбардуючих частинок за рахунок зіткнень ΔJ визначиться виразом:

$$\Delta J = J_0 (1 - \exp(-n \sigma l)). \quad (1.14)$$

Очевидно, що величина ΔJ рівна потоку розсіяних бомбардуючих частинок на шляху l в межах тілесного кута 4π . Поряд з цим, ΔJ також буде рівна і загальному числу мішеней, які зазнали зіткнення за одиницю часу. При достатньо малих значеннях n (умова "тонкої мішені"), коли довжина вільного пробігу електронів у середовищі мішеней набагато більша від l , вираз (1.7) можна представити у більш простому і зручному вигляді:

$$\Delta J = J_0 n \sigma l. \quad (1.15)$$

Фізичний зміст "тонкої мішені" полягає в тому, що бомбардуюча частинка з помітною ймовірністю взаємодіятиме з мішенню лише один раз. З цієї причини умову "тонкої мішені" часто називають умовою **однократності зіткнень**. Величина σ у виразі (1.15) дорівнює

$$\sigma = \Delta J / J_0 n l, \quad (1.16)$$

має розмірність площі і має зміст мікроскопічного **ефективного перерізу** зіткнення бомбардуючої частинки з мішенню. Визначений, таким чином переріз зіткнення є інтегральною величиною так як враховує всі можливі процеси зіткнення – як пружні, так і непружні. Таким чином,

$$\sigma = \sigma_s + \sum_i \sigma_i, \quad (1.17)$$

де σ_i – ефективний переріз i -го непружного процесу; σ_s – ефективний переріз пружного процесу.

Повертаючись до реакції (1.8), зазначимо, що вона буде визначатися ефективним перерізом формування іону із позитивним зарядом n , а реакція (1.9) – ефективним перерізом утворення однозарядного фрагмента, або ефективним перерізом дисоціативної іонізації, реакція (1.10) – ефективним перерізом утворення негативного молекулярного іона, реакція (1.11) – ефективним перерізом біполярної іонізації. У випадку позитивних іонів σ_i часто називають ефективним перерізом іонізації. За частого використання в межах одного документу, фізична термінологія дозволяє термін «ефективний переріз» замінювати терміном «переріз».

Переріз утворення іонів насамперед залежить від енергії електронів, що бомбардують мішень. Енергетичну залежність перерізу іонізації також називають **функцією іонізації**. Аналогічно до вищенаведеного енергетичну залежність перерізу збудження називають **функцією збудження**.

1.4.4. Огляд досліджень іонізації молекул нуклеїнових кислот

Одними з перших (в історичному плані) експериментів з вивчення фізичних властивостей молекулярних компонентів нуклеїнових кислот були роботи харківських дослідників [28, 71, 75, 77, 80-82, 112, 211, 245-252]. Методом польової мас-спектрометрії [28, 120-122] досліджено взаємодії азотистих основ у вакуумі. На основі отриманих даних були визначені потенціали іонізації основ, побудовано термодинамічний ряд відносної стабільності наношарових асоціатів молекул, а також запропоновано механізми утворення асоціатів. Започатковано цикл експериментів [247, 248], присвячений актуальній проблемі – фізичним властивостям системи ДНК-вода та впливу іонного складу середовища на конформацію біополімерів. Важливі результати отримані авторами робіт [249–252], у яких вперше показана можливість досліджень заморожених розчинів

основ нуклеїнових кислот за допомогою низькотемпературної мас-спектрометрії з бомбардуванням швидкими атомами.

Прикладом успішних експериментів із вивчення процесів фотоіонізації пуринових і піримідинових сполук є робота [253]. Класичним і найбільш цитованим залишається дослідження [254].

Дослідження особливостей іонізації нуклеотидних основ у газовому стані при взаємодії з повільними електронами розпочались роботами ужгородських біофізиків [27, 29, 114]. Електричним методом були досліджені енергетичні залежності перерізів іонізації, проаналізовані порогові ефекти функцій іонізації, отримані мас-спектри біомолекул з іонізацією електронним ударом [27, 95, 96, 98]. Розробка і застосування нових прецизійних методик дали змогу в наступних експериментах [100, 103-108, 115] визначити абсолютні перерізи утворення позитивних і негативних іонів важливих біомолекул.

З кінця 90-х років до цієї важливої наукової тематики долучились кілька груп дослідників. Це, насамперед, лабораторії П.Баррова (США), Є.Ілленбергера (Німеччина), О.Санче (Канада) і Т.Мерка (Австрія) [255-270].

У роботі Баррова і співавторів [255] трансмісійним методом були виміряні перші похідні функції струму пучка електронів, що пройшли газову комірку (похідні трансмісійного струму) з молекулярними мішенями (нуклеотидні основи) в залежності від енергії електронів. На енергетичних залежностях цих похідних були виявлені особливості (див. рис. 1.14), природа яких зумовлена, на думку авторів роботи, утворенням негативних іонів при зіткненні цих молекул з електронами. Деякі з цих негативних іонів з великим часом життя були зареєстровані в подальших експериментах.

Автори дослідження [256], яке було виконане мас-спектрометричним методом з використанням техніки пучків електронів і молекул, що перетинаються, повідомили про резонансний характер утворення негативних молекулярних іонів тиміну та цитозину. Резонанси були виявлені при енергіях бомбардуючих електронів 1,42 еВ (для цитозину) та 0,18 еВ (для тиміну).

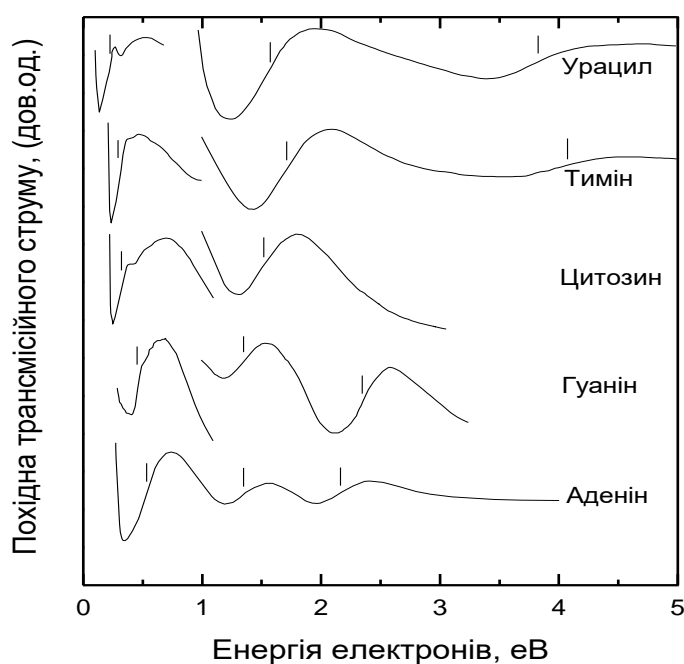


Рис. 1.14. Залежність похідних трансмісійного струму від енергії електронів [255]. Вертикальними стрілками вказані енергетичні положення станів негативних іонів нуклеотидних основ урацилу, тиміну, цитозину, гуаніну, аденіну.

Згідно з оцінкою авторів, ефективні перерізи утворення цих іонів є дуже великими. Для тиміну, зокрема, переріз може перевищувати величину 10^{-14} см². Слід зазначити, що у більш пізніх роботах [257–264] такі результати досліджень, як молекулярна маса утворених іонів, енергетичне положення резонансів, величина ефективного перерізу утворення іонів, були суттєво відкоректовані. Так, в роботі [259] були досліджені процеси утворення негативних іонів тиміну (*T*), та 5-бромурацилу (*BrU*) після зіткнення їх з електронами низьких енергій (0 – 2 eV). Високомонохроматичний електронний пучок ($\Delta E_{1/2}=0,05$ eV), що генерувався двома електростатичними напівсферичними електронними монохроматорами в тандемі, під прямим кутом взаємодіяв з пучком досліджуваних молекул. Молекулярний пучок генерувався шляхом нагрівання зразків у нагрівнику Кнудсенового типу до 150°C, і через капіляр діаметром 1 мм пари молекул потрапляли безпосередньо в область зіткнень. Іони, утворені в

результаті зіткнень електронів та молекул, витягувалися з області взаємодій слабким потенціалом і аналізувалися за допомогою чутливого часопротітного мас-спектрометра. Автори переконливо показали, що резонанс в утворенні негативних іонів тиміну має місце при енергії 1,01 еВ, а резонансні піки поблизу нульової енергії відсутні взагалі. Разом з цим, у роботі не спостерігалися негативні молекулярні іони тиміну. Натомість було встановлено, що резонансний пік при 1,01 еВ відповідає негативному фрагменту молекули тиміну з молярною масою 125 одиниць. У свою чергу, це свідчить про те, що у процесі утворення негативного іону молекула тиміну втрачає один атом водню, тим самим продукуючи рухливий радикал водню і фрагмент негативного іону тиміну $(T-H)^-$.

У роботі [263] були досліджені процеси утворення негативних іонів урацилу, тиміну та цитозину. Зокрема, повідомлялося, що максимальні абсолютні величини перерізів утворення цих іонів становлять: $\sigma_{max} = 3,0 \cdot 10^{-16} \text{см}^2$ (для урацилу, при енергії 1,0 еВ); $\sigma_{max} = 3,0 \cdot 10^{-15} \text{см}^2$ (для тиміну, при енергії 1,05 еВ); $\sigma_{max} = 2,3 \cdot 10^{-16} \text{см}^2$ (для цитозину, при енергії 1,54 еВ). Зауважимо, що в цій роботі концентрація молекул експериментальним шляхом не визначалася.

Авторами роботи [269] був вимірний відносний вихід негативних іонів нуклеотидних основ тиміну, аденіну, цитозину та гуаніну в діапазоні енергій бомбардуючих електронів від 0,1 еВ до 3 еВ. При цьому автори встановили, що такий вихід має резонансний характер, а енергетичне положення резонансів становить 1,0 еВ, 1,15 еВ, 1,54 еВ, 1,7 еВ для тиміну, аденіну, цитозину, гуаніну, відповідно. Важливим результатом є те, що при вказаних енергіях продукуються негативні фрагменти молекул тиміну $(T-H)^-$, аденіну $(A-H)^-$, цитозину $(C-H)^-$, гуаніну $(G-H)^-$. Абсолютні величини перерізів утворення негативних іонів у цій роботі не визначалися.

Утворення негативних іонів урацилу вивчалось в роботах [264, 266]. Автори, використовуючи техніку та методику пучків електронів та молекул, що перетинаються, яка була апробована раніше, показали, що електрони при енергіях, нижчих від порогу електронного збудження (< 3 еВ), ефективно

руйнують молекулу урацилу (U) з утворенням атома водню та фрагменту негативного іона урацилу ($U-H$). У цьому дослідженні була проведена спроба встановити абсолютну величину перерізу утворення негативних іонів урацилу ($U-H$) шляхом порівняння з перерізом утворення негативних іонів молекули SF_6 . Результат такого порівняння показав, що величина перерізу утворення фрагмента ($U-H$) у максимумі (енергія електронів ~ 1 еВ) становить $\sim 3 \cdot 10^{-16}$ см². Однак, згодом ця величина перерізу, як і методика його визначення, були піддані сумніву, і за даними авторів роботи максимальна величина перерізу утворення негативного фрагмента ($U-H$) становить $2,5 \cdot 10^{-17}$ см² (див. рис. 1.15), що майже у 10 разів менше величини, що вказана у роботі [130].

У дослідженні [257] також вивчалися процеси утворення позитивно заряджених молекулярних іонів урацилу та його фрагментів в області енергій бомбардуючих електронів від порогів процесів до 1000 еВ. Експеримент був виконаний методом пучків електронів та молекул, що перетинаються, з наступним мас-спектрометричним аналізом утворених іонів. Були визначені повний та, відповідно, і парціальні перерізи іонізації молекул урацилу. Зауважмо, що абсолютна величина повного перерізу іонізації молекули урацилу у цьому експерименті не визначалася. Натомість, автори [266] пронормували експериментальні відносні величини перерізів іонізації на теоретично розраховані перерізи іонізації. У теоретичному підході було використано наближення напівкласичного формалізму Дойча-Мерка [267, 268]. Отримані результати приведені на рис. 1.16 та рис. 1.17. Переріз іонізації вихідної молекули має найбільше значення $\sim 4,4 \cdot 10^{-16}$ см² (при енергії 100 еВ), тоді як два іонні фрагменти мають максимальний переріз утворення $\sim 2,2 \cdot 10^{-16}$ см² при більш високій енергії взаємодії.

На рис. 1.18 показаний, згідно з роботою [266], мас-спектр позитивних іонів урацилу, утворених при бомбардуванні електронами енергією 120 еВ. Найбільші піки належать молекулярному іону $C_4H_4N_2O_2^+$ і двом іонним фрагментам $C_3H_3NO^+$ та OCN^+ .

У дослідженні [263] ставилося завдання визначити повні та парціальні перерізи утворення позитивних і негативних іонів у зіткненнях електронів з молекулами тиміну, цитозину та аденіну. Процес іонізації вивчався за умов, коли молекулярні мішені готувалися методом комірки, а моноенергетичний пучок електронів ($\Delta E_{1/2} = 0,1 - 0,15$ eV) генерувався трохоїдальним електронним монохроматором.

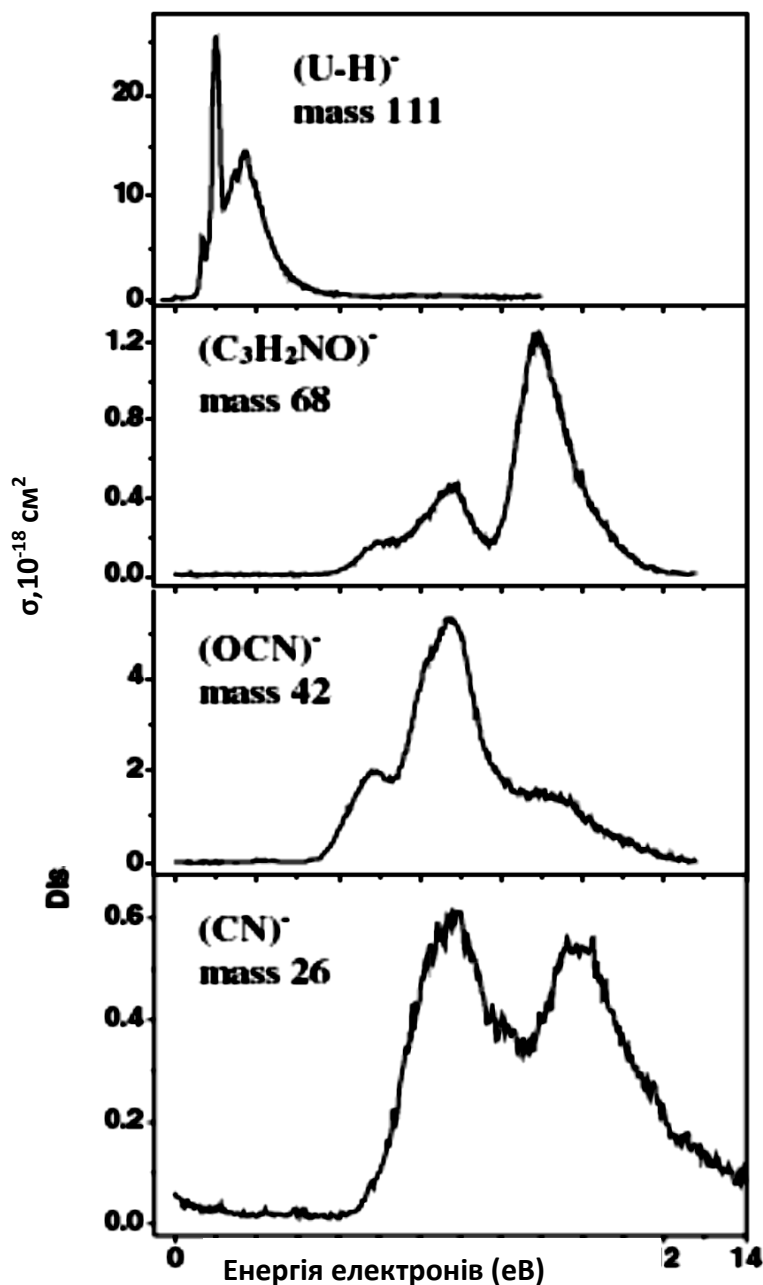


Рис. 1.15. Парціальні перерізи утворення негативних іонів молекули урацилу [266].

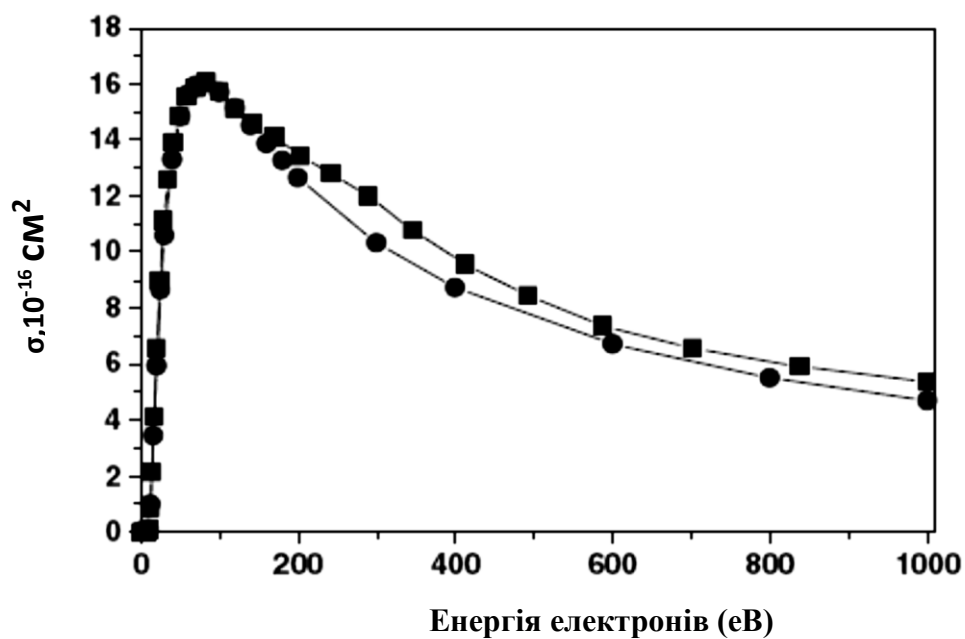


Рис. 1.16. Енергетична залежність повного перерізу іонізації молекул урацилу від енергії електронів [266]:

- - розрахунок в наближенні Дойч-Мерка;
- – дані есперименту, пронормовані на розрахунковий переріз у наближенні напівкласичного формалізма Дойча-Мерка.

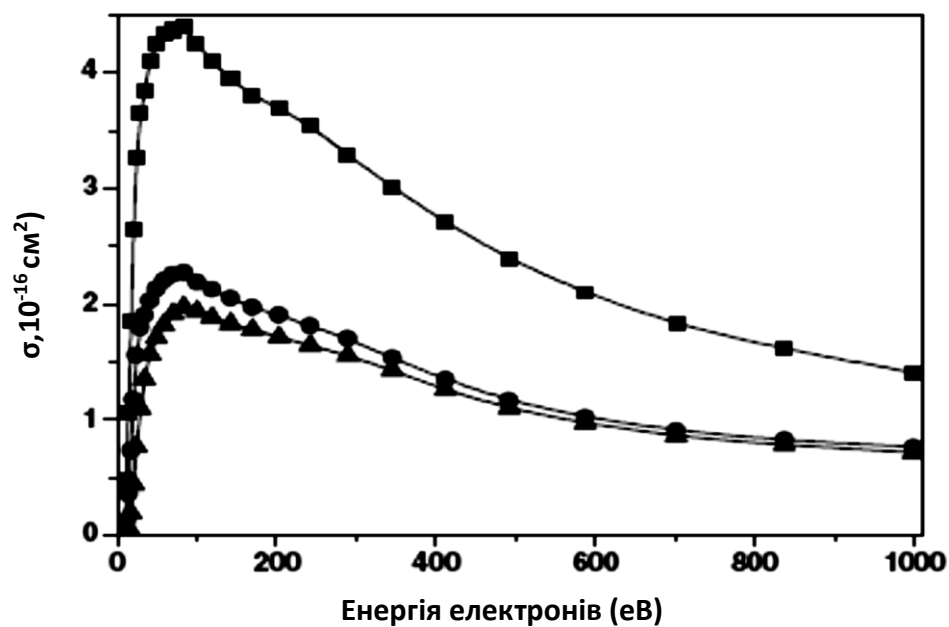


Рис. 1.17. Перерізи утворення позитивних іонів урацилу [266]:

- – молекулярний іон; ● –фрагмент $C_3H_2NO^+$;
- ▲ –фрагмент OCN^+ .

Автори цього дослідження абсолютну величину повного перерізу формування позитивних іонів (σ^+) визначали шляхом нормування експериментальних даних на розрахунковий переріз повної іонізації. При цьому було використане теоретичне наближення, побудоване на ідеях Бете. Слід зауважити, що дане квантово-механічне наближення для малих енергій вважається грубим.

Для знаходження абсолютної величини перерізу утворення негативних іонів (σ^-) автори [269] спочатку експериментально визначали відношення відносних величин перерізів утворення позитивних і негативних іонів – $(\sigma^+)/(\sigma^-)$, з якого за відомим (σ^+) розраховували шукане (σ^-). Отримані у роботі [269] результати приведені в таблиці 1.2 і порівнюються з даними авторів інших досліджень.

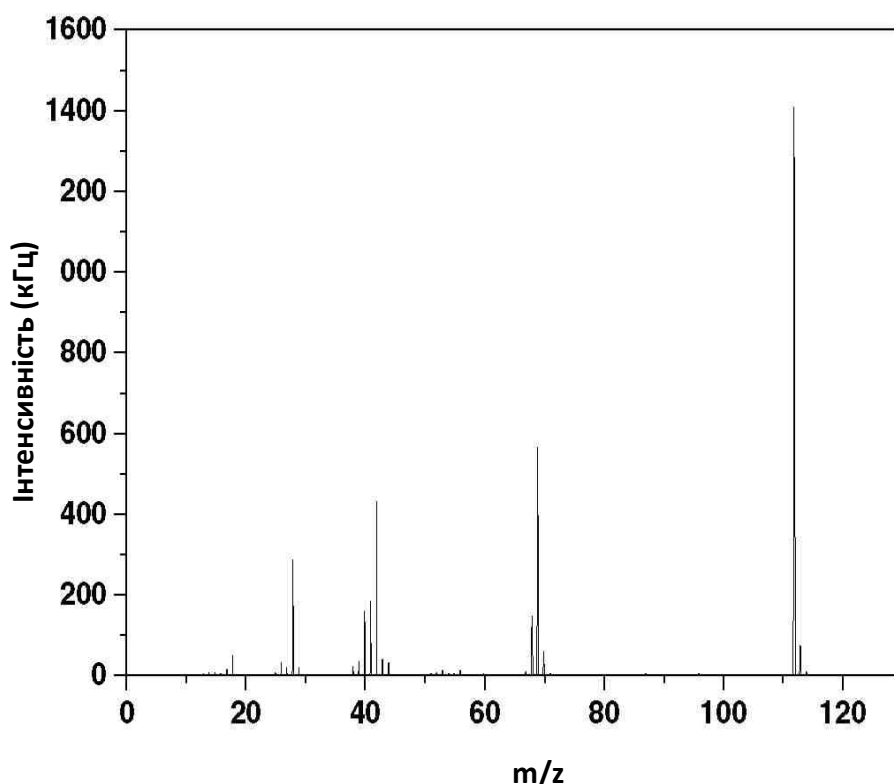


Рис. 1.18. Мас-спектр позитивних іонів урацилу, утворених при бомбардуванні електронами енергією 120 еВ. Найбільші піки ($m/z = 112$; $m/z = 69$; $m/z = 42$) належать іону $C_4H_4N_2O_2^+$ і двом фрагментам $C_3H_3NO^+$ та OCN^+ [266].

Як свідчить аналіз таблиці 1.2, має місце надзвичайно великий розкид даних різних авторів про перерізи іонізації, який виходить далеко за межі похибок сучасного експерименту. Тому слід говорити про наявність низки фізичних факторів, які не були взяті до уваги авторами робіт [255–269]. Зокрема, ми вважаємо неприпустимо високими температури (428 К – 473 К) приготування молекулярних мішеней. За таких температур уже спостерігається фрагментація молекул основ нуклеїнових кислот, про що свідчать наші експерименти. Придатність існуючих теоретичних методів для розрахунку перерізів іонізації, за умови відсутності надійних експериментальних даних, залишається сумнівною.

Таблиця 1.2

Абсолютні величини перерізів утворення негативних іонів тиміну, цитозину та урацилу.

Літературне джерело		[256]	[263]	[264]	[269]	[266]
Переріз, см ²	тимін	$\sim 10^{-14}$	$1,2 \cdot 10^{-15}$		$4,7 \cdot 10^{-19}$	
	цитозин		$2,3 \cdot 10^{-16}$		$2,2 \cdot 10^{-19}$	
	урацил			$3 \cdot 10^{-16}$		$2,6 \cdot 10^{-17}$
Енергія резонансу, еВ	тимін	0,18	1,02		1,01	
	цитозин	1,4	1,51		1,54	
	урацил			~ 1		~ 1

Таким чином, аналіз даних з літературних джерел свідчить про те, що внаслідок низькоенергетичних взаємодій електронів з молекулами нуклеотидних основ нуклеїнових кислот достатньо ефективно відбуваються процеси формування позитивних молекулярних іонів, позитивно і негативно заряджених фрагментів зазначених молекул. Поруч з цим, безпосереднє вивчення

іонізаційних процесів знаходиться на початковому етапі, на що вказує і незначна кількість виконаних досліджень.

Спостерігається надзвичайно великий розкид даних (за величиною в декілька порядків), що були отриманими різними авторами, з абсолютних значень величин перерізів формування негативних іонів, який далеко виходить за межі похибок сучасного експерименту. Згаданий стан, насамперед, спричинений відсутністю надійних експериментальних методик визначення перерізів іонізації, а також недостатньою увагою до фізичних умов проведення самих експериментальних досліджень. Придатність наявних теоретичних методів для розрахунку перерізів іонізації, за умови відсутності надійних експериментальних даних, залишається повністю невідомою. Також неоднозначною залишається ідентифікація мас-спектрів та іонних фрагментів, що утворюються внаслідок іонізаційних процесів.

Необхідною є постановка новітніх експериментальних досліджень непружних взаємодій електронів з молекулами азотистих основ нуклеїнових кислот, в яких величини перерізів утворення позитивних і негативних іонів встановлювались би виключно на основі експериментально визначених величинах. Найбільш перспективним методом для таких досліджень є метод молекулярного та електронного пучків, що перетинаються.

1.5 Огляд результатів досліджень піримідинових основ отриманих методом пучків, що перетинаються.

1.5.1. Енергетичні залежності перерізів утворення позитивних іонів піримідинових основ

Для визначення ефективних перерізів утворення іонних фрагментів авторам [29,103,104,105,106,108,145,146] необхідно було виконати виміри абсолютних величин повних ефективних перерізів іонізації молекул піримідинових основ.

У результаті виконаних експериментів вперше були встановлені абсолютні значення величин перерізів іонізації та їх функції іонізації (енергетичні залежності) для молекул піримідинових основ цитозину, тиміну, урацилу в діапазоні енергій електронів від величини порогу до 200 еВ. Отримані дані зображені на графіках (рис. 4.9 – 4.11), де по осі ординат відкладений переріз іонізації в см^2 , а по осі абсцис – енергію іонізуючих електронів у електрон-вольтах (еВ). [29,145,146]

Як видно із рис. 1.19 – 1.21, функції іонізації молекул нуклеотидних основ після припорогового росту були досить пологими із недостатньо вираженими особливостями та із широкими максимумами в інтервалі від 73 до 95 еВ. Зокрема: максимальне значення перерізу іонізації цитозину спостерігалось за енергії 78 еВ і дорівнювало $(7,8 \pm 0,8) \cdot 10^{-16} \text{ см}^2$; для тиміну максимум величини перерізу іонізації становив $(1,4 \pm 0,15) \cdot 10^{-15} \text{ см}^2$ та досягався за енергії 90 еВ; максимальне значення перерізу іонізації урацилу наступало за енергії 95 еВ і складало $(1,0 \pm 0,1) \cdot 10^{-15} \text{ см}^2$. Визначена величина порогу утворення позитивних іонів для цитозину складала $9,0 \pm 0,2 \text{ еВ}$, для тиміну – $9,2 \pm 0,2 \text{ еВ}$, а для урацилу – $9,4 \pm 0,2 \text{ еВ}$, що досить непогано узгоджувалося з даними, отриманими іншими методами. Автори зазначали, що максимальні значення перерізів іонізації для цитозину, тиміну та урацилу та відповідні величини пороги процесів зміщувалися в область вищих енергій. Величини абсолютних значень перерізів іонізації були близькими за величиною в межах похибок.

Перерізи формування позитивних іонів, які були визначені в роботі, вважаються повними перерізами, тобто включають в себе перерізи утворення іонів як вихідних «материнських» молекул (перерізи утворення молекулярних іонів), так і їх уламків (так звані парціальні перерізи). На кривих іонізації була помітною структура у вигляді зломів, яка вірогідно обумовлена внесками від процесів утворення молекулярних іонів у збуджених станах та процесів дисоціативної іонізації. Підставою для такого твердження служать результати дослідження [274], в якому виявлено ефективне утворення збуджених

електронним ударом молекулярних іонів тиміну, а також значні перерізи дисоціативної іонізації досліджуваних молекул (рис. 1.20).

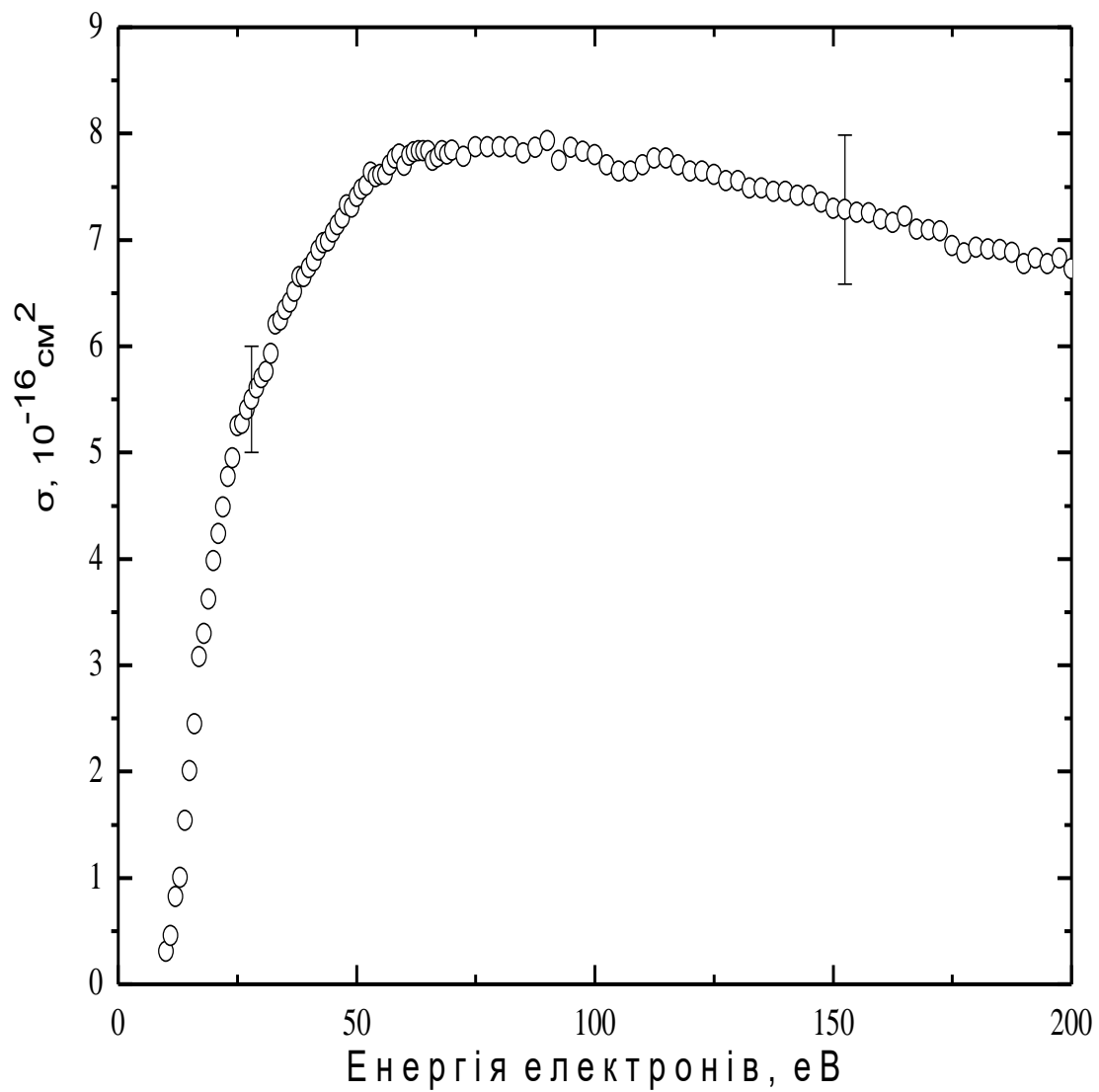


Рис. 1.19. Енергетична залежність повного перерізу формування позитивних іонів цитозину [29].

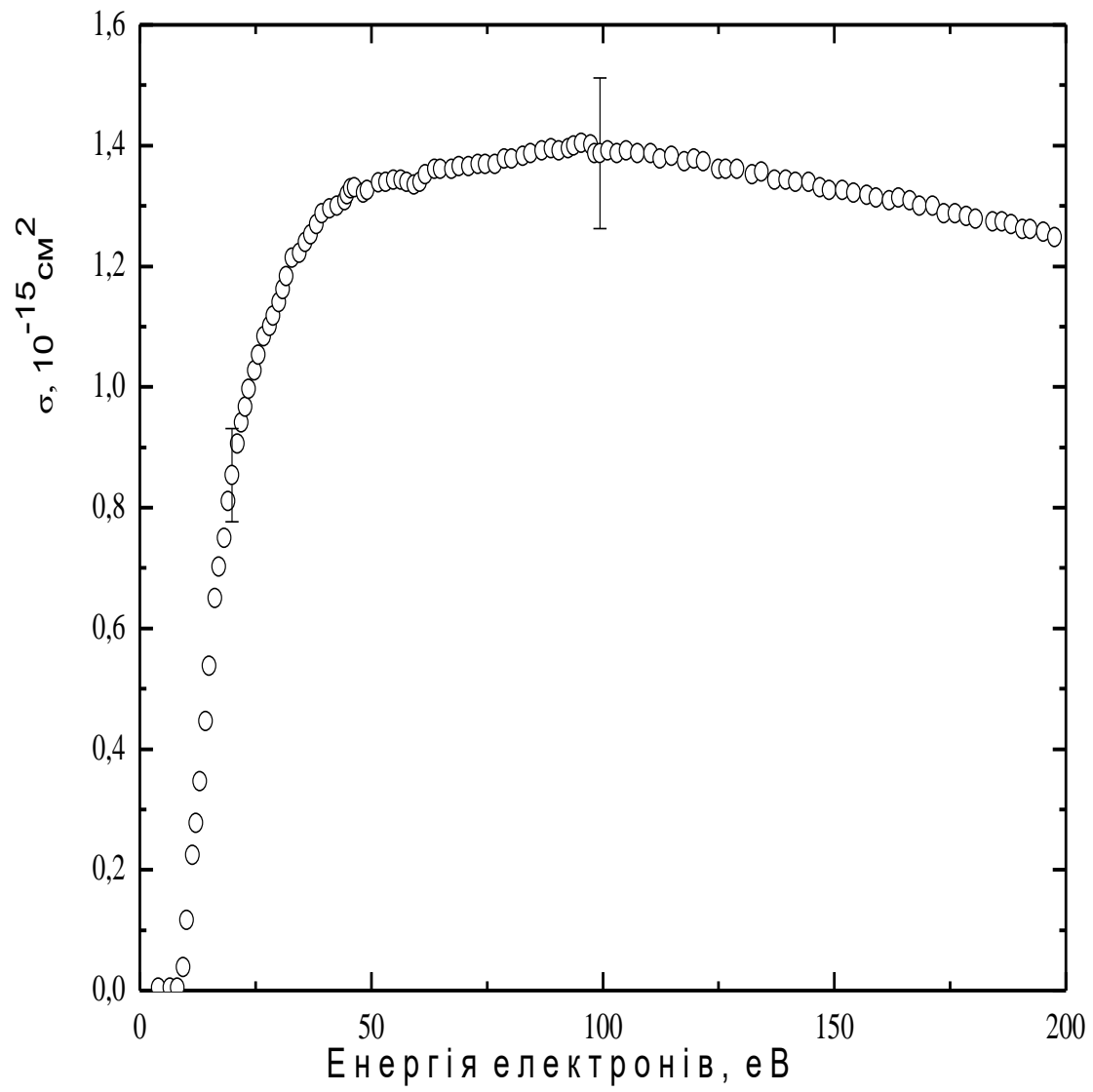


Рис. 1.20. Енергетична залежність повного перерізу формування позитивних іонів тиміну [146].

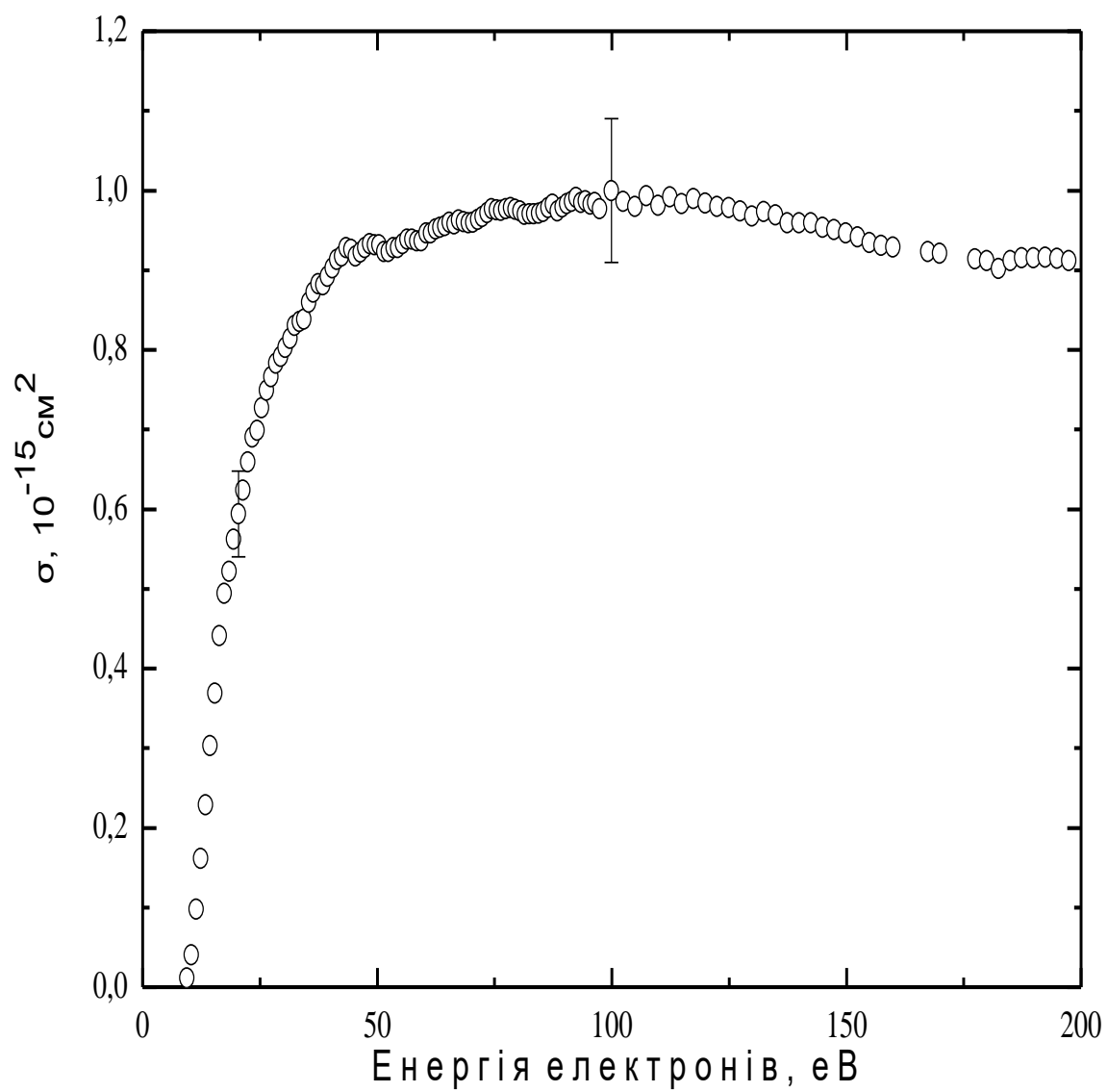


Рис. 1.21. Енергетична залежність повного перерізу формування позитивних іонів урацилу.

1.5.2. Мас-спектри та схеми фрагментації молекул піримідинових основ

Результати мас-спектрометричних вимірювань досліджуваних об'єктів (фрагментного складу) піримідинових основ нуклеїнових кислот за енергії бомбардуючих електронів в 95 еВ були отримані авторами [29, 145, 146] та наведені на рис. 1.22 – 1.24, де на осі абсцис відкладено відношення маси іона до його заряду в системі атомних одиниць маси, а на осі ординат, відповідно, струм утворених іонів у довільних одиницях. Спільною рисою приведених на рисунках мас-спектрів піримідинових основ є: наявність найбільш інтенсивних ліній, що відповідають однозарядним молекулярним іонам (лінії: $m/z = 111$ – для цитозину, $m/z = 126$ – для тиміну, $m/z = 112$ – для урацилу); присутність великої кількості ліній різної інтенсивності, що відносяться до новоутворених іонних уламків; відсутність мас-спектральних ліній, що відповідали б двозарядним молекулярним іонам, а також іонам димерних та тримерних молекулярних сполук. Ідентифікація ліній у мас-спектрах проводилася шляхом встановлення їх відповідності масам можливих фрагментів (рис. 1.22 – 1.24), а також, виходячи із можливих схем фрагментації. При цьому були враховані відомі положення та закономірності мас-спектрометрії складних молекул [56,277,278,279], а також дані про енергії зв'язків та розподіл густини зарядів у піримідинових основах [78,118].

Особливої уваги заслуговує порівняння отриманих мас-спектрів з результатами досліджень інших авторів. Таке порівняння автори [2, 106] приводять для урацилу, поскільки і для цитозину, і для тиміну фізична картина є подібною. У таблиці 1.3 наведені відносні інтенсивності найбільш інтенсивних мас-спектральних ліній урацилу, які взяті з різних джерел [157,158,266]. При цьому автори дослідження [2, 106] зазначають, що енергії бомбардуючих електронів (E), при яких були зняті мас-спектри, дещо відрізнялися. Однак, це неістотно впливало на відносні інтенсивності приведених мас-спектральних ліній, поскільки енергетичні залежності парціальних перерізів іонізації в області 75 – 120 еВ були подібними (див. п. 3.4).

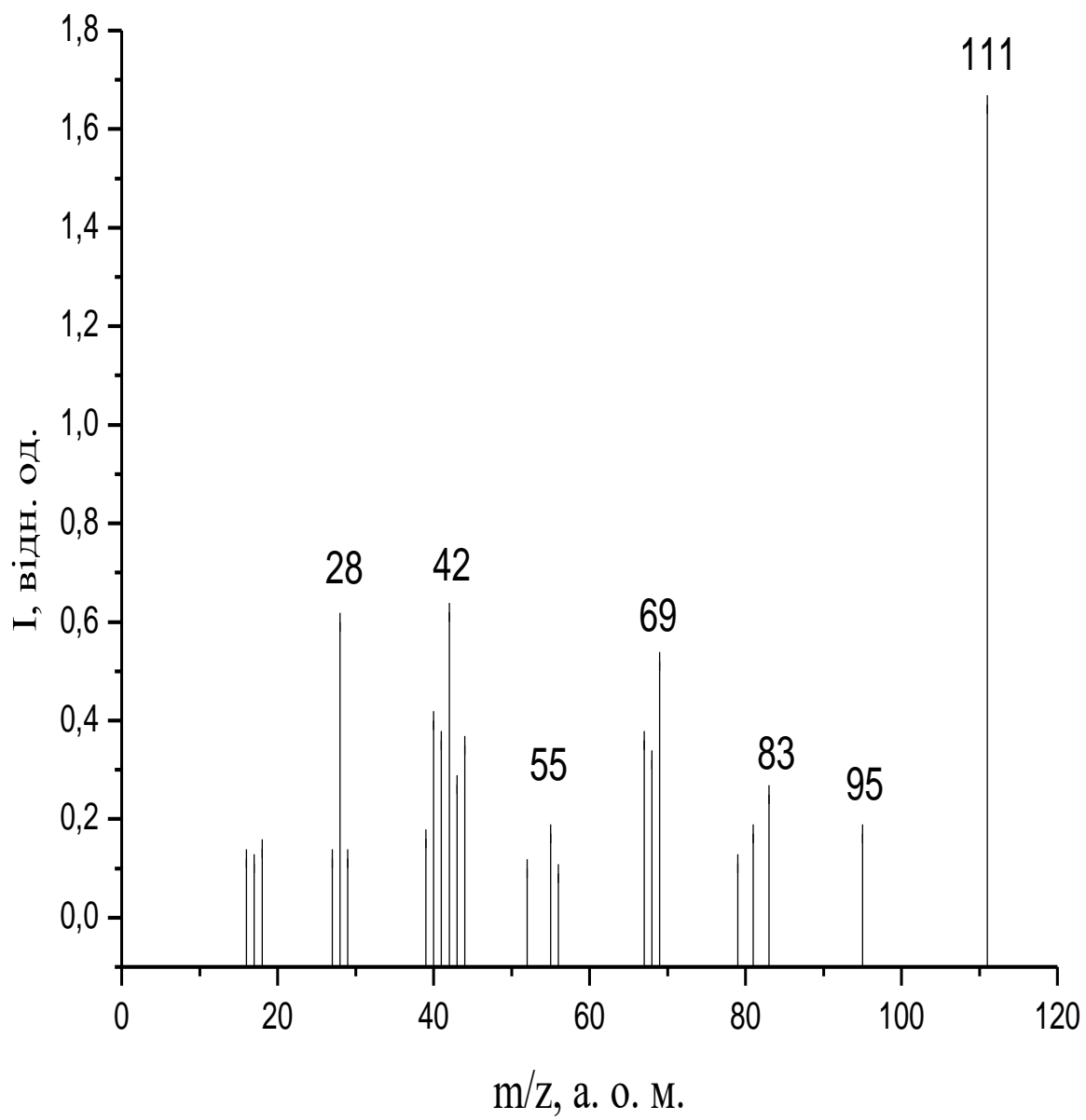


Рис. 1.22. Мас-спектр молекул цитозину

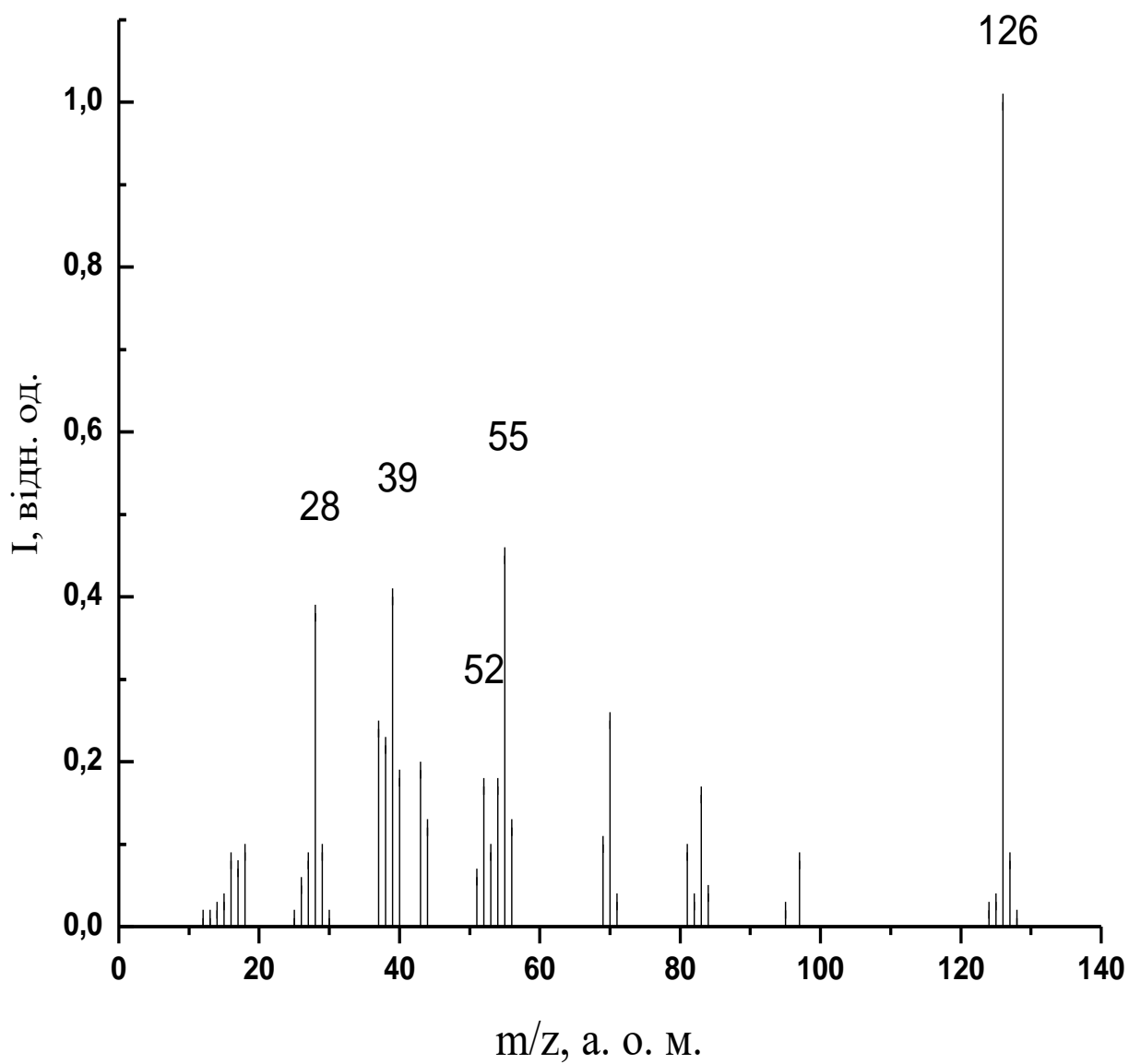


Рис. 1.23. Мас-спектр молекул тиміну

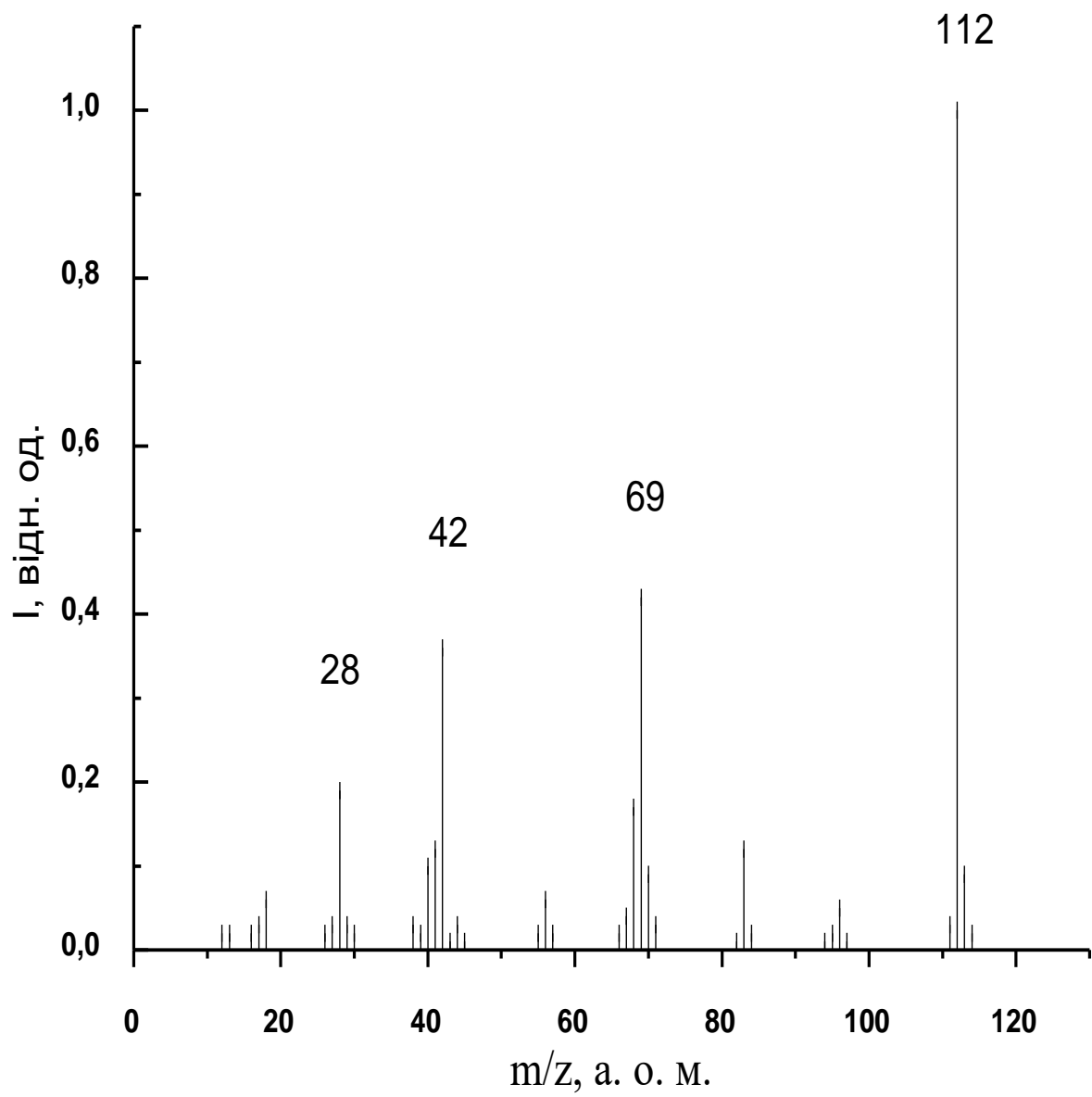


Рис. 1.24. Мас-спектр молекул урацилу

Таблиця 1.3.

Відносні інтенсивності мас-спектральних ліній урацилу

m/z а. о. м.	Іони	Інтенсивність, відносні од.			
		[158] E=75	[157] E=75 eV	[266] E=120eV	[2] E=95 eV
112	$C_4H_4N_2O_2^+$	1	1	1	1
69	$C_3H_3NO^+$	0,52	0,8	0,4	0,42
42	$CNO^+; C_2H_2O^+; CH_2N_2^+$	0,44	1,3	0,3	0,37
41	$CHN_2^+; C_2H_3N^+$	0,26	0,56	0,13	0,13
40	$C_2H_2N^+; CN_2^+$	0,28	0,7	0,11	0,11
28	CO^+	0,26	1	0,19	0,2

Із таблиці 1.3 випливає, що результати досліджень [2], в межах похибок вимірів, співпадають з результатами [266] і значно відрізняються від даних [157]. Проміжні місця займають дані роботи [158]. Пояснення таким фактам бачилися в тому, що температури робочої речовини (для отримання газової фази урацилу) у дослідженнях [2] і в роботах [157,158] помітно відрізнялися. Так, температура робочої речовини становила: у дослідженні [2] та у роботі [266] ~ 380 К, у роботі [157] – 473 К, у роботі [158] – 423 К. У п. 2.6 даної роботи буде зроблений висновок про те, що, починаючи з температур 410 К (для урацилу) і 420 К (для цитозину і тиміну), в молекулах проходить термічна фрагментація. Зокрема, її прояв спостерігається у зменшенні відносних інтенсивностей мас-спектральних ліній, які відповідають молекулярним іонам. Якраз це і характерно для результатів досліджень [157,158].

Багатоатомні молекули, на відміну від двоатомних молекул (див. п. 1.3), слід розглядати за допомогою поверхонь потенціальної енергії. Для частинок, здатних виконувати різні типи коливань, кожному типу буде відповідати своя поверхня потенціальної енергії. У випадку перетину поверхонь виникає можливість безрадіаційного перерозподілу енергії.

За енергій іонізуючих електронів, які перевищують енергію іонізації молекули, вірогідним є утворення іона в електронно-збудженому стані. Дисипація енергії цього стану, в основному, проходить двома шляхами – радіаційним, зі зміною електронної конфігурації, або безрадіаційним за рахунок перетинання потенціальних поверхонь. Таким чином, збуджений іон може перейти в основний стан з надлишком коливальної енергії. Водночас при перетині потенціальних поверхонь перехід іону в основний стан не являється єдино можливим. Якщо енергія збудженого стану даного іону є достатньою для його розпаду, то з'являється можливість його фрагментації із зазначеного стану.

Згідно класичних схем фрагментації [56,277,278,279], що побудовані на основі мас-спектрометричних досліджень складних молекулярних структур, під дією електронного удару у молекулі відбувається двоелектронний перехід. Внаслідок цього утворюються збуджені позитивно заряджені молекулярні іони (так звані «материнські» іони), які мають великий надлишок енергії. У подальшому «материнські» іони розпадаються, продукуючи при цьому заряджені та нейтральні фрагменти. Процес розпаду може відбуватися у декількох напрямках, і до того часу, поки внутрішня енергія зарядженого фрагменту буде достатньою для подальшої фрагментації.

Вірогідно класичні схеми фрагментації слід доповнити альтернативним механізмом утворення заряджених фрагментів, суть якого полягає у наступному. Спочатку бомбардуючий електрон ініціює у молекулі одночасне збудження двох електронів, в результаті якого утворюється високозбуджений молекулярний стан з енергією, більшою за енергію іонізації молекули (так званий автоіонізаційний стан – АІС). Ймовірність такого двоелектронного збудження в молекулі може бути дуже високою, про що свідчать експериментальні та теоретичні дані, отримані для атомних систем [283,284,285]. У подальшому автоіонізаційні стани молекули, як правило, розпадаються з утворенням молекулярного іону або зарядженого чи нейтрального фрагменту. Альтернативний механізм утворення заряджених фрагментів, за логікою, найбільш ймовірний при енергіях, не надто більших за енергію іонізації молекули.

Фрагменти молекулярних іонів піримідинових основ, які відповідають найбільш інтенсивним лініям на мас-спектрах, у авторів досліджень [2, 104, 108, 145] зображені на рис. 1.25 – 1.27. В їх випадках схеми фрагментації та їх напрямки були представлені наступним чином:

1) молекулярні іони втрачаючи нейтральний фрагмент $HNCO$ (43 атом. од.) утворюють заряджені фрагменти $C_3H_4N_2^+$ ($m/z = 68$) у випадку цитозину), $C_4H_5NO^+$ ($m/z = 83$) у випадку тиміну) та $C_3H_3NO^+$ ($m/z = 69$ у прикладі урацилу), про що свідчать інтенсивні лінії у відповідних мас-спектрах. Особливістю цитозину є те, що його молекулярний іон з помітною вірогідністю може втратити радикал NCO ($m/z = 44$), утворюючи при цьому заряджений фрагмент $C_3H_5N_2^+$ ($m/z = 69$). У мас-спектрі цитозину відповідна лінія є інтенсивною. У подальшому новоутворені іони тиміну та урацилу втрачають уламок CO і продукують іони $C_3H_5N^+$ ($m/z = 55$) у випадку тиміну), $C_2H_3^+ N$ ($m/z = 41$) у прикладі урацилу), а втрата фрагментів CHN або CN у випадку цитозину приводить до появи позитивно заряджених іонів $C_2H_3N^+$ ($m/z = 41$) або $C_2H_2N^+$ ($m/z = 42$).

2) молекулярні іони, втрачаючи нейтральні фрагменти $C_3H_5N_2$ (у випадку цитозину), C_4H_6NO (у прикладі тиміну), C_3H_3NO (у випадку урацилу), утворюють нестійкий заряджений фрагмент $CHNO^+$, який при втраті атома водню переходить у стабільний іон CNO^+ ($m/z = 42$ атом. од.). Відповідна лінія є інтенсивною в усіх приведених спектрах.

3) цитозин і тимін подібні наявністю у них бокових груп – аміної (у випадку цитозину) та метильної (у випадку тиміну). Іони цих груп в спектрах є слабо вираженими. Натомість інтенсивні лінії $m/z = 42$ (для цитозину) та $m/z = 55$ (для тиміну) автори [2, 104, 108, 145] трактували як іонні фрагменти $CH_2N_2^+$ і $C_3H_3O^+$ відповідно для цитозину і тиміну, які включають амінну та метильну групи.

4) присутність інтенсивної лінії при $m/z = 28$ у мас-спектрах усіх об'єктів пояснювали процесом розпаду автоінізаційних станів досліджуваних молекул з формуванням іонів CO та нейтральних залишків.

5) Наявність слабоінтенсивних ліній на приведених мас-спектрах в околі інтенсивних ліній можна інтерпретувати як прояв ізотопного складу іонів, а також відщепленням атомів водню від іонів під час їх фрагментації.

Наведені схеми авторам [2, 104, 108, 145] уявлялися найбільш ймовірними, однак вони не виключали перебіг фрагментації також і за іншими схемами.

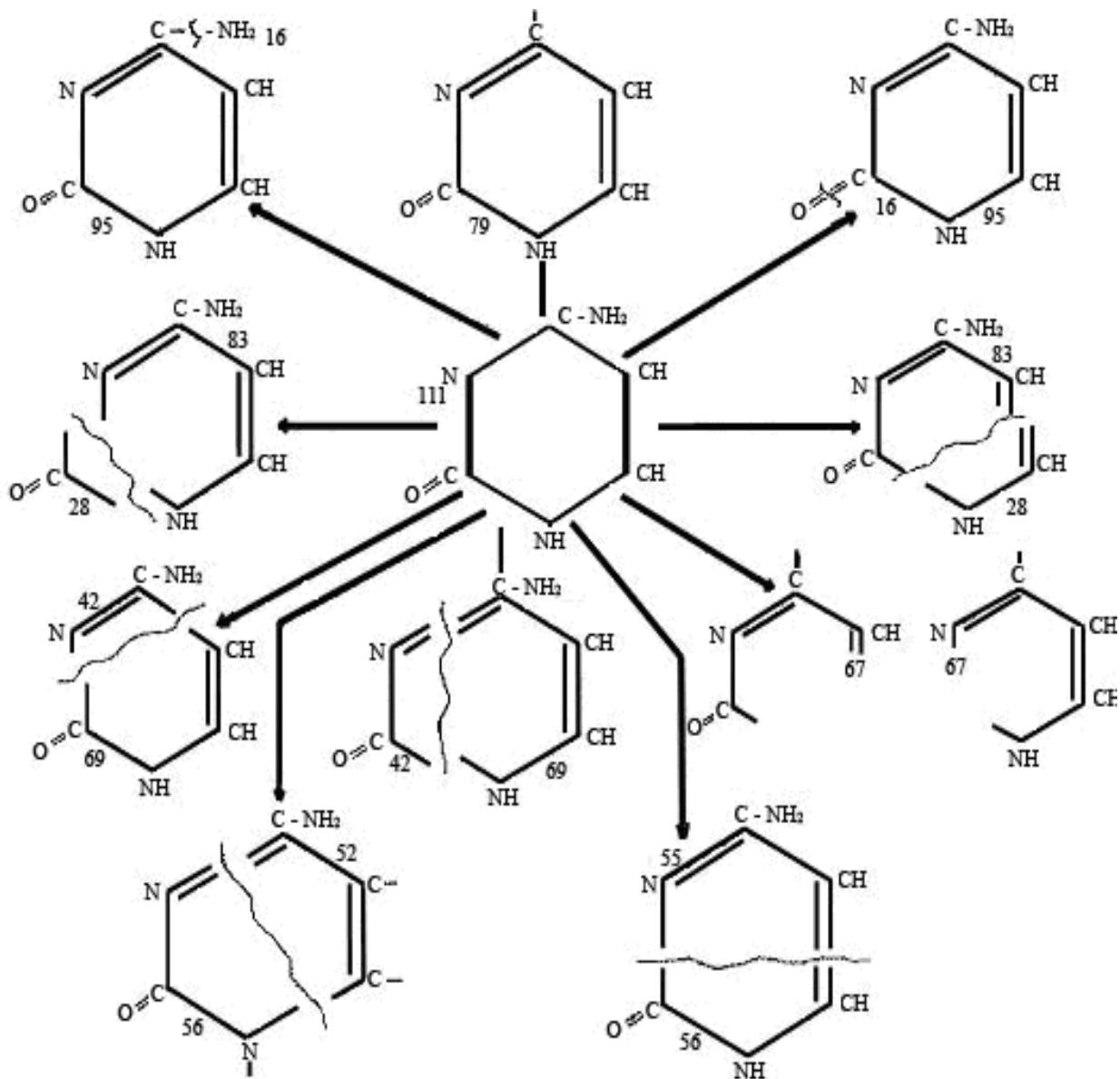


Рис. 1.25. Фрагменти дисоціації молекули цитозину.

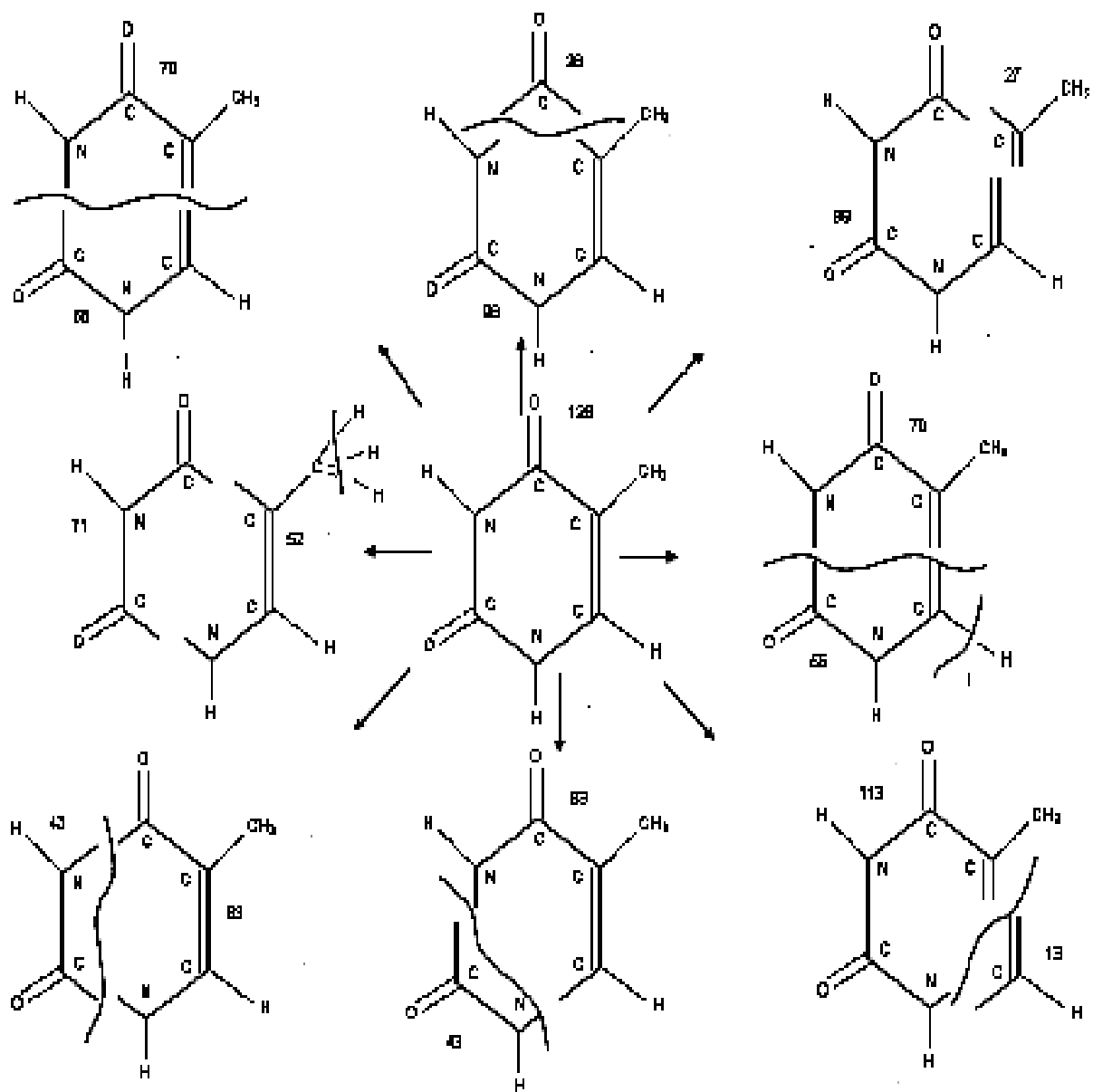


Рис. 1.26. Фрагменти дисоціації молекули тиміну.

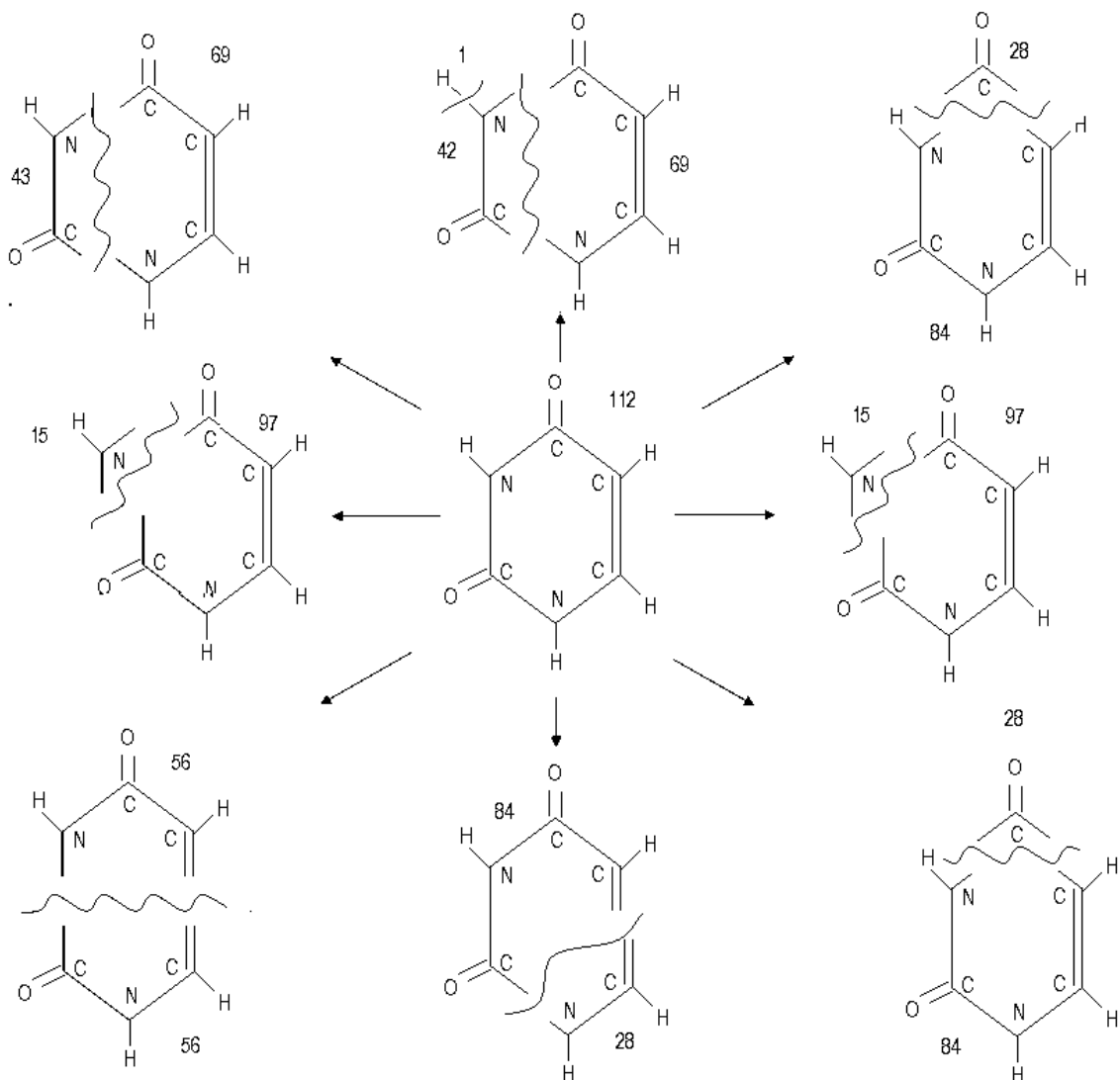


Рис. 1.27. Фрагменти дисоціації молекули урацилу.

1.5.3. Парціальні перерізи утворення позитивних іонів піримідинових основ

Одержані дані про величини повних перерізів іонізації молекул піримідинових основ азотистих кислот та їх мас-спектри надали можливість автору [145] визначити парціальні перерізи формування іонів найбільш вірогідних фрагментів згаданих молекул за енергії іонізуючих електронів в 95 еВ. Відповідні результати є приведеними у таблицях 1.4 – 1.6, де на осі абсцис

відкладено m/z – маса молекулярного фрагменту в системі атомних одиниць маси, а на осі ординат, відповідно, σ – величини перерізів утворення іонних фрагментів молекул. Абсолютні значення величин парціальних перерізів іонізації визначалися шляхом їх нормування на абсолютні значення величин повних перерізів іонізації наступним способом. Вочевидь, що сумарний струм утворених іонів буде рівним

$$i_{\Sigma} = i_1 + i_2 + \dots + i_n, \quad (1.18)$$

де i_{Σ} – сумарний іонний струм, i_n – струм іонів деякого фрагменту. З іншого боку:

$$i_{\Sigma} = i_e n \sigma_{\Sigma} l, \quad (1.19)$$

$$i_n = i_e n \sigma_n l, \quad (1.20)$$

де i_e – сила струму іонізуючих електронів, n – концентрація молекул в місті перетинання пучків електронів і молекул, l – шлях електронів у пучку молекул, σ_{Σ} і σ_n – повний і парціальний перерізи іонізації, відповідно [4]. Отже, із вищевказаного випливає наступне:

$$\sigma_n = \sigma_{\Sigma} i_n / i_{\Sigma}. \quad (1.21)$$

Враховуючи, що іонний струм пропорційний площі мас-спектрометричного піку у мас-спектрі, для парціального перерізу, що підлягає знаходженню шуканого:

$$\sigma_n = \sigma_{\Sigma} S_n / \sum S_i, \quad (1.22)$$

де S_n – площа n -го піка у мас-спектрі, $\sum S_i$ – сумарна площа усіх піків у мас-спектрі.

Детальний аналіз таблиць 1.4 – 1.6 та відповідних мас-спектрів показав, що формування молекулярних іонів є переважаючим процесом (перерізи становлять за порядком величини 10^{-16} см²), що демонструє достатню стійкість досліджуваних основ нуклеїнових кислот до електронного удару. Зазначений факт є надзвичайно важливим для таких складних молекул як цитозин, тимін, урацил, аденін та гуанін оскільки найбільший парціальний переріз іонізації

відповідає утворенню молекулярного іона. Багато складних молекул не мають стійких молекулярних іонів [230,260,261].

Найбільші величини перерізів утворення іонних фрагментів молекул піримідинових основ характерні для груп: $C_3H_4N_2^+$, $C_4H_5NO^+$, $C_3H_3NO^+$, $C_3H_5N^+$, $C_2H_3N^+$, $C_2H_3N^+$, $C_2H_2N^+$, $CH_2N_2^+$, $C_3H_3O^+$, CO^+ , CNO^+ . Проявляються також іони піримідинового кільця. Більшість іонних фрагментів молекул характеризуються значно меншими величинами перерізів утворення $\sim (10^{-17} - 10^{-18}) \text{ см}^2$. Для найбільш інтенсивних та добре розділених мас-спектральних ліній були визначені енергетичні залежності перерізів утворення іонних фрагментів (рис. 1.28 – 1.30). Як свідчать наведені дані [145], функції іонізації молекулярних іонів, в загальних рисах, а саме в контексті порогів іонізації та енергій максимальних значень, схожі до енергетичних залежностей повних перерізів іонізації (рис. 1.19 – 1.21). Натомість, пороги утворення заряджених фрагментів молекул та положення максимумів зсуваються в область більш високих енергій. Зокрема, пороги формування іонних фрагментів цитозину ($C_3H_5N_2^+$, $m/z = 69$), тиміну ($C_4H_5NO^+$, $m/z = 83$), урацилу ($C_3H_3NO^+$, $m/z = 69$) становлять, відповідно: $10,8 \pm 0,2 \text{ eV}$; $11,1 \pm 0,2 \text{ eV}$; $11,2 \pm 0,2 \text{ eV}$.

Водночас з дослідженнями, представленими у роботі [145], вивчення процесів утворення позитивних іонів урацилу проводилися авторами роботи [266]. Приведений в таблиці 1.7 порівняльний аналіз даних, вказаних у роботі та в джерелі [266], свідчить, що результат авторів [266] завищений. Але необхідно пам'ятати, що результати експерименту [266] були пронормовані на дані теоретичних розрахунків, проведених в рамках напівкласичного формалізму Дойча-Мерка [267,268], в основі якого знаходиться наближення Бете [286,296]. Отже, і таблиця 1.7 відображає рівень узгодженості результатів даної роботи та розрахункових даних. Як відомо [286–289], наближення Бете дає завищені значення величин перерізів зіткнень в діапазоні малих енергій.

Таблиця 1.4.

Абсолютні величини перерізів формування позитивних іонів цитозину та фрагментів за енергії електронів 95 еВ.

m/z, а.о.м.	σ , 10^{-16} см ²	Позитивні іони цитозину
111	1,65	$C_4H_5N_3O^+$
95	0,17	$C_4H_3N_2O^+$; $C_4H_5N_3^+$
83	0,25	$C_3H_3N_2O^+$; $C_3H_5N_3^+$
81	0,17	$C_3H_3N_3^+$
79	0,11	$C_4H_3N_2^+$
69	0,52	$C_3H_5N_2^+$
68	0,32	$C_3H_4N_2^+$
67	0,36	C_3HNO^+ ; $C_3H_3N_2^+$
56	0,09	$C_2H_2NO^+$; CN_2O^+
55	0,17	$C_2H_3N_2^+$
52	0,10	$C_3H_2N^+$
44	0,35	CH_2NO^+
43	0,27	$CHNO^+$
42	0,62	$CH_2N_2^+$; CNO^+
41	0,36	CHN_2^+ ; $C_2H_3N^+$
40	0,40	$C_2H_2N^+$
39	0,16	C_2HN^+
29	0,12	COH^+
28	0,60	CO^+ ; CH_2N^+
27	0,12	CHN^+
18	0,14	H_2O^+
17	0,11	OH^+
16	0,12	O^+ ; NH_2^+

Таблиця 1.5.

Абсолютні величини перерізів формування позитивних іонів тиміну та фрагментів за енергії електронів 95 еВ.

m/z, а.о.м.	σ , 10^{-16} см ²	Позитивні іони тиміну
126	2,5	$C_5H_6N_2O_2^+$
83	0,4	$C_4H_5NO^+$; $C_3H_3N_2O^+$
81	0,23	$C_4H_3NO^+$
70	0,63	$C_2NO_2^+$; $C_3H_4NO^+$
69	0,25	$C_3H_3NO^+$
56	0,3	$C_2H_2NO^+$; HNO^+
55	1,1	$C_2H_3N_2^+$; $C_3H_3O^+$; C_3H_5N ; C_2^+
53	0,23	$C_3H_3N^+$
52	0,43	$C_3H_2N^+$
43	0,33	$CHNO^+$
42	0,5	CNO^+ ; $CN_2H_2^+$
41	0,35	$C_2H_3N^+$; CHN_2^+
40	0,45	$C_3H_4^+$; $C_2NH_2^+$
39	1,0	$C_3H_3^+$; C_2NH^+
38	0,55	$C_3H_2^+$; C_2^+N
37	0,6	C_3H^+
29	0,23	COH^+
28	1,0	CO^+ ; CH_2N^+
27	0,2	$C_2H_3^+$
26	0,13	$C_2H_2^+$
18	0,23	H_2O^+
17	0,17	OH^+
16	0,2	O^+

Таблиця 1.6.

Абсолютні величини перерізів формування позитивних іонів урацилу та фрагментів за енергії електронів 95 еВ.

m/z, а.о.м.	σ , 10^{-16} см ²	Позитивні іони урацилу
112	2,69	$C_4H_4N_2O_2^+$
96	0,14	$C_4H_4N_2O^+$
83	0,34	$C_3H_3N_2O^+$
70	0,28	$C_3H_4NO^+$
69	1,14	$C_3H_3NO^+$
68	0,59	$C_3H_2NO^+$; $C_4H_4O^+$
56	0,18	$C_2H_2NO^+$; $C_3H_4O^+$
42	0,99	CNO^+ ; $C_2H_2O^+$; $CH_2N_2^+$
41	0,34	CHN_2^+ ; $C_2H_3N^+$
40	0,30	$C_2H_2N^+$; CN_2^+
28	0,53	CO^+
18	0,20	H_2O^+

Таблиця 1.7.

Абсолютні величини перерізів формування позитивних іонів урацилу за енергії електронів 95 еВ в одиницях 10^{-16} см².

m/z, а. о. м.	Іони	Дана робота	Виміри [132]
112	$C_4H_4N_2O_2^+$	2.7	4,5
69	$C_3H_3NO^+$	1.1	2,3
42	CNO^+ $C_2H_2O^+$; $CH_2N_2^+$	1.0	2,0
	Сума всіх фрагментів	10	16,2

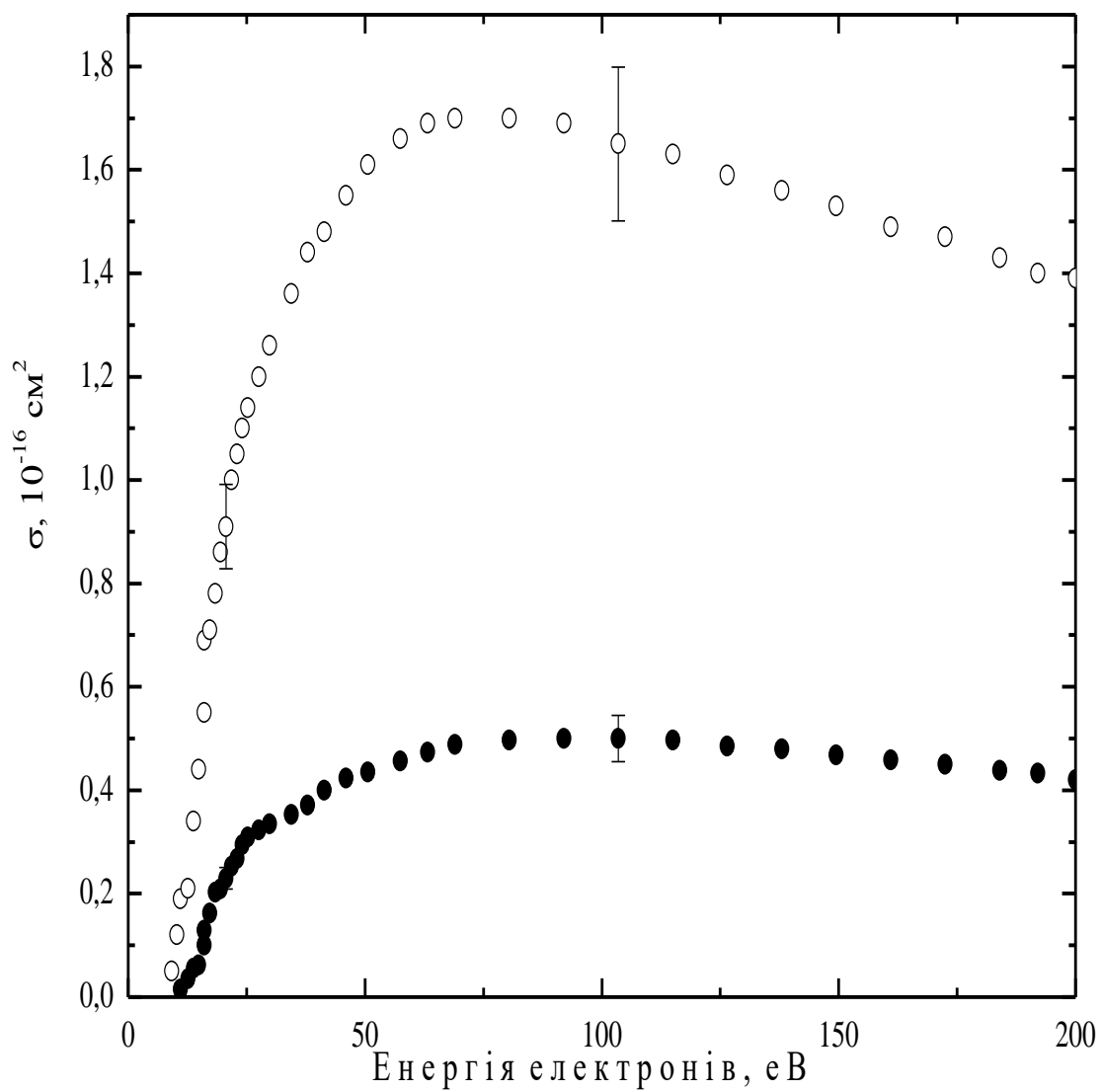


Рис. 1.28. Енергетична залежність абсолютної величини перерізу формування позитивних іонів молекул цитозину:

- – молекулярний іон;
- – іонний фрагмент $C_3H_5N_2^+$ ($m/z = 69$).

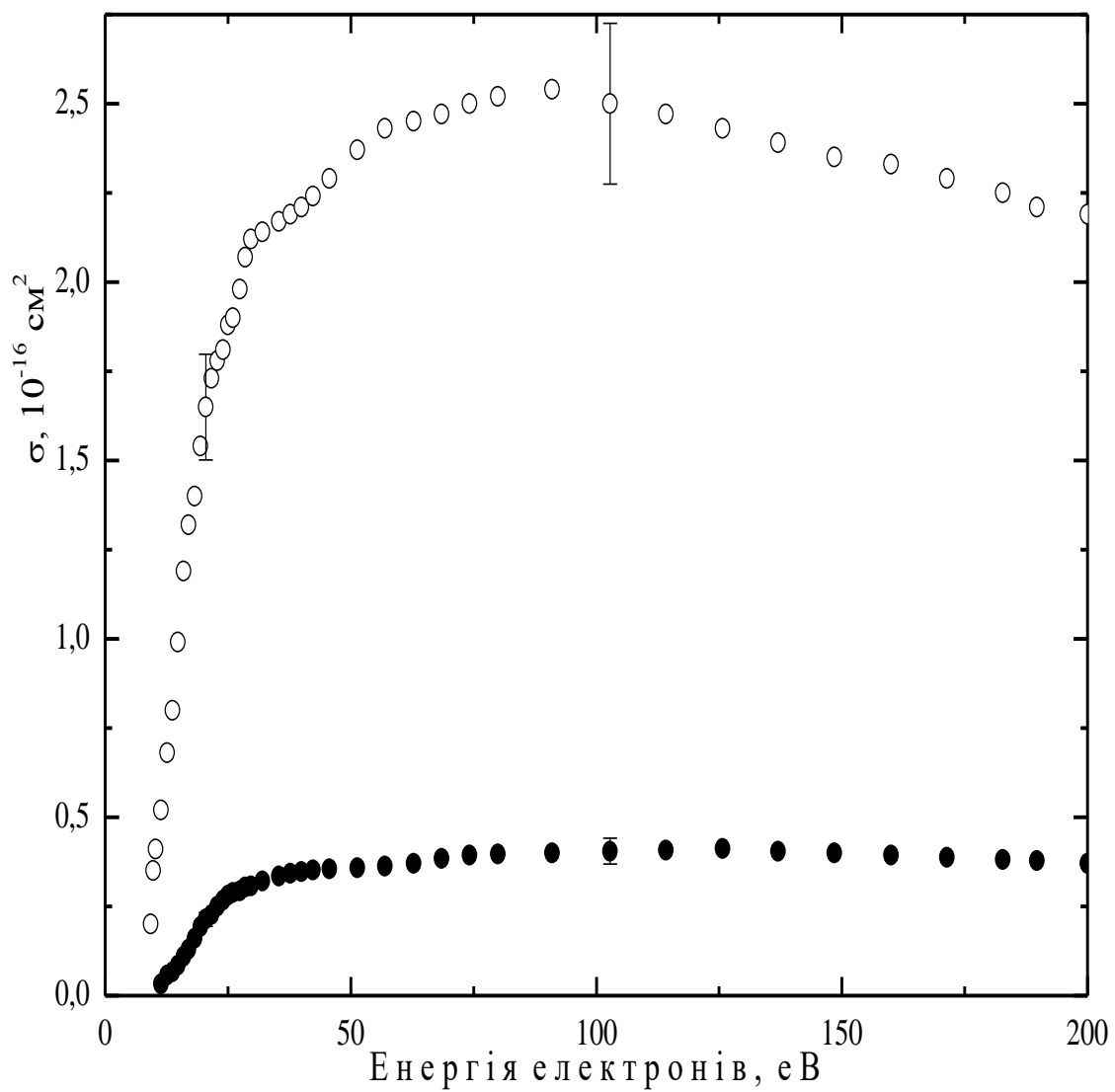


Рис. 1.29. Енергетична залежність абсолютної величини перерізу формування позитивних іонів молекул тиміну:

- – молекулярний іон;
- – іонний фрагмент $C_4H_5NO^+$ ($m/z = 83$).

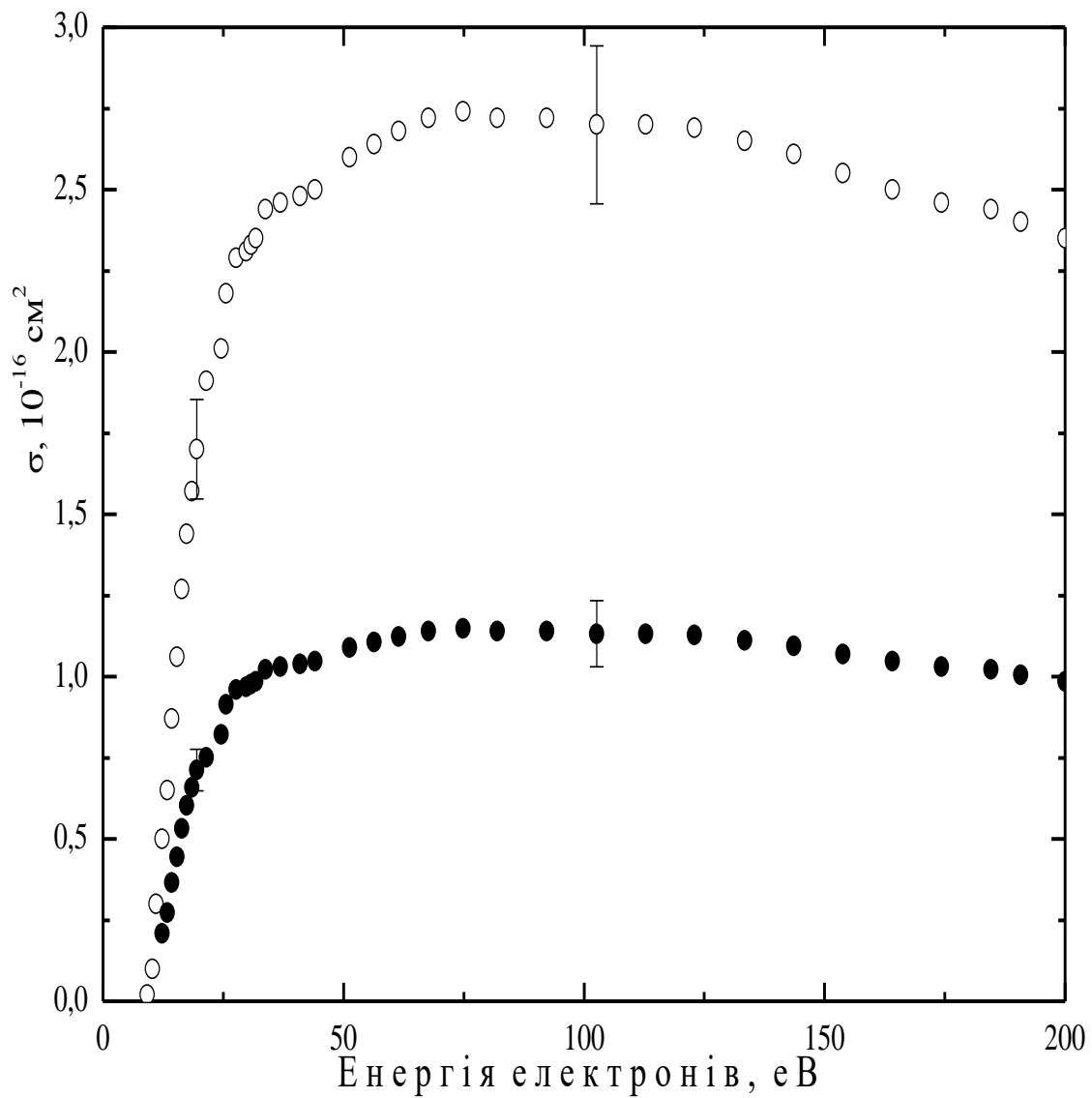


Рис. 1.30. Енергетична залежність абсолютної величини перерізу формування позитивних іонів молекул урацилу:

- – молекулярний іон;
- – іонний фрагмент $C_3H_3NO^+$ ($m/z = 69$).

1.5.4. Процеси утворення негативних іонів піримідинових основ

У роботах [2, 29, 103, 105, 106, 128] вперше експериментальним були чином визначені абсолютні величини перерізів формування негативних іонів та їх функції іонізації (енергетичні залежності) для молекул нуклеотидних основ нуклеїнових кислот у діапазоні енергій іонізуючих електронів від величини порогу до 5 еВ [105, 123, 127, 172, 290]. Отримані авторами [2, 29, 103, 105, 106, 128] результати для піримідинових основ приведені на рис. 1.31 – 1.33. Процеси утворення негативних іонів спостерігалися у дуже вузькій області енергій бомбардуючих електронів, інакше кажучи, мали характер резонансів. Зокрема, ширини резонансних піків на половині їх висоти (так звані півширини) для цитозину, тиміну та урацилу становили відповідно – 0,7 еВ, 0,4 еВ та 0,37 еВ. Максимальне значення перерізу утворення негативних іонів для цитозину наступало за енергії 1,5 еВ, для тиміну – 1,1 еВ, для урацилу – 1,1 еВ. Авторів [2, 29, 103, 105, 106, 128] привернуло до уваги подібність енергетичних залежностей перерізів формування негативних іонів для урацилу та тиміну. Зазначений феномен пояснювали подібністю структурних форм молекул азотистих основ.

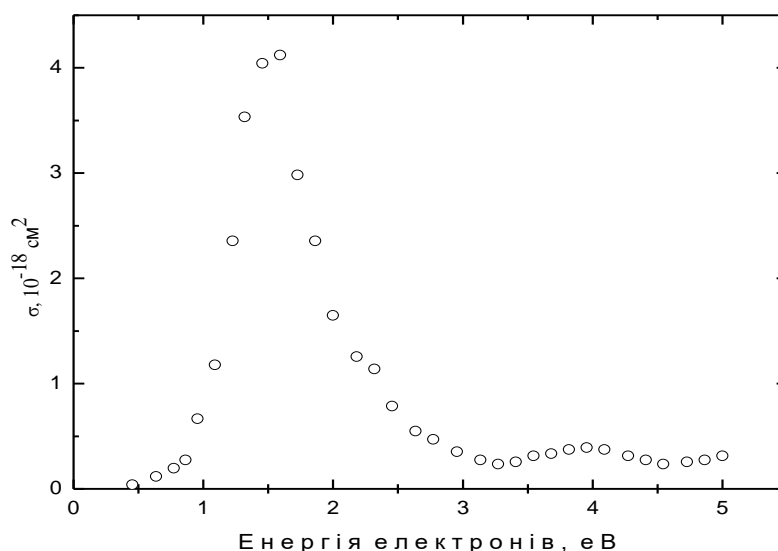


Рис. 1.31. Енергетична залежність абсолютної величини перерізу формування негативних іонів цитозину.

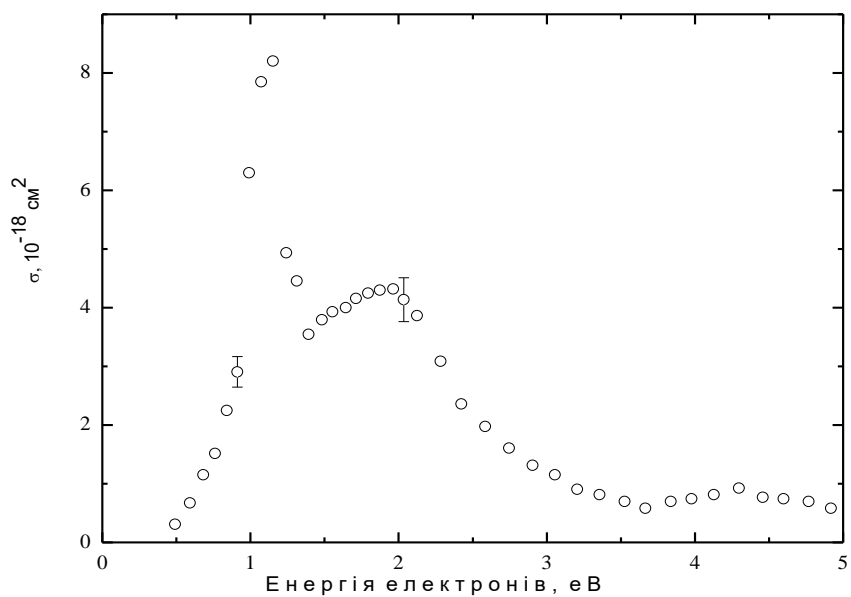


Рис. 1.32. Енергетична залежність абсолютної величини перерізу формування негативних іонів тиміну.

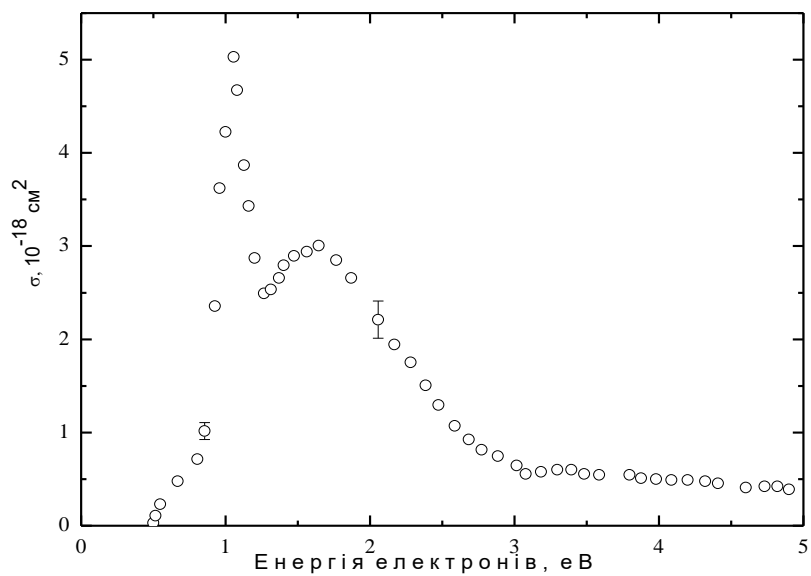
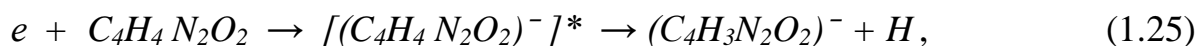
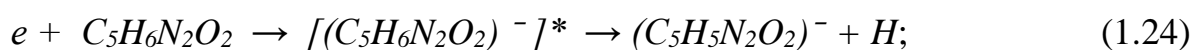
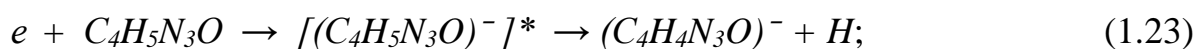


Рис. 1.33. Енергетична залежність абсолютної величини перерізу формування негативних іонів урацилу.

Складний характер приведених залежностей відображав, на їх думку [2, 29, 103, 105, 106, 128], результат накладання резонансів різної природи походження – резонансів форми та коливних фешбахівських резонансів (див. п. 1.4). Що стосувалося фізичної схеми процесу утворення та розпаду негативного молекулярного іону, то поки що однозначного погляду у них не було. Поширена ідея, розкрита в дослідженнях з тиміном та урацилом [257,258], згідно з якою іонізуючий електрон захоплюється нейтральною молекулою і, розміщуючись на відповідній молекулярній орбіталі [49,257,258], формує при цьому певний коливально-збуджений Фешбахівський резонанс (п. 1.4). Така ідея дає можливість інтерпретувати, принаймні для тиміну та урацилу, складний характер резонансної структури (див. рис. 1.32 і рис. 1.33). Разом з тим, відносно широкі півширини головних резонансів, які є більші за енергетичну неоднорідність електронного пучка ($\Delta E_{1/2} = 0,3$ eV), дають їм [2, 29, 103, 105, 106, 128] підставу класифікувати їх як результат впливу резонансів форми (див. п.1.4). Таким чином, в загальних рисах можна представити наступну, більш загальну, схему утворення та розпаду негативного молекулярного іону. Бомбардуючий електрон захоплюється нейтральною молекулою внаслідок дії двох сил – сили притягання та сили відштовхування. Перша обумовлена поляризацією молекули та обмінною взаємодією, а друга – відцентровим відштовхуванням. Внаслідок одночасної дії цих сил утворюється потенціальна яма, яка відділена від суцільного спектру відцентровим бар'єром. Ймовірність тунелювання електрона крізь бар'єр визначає час життя резонансу форми, а відповідно і його енергетичну півширину. Період колювання ядер за порядком величини становить $\geq 10^{-14}$ с. Якщо за цей час електрон не пройде крізь бар'єр (не відбудеться автовідрив), то енергія електронної підсистеми молекули зможе бути передана її коливальній підсистемі, що в свою чергу приведе до формування збудженого Фешбахівського резонансу. Хоча така еволюція резонансу форми була запропонована у роботі [137] для молекули фулерена C_{60} , автори [2] не бачили принципових заперечень щодо її застосування для опису взаємодії електронів з молекулами цитозину, тиміну, урацилу. Додатковим аргументом суттєвого

впливу резонансів форми на формування негативних іонів досліджуваних молекул є надзвичайно великі перерізи ($\sim 10^{-14}$ см²) резонансів форми, виявлені в процесі зіткнень електронів з атомами вуглецю [259]. Останні, як відомо, разом з атомами азоту формують кільцеву структуру молекул нуклеотидних основ нуклеїнових кислот.

Виміряні перерізи у роботах [2, 29, 103, 105, 106, 128] склалися із перерізів формування негативних іонів як вихідних «материнських» молекул, так і їх фрагментів. Поруч з цим, згідно фізичних законів збереження [49], молекулярні іони повинні знаходитися у збуджених станах, які, в свою чергу, з причин своєї нестабільності підлягають розпаду на іонізовані та нейтральні фрагменти (див. п.1.4). При цьому найбільш вірогідними нейтральними фрагментами будуть атоми водню, що володіють найменшими величинами зв'язків у піримідиновому кільці [118]. Отже, процес утворення негативних іонів для молекул цитозину, тиміну, урацилу буде проходити двостадійно згідно наступних схем:



де $[(C_4H_5N_3O)^-]^*$, $[(C_5H_6N_2O_2)^-]^*$, $[(C_4H_4N_2O_2)^-]^*$ – негативно заряджені молекулярні іони молекул цитозину, тиміну, урацилу у збуджених станах, а $(C_4H_4N_3O)^-$, $(C_5H_5N_2O_2)^-$, $(C_4H_3N_2O_2)^-$ – негативно заряджені фрагменти нуклеотидних основ цитозину, тиміну, урацилу, що втратили по одному атому водню.

Вищезазначене автори дослідження [2] переконливо моделювали розрахунками розподілів густин і довжин зв'язків на прикладі молекули та негативного молекулярного іону урацилу (рис. 1.34, рис. 1.35). Розрахунки були ними виконаними напівемпіричним квантовомеханічним методом AM1, який був раніше застосований для складних молекул [238,243]. Цей метод входить в пакет програм HyperChem [293], який являє собою комплексний продукт для

молекулярного моделювання. Зокрема, за допомогою HyperChem можна виконати розрахунки енергії системи і її рівноважної геометрії методом молекулярної механіки, квантової хімії, молекулярної динаміки.

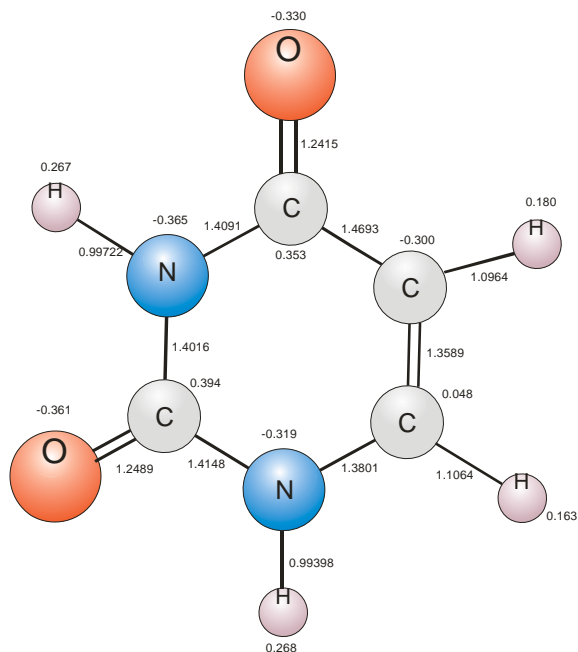


Рис. 1.34. Розподіл густин зарядів (у відносних одиницях) та довжин зв'язків (в одиницях Å) у молекулі урацилу.

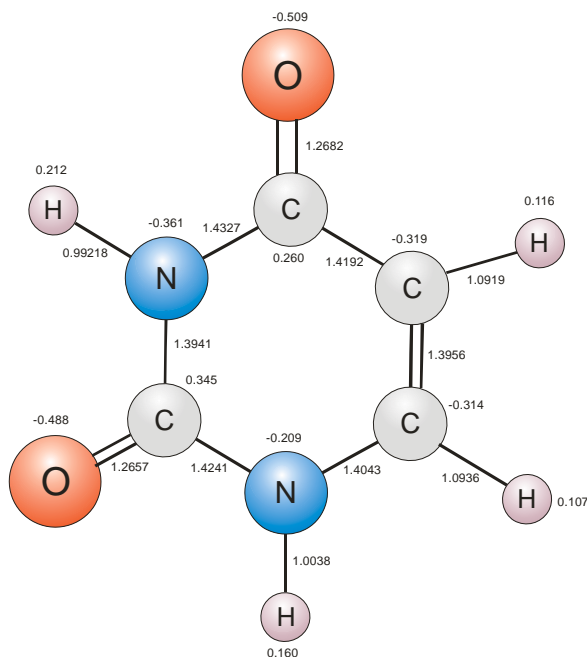
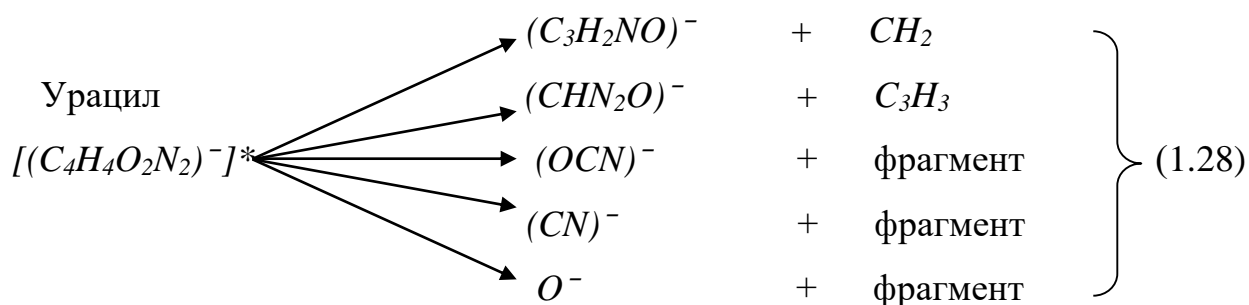
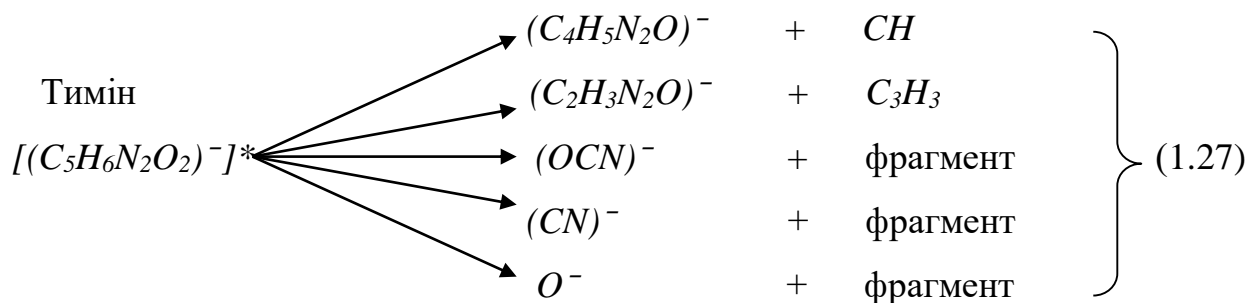
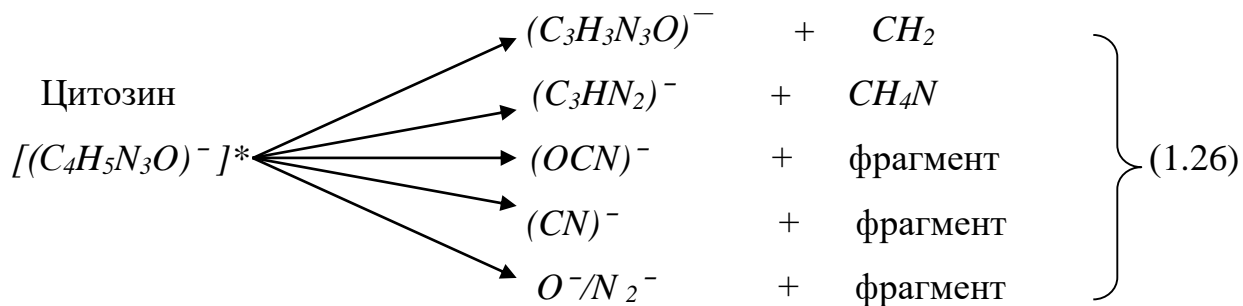


Рис.1.35. Розподіл густин зарядів (у відносних одиницях) та довжин зв'язків (в одиницях Å) у негативному молекулярному іоні урацилу.

Із рис. 1.34 видно, що атоми водню, які знаходяться в молекулі урацилу біля атомів азоту (N1, N3), мають близькі довжини зв'язків, а місця їх розташування характеризуються найбільшою густиною позитивного потенціалу. Внаслідок захоплення молекулою іонізуючого електрону довжина зв'язку атома водню з атомом N1 збільшується, а позитивний потенціал біля цього атома водню помітно нейтралізується (рис. 1.35). Звідси випливає, що при розпаді негативного молекулярного іону найбільш вірогідним буде відщеплення атома водню від вузла N1.

Отримані розрахункові дані [2] добре корелюють з результатами експериментальних досліджень [276,294], в яких за допомогою методики дейтерування та метилювання складових нуклеїнових кислот було зроблено висновок, що відщеплення атома водню відбувається у місці знаходження атома азоту у кільці. Беручи до уваги результати досліджень [259,219,294,295], можна сказати, що у випадку відщеплення атома водню від вузла N3 для тиміну та урацилу захоплений електрон локалізується на вільних σ^* та π^* орбіталях, а у випадку відщеплення атома водню від вузла N1 для цитозину, тиміну та урацилу захоплений електрон локалізується на вільних σ^* орбіталях.

Також не виключалися й, менш ймовірні, інші фрагментаційні схеми розпаду збуджених станів негативних молекулярних іонів, наприклад, схеми за реакціями (1.26) – (1.28). Однак, як випливає із досліджень мас-спектрів негативних іонів [266,270], ймовірності утворення негативно заряджених фрагментів за вищенаведеними схемами суттєво менші (на порядок і більше за величиною) від ймовірностей утворення негативно заряджених фрагментів за механізмом відриву атома водню. До того ж негативно заряджені фрагменти починають утворюватися при енергіях, більших 4 еВ. Таким чином, приведені на рис. 1.31 – 1.33 результати характеризують перерізи утворення негативно заряджених фрагментів цитозину, тиміну, урацилу, які втратили по одному атому водню.



На рис. 1.36 приведені криві потенціальної енергії взаємодії атома водню (H) з нейтральним і зарядженим молекулярним фрагментом молекули урацилу (У-Н) по лінії від вузла N1 до H. Потенціальні криві були розраховані напівемпіричним квантовомеханічним методом AM1 [238,243], який входить у комплексну програму HyperChem [81]. Рис. 1.36 наглядно показує, що коливально-збуджений негативний молекулярний іон урацилу є нестабільним і підлягає розпаду.

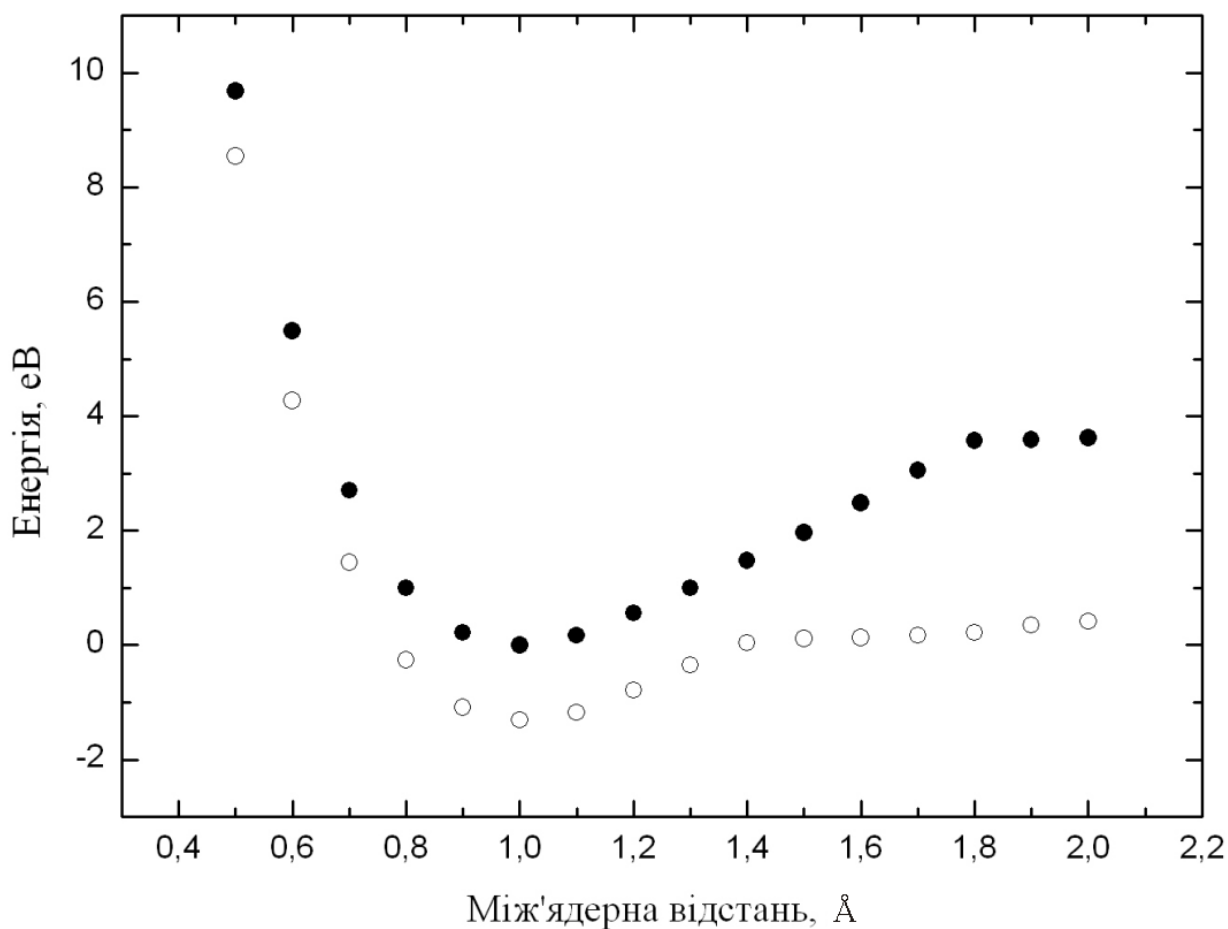


Рис. 1.36. Криві потенціальної енергії для молекули урацилу від вузла N1 до Н:

- – для нейтральної молекули;
- – для негативного молекулярного іона.

На відміну від позитивних іонів (рис. 1.19 – 1.21), за даними робіт [2, 29, 103, 105, 106, 128] негативні іони мають значно менші перерізи утворення (рис. 1.31 – 1.33). Поряд з цим, аналіз літературних джерел [256,263,264,266,269] свідчить про суттєві розбіжності між результатами їх досліджень та даними, які були отримані іншими авторами (таблиця 1.8) стосовно перерізів утворення негативних іонів досліджуваних молекул. Такі розбіжності виходять далеко за межі похибок експерименту і вимагають аналізу надійності окремих елементів методик, що використовуються. Неузгодженість робіт [256,263,264,266,269] зумовлена відсутністю у них надійної методики у визначенні концентрації

молекулярних мішеней. Так, автори робіт [256,263,264] шуканий переріз для тиміну визначали шляхом його нормування на відомий переріз утворення негативного іона молекули SF₆⁻. Зауважимо, що пізніше результати [264] були переглянуті у роботі [266]. Інший методичний підхід застосували автори роботи [269]. У цій роботі переріз утворення негативних іонів тиміну нормувався на переріз утворення позитивних іонів, який, у свою чергу, розраховувався квантово-механічним методом у наближенні моделі Бете (binary-encounter-Bethe model - BEB). Подібний методичний підхід для визначення перерізу утворення негативних іонів урацилу був застосований і авторами роботи [266]. Відмінність полягала лише у використанні іншого теоретичного підходу [267,268 – напівкласичного формалізму Дойча-Мерка (ДМ).

Таблиця 1.8.

Абсолютні величини перерізів формування негативних іонів молекул тиміну, цитозину та урацилу

Літературне джерело		[2]	[256]	[263]	[264]	[269]	[266]
Переріз, см ²	тимін	8,2·10 ⁻¹⁸	~10 ⁻¹⁴	1,2·10 ⁻¹⁵		4,7·10 ⁻¹⁹	
	цитозин	4,2·10 ⁻¹⁸		2,3·10 ⁻¹⁶		2,2·10 ⁻¹⁹	
	урацил	5,0·10 ⁻¹⁸			3·10 ⁻¹⁶		2,6·10 ⁻¹⁷
Енергія резонансу, еВ	тимін	1,1	0,18	1,02		1,01	
	цитозин	1,5	1,4	1,51		1,54	
	урацил	1,1			~1		

Теоретичні ідеї Бете викладені в праці [296], в якій автор за допомогою сум для узагальнених сил осциляторів отримав просту аналітичну формулу для енергетичних втрат швидкої частинки, що проходить через речовину. Такий підхід відкрив можливість вивчення пружних та непружних взаємодій електронів з атомами. Пізніше [286,287], ідеї Бете були розвинуті для визначення

повних перерізів непружного розсіяння електронів на атомних та простих молекулярних системах. Таким чином наближення ВЕВ [221,269] та ДМ [267,268] слід вважати подальшим розвитком теорії Бете для визначення повних перерізів іонізації складних молекулярних систем. При цьому важливо пам'ятати, що теоретична модель Бете була розроблена для області високих енергій електронів. В області малих енергій електронів модель Бете, як і відома модель Борна, є грубими наближеннями і дає завищені величини перерізів зіткнень [73,74].

На їх погляд [2, 29, 103, 105, 106, 128], у методичних підходах [266,269] якраз і бракувало надійного аналізу можливих похибок теоретичних розрахунків в області малих енергій у випадку їх застосування для молекул азотистих основ НК. На відміну від робіт [6–8,10,27], у дослідженнях [2, 29, 103, 105, 106, 128] всі необхідні величини знаходилися експериментально.

Відсутність джерел систематичних похибок у виконаних експериментах було доведено наступним чином. За незмінних умов експерименту відношення струмів позитивних і негативних іонів у відповідності з (4.5) є рівним:

$$i^+ / i^- = i_e(100) \cdot \sigma^+(100) / i_e(4.5) \cdot \sigma^-(4.5), \quad (1.29)$$

де i^+ та i^- – відповідно струми позитивних та негативних іонів при енергіях 100 еВ та 4.5 еВ;

$i_e(100)$ та $i_e(4.5)$ – відповідно струми пучка електронів при енергіях 100 еВ та 4.5 еВ;

$\sigma^+(100)$ і $\sigma^-(4.5)$ – відповідно перерізи утворення позитивних іонів при енергії 100 еВ і негативних іонів при енергії 4.5 еВ.

Таким чином, перерізи утворення позитивних і негативних іонів жорстко зв'язані між собою. У контрольних експериментах при виконанні роботи [2, 29, 103, 105, 106, 128] завжди проводилися виміри відношення i^+ / i^- за умови наповнення камери зіткнень газом SF_6 . З іншого боку, відношення (4.16) розраховувалося за відомими перерізами утворення позитивних та негативних

іонів молекули SF_6 [297,298], а також за вимірними струмами електронного пучка. Результати розрахунків та експериментальних вимірів співпадали між собою в межах похибок 40 %.

Вищенаведене підтверджує високу надійність результатів експериментальних вимірів [2, 29, 103, 105, 106, 128]

Стосовно енергетичних залежностей перерізів утворення негативних іонів, можна констатувати, що узгодженість результатів експериментів [2, 29, 103, 105, 106, 128] з даними досліджень інших авторів є задовільною. Цей висновок переконливо ілюструє рис. 1.37.

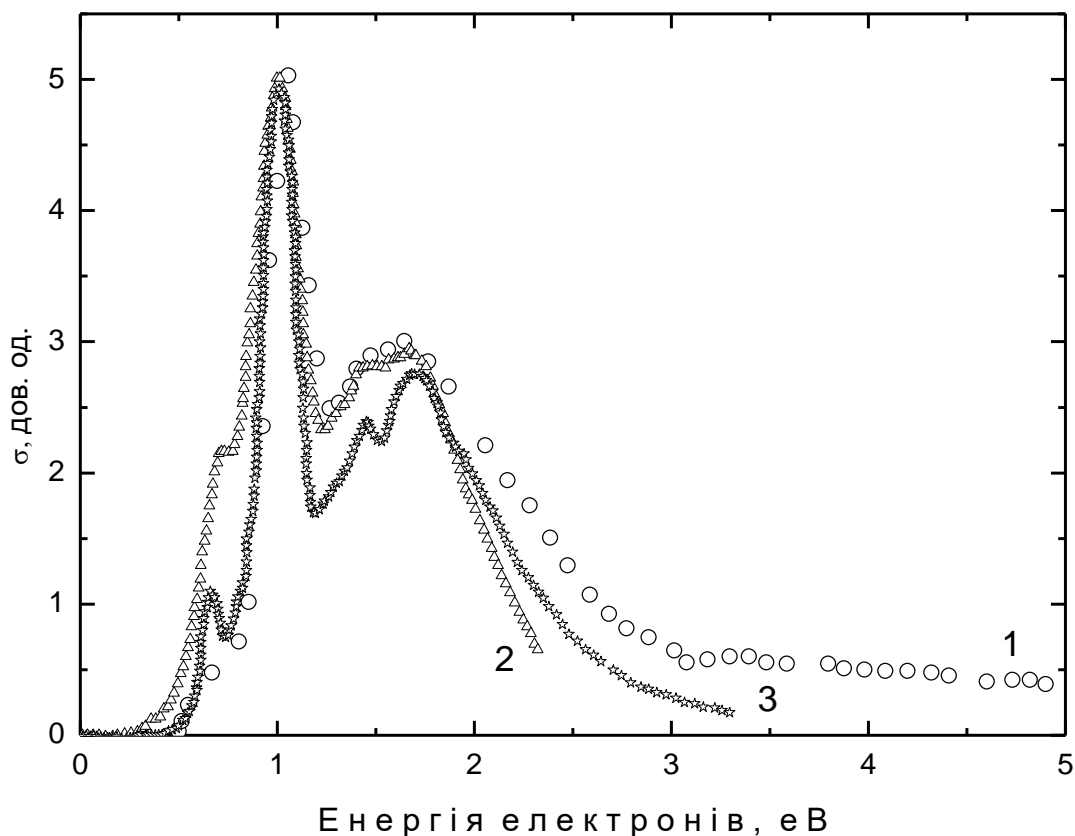


Рис. 1.37. Енергетичні залежності перерізу формування негативних іонів урацилу: 1 – результати роботи [128]; 2 – дані роботи [264]; 3 – дані роботи [257].

Висновки до розділу 1

Розвиток сучасної енергетики і технологій породжує і екологічні проблеми, які пов'язані із наростанням у навколишньому середовищі інтенсивності фізичних агентів. Зокрема, під дією потоків високоенергетичного випромінювання в біоструктурах у великій кількості утворюються вторинні електрони, більша частина яких є повільними. Саме з цими електронами, за сьогоденними уявленнями, пов'язують основні деструктивні зміни на молекулярному рівні біоструктур. Вторинні електрони ініціюють різноманітні фізичні процеси: збудження, іонізацію, дисоціативне збудження, дисоціативну іонізацію. Частинки, які утворилися в таких процесах, дають початок цілому каскаду фізико-хімічних реакцій, згубних для клітин живих організмів.

Взаємодія низькоенергетичних (повільних) електронів з молекулами складових ДНК служить адекватною моделлю для вивчення молекулярних механізмів радіаційно-індукованих мутагенезу та клітинної загибелі. В цьому напрямку є ряд досліджень, але залишається відкритим питання про первинні механізми руйнування структури біомолекул, а також не з'ясовано роль галогенозаміщених компонентів при дії повільних електронів. Для кількісного опису молекулярних змін у клітинах, викликаних повільними електронами, необхідні дані про абсолютні величини перерізів непружних взаємодій електронів із складовими компонентами ДНК і РНК – азотистими основами нуклеїнових кислот.

З літератури відомо, що довгохвильове УФ випромінювання ($E < 3,75$ eV), яке володіє високою біологічною активністю, слабо поглинається ДНК та її складовими у вільному стані, але залежить від наявності міжмолекулярних взаємодій. Тому постає необхідність дослідити дію даного випромінювання на молекули складових нуклеїнових кислот у конденсованому стані – плівковому, який якраз і дозволяє реалізувати міжмолекулярні взаємодії. Важливим є порівняння молекулярних механізмів впливу низькоенергетичного випромінювання корпускулярної (потік електронів) та електромагнітної

природи (УФ світло) на молекулярні компоненти НК, а також апроксимація отриманих результатів на умови клітинної ДНК для оцінки біологічних наслідків. Поряд з цим, аналіз наявних літературних даних свідчить про недостатню кількість інформації про вказані процеси, тому подальший розвиток експериментів у цьому напрямку є доцільним і актуальним.

Отримання пріоритетних нових даних про абсолютні величини і енергетичні залежності перерізів іонізації та збудження генетично важливих біомолекул при їх взаємодії з моноенергетичним пучком електронів та з'ясування ймовірних механізмів перебігу цих процесів, впливу короткоживучих станів від'ємних іонів на поведінку та величини перерізів взаємодій, прогнозування їх ролі у біоструктурах *неможливе без створення* оригінальних експериментальних комплексів, які б поєднували класичні методи (газофазну мас-спектрометрію з іонізацією електронним ударом, оптичну спектроскопію, діелектрометрію тощо та розробку нових методик (визначення концентрації молекул у пучку, отримання плівок гетероциклічних біомолекул). Для уточнення та поглиблення інтерпретації експериментально отриманих результатів доцільно використати квантово-хімічні розрахунки та перевірку на біологічній моделі.

Піонерські дослідження взаємодії повільних електронів з азотистими основами нуклеїнових кислот розпочались на фізичному факультеті Ужгородського національного університету у 80-х роках минулого століття [23, 24]. Автори розробили методику отримання біомолекул у газовій фазі, формування молекулярних пучків, реалізували метод пересічних пучків – молекулярного та електронного [25–27]. Свічення збуджених електронним ударом молекул нуклеотидних основ реєстрували фотоелектричним методом, продукти іонізації – електричним та мас-спектрометричним методами [27, 29, 95–99, 114]. Показано, що збудження повільними електронами азотистих основ дає принципову можливість реалізації заборонених оптичних переходів, у результаті яких утворюються метастабільні триплетні стани. Здійснені прямі виміри перерізів утворення негативних і позитивних іонів нуклеотидних основ, оцінені біофізичні і радіобіологічні наслідки в нуклеїнових кислотах [95–107].

РОЗДІЛ 2

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ КОМПЛЕКС ТА МЕТОДИКИ ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

Вступ до розділу 2

Представлена робота є фундаментальним дослідженням, в якій вивчається біофізичний вплив низькоенергетичного випромінювання різного походження на компоненти нуклеїнових кислот, які є надзвичайно важливими біологічними молекулами. Проаналізовані фізичні процеси і відповідні структурні зміни, що ініціюються в зазначених біомолекулах повільними (0 – 100 eV) електронами та випромінюванням в УФ-діапазоні (3,2 – 5,6 eV).

Важливою особливістю дослідження є експериментальне вивчення молекул в ізольованому хаотичному (газоподібному) стані, а також в упорядкованому (конденсованому) стані (розчини, плівки, біотканини). Даний підхід дозволяє співставляти дані, виділяти первинні фундаментальні процеси, а також сприяє глибокому розумінню ролі взаємодій між молекулами та атомами.

Експериментальне вивчення процесів збудження та іонізації при зіткненнях електронів із молекулами були проведені на установці з використанням методу електронного і молекулярного пучків, що перетиналися.

Експериментальна установка, на якій були проведені дослідження, представлена в різних модифікаціях: установка для дослідження збудження молекул електронним ударом, система реєстрації іонів при визначенні повних перерізів іонізації, установка для дослідження парціальних перерізів утворення позитивно заряджених іонів. Загальними для вищенаведених модифікацій були наступні вузли: вакуумна камера та її системи відкачки; джерела пучка молекул; джерела пучка електронів; джерела магнітного поля; системи друку і реєстрації.

Крім цього, у даній роботі були використані також і інші методи досліджень: мас-спектрометричний метод; абсорбційна інфрачервона та

ультрафіолетова спектроскопії; діелектрометрія, напівемпіричні методи АМ1 і DFT для теоретичних (квантово-хімічних) розрахунків.

Нижче приведені деталізовані описи окремих вузлів експериментальної установки та викладені процедури проведення відповідних досліджень.

2.1. Вакуумна камера та система її відкачки

Вакуумна камера являла собою розбірний порожнистий циліндр довжиною 430 мм та діаметром 200 мм (рис. 2.1), що був виготовлений із нержавіючої сталі X18H10T. З торців циліндр закритий корпусними фланцями, що були виготовленими з того ж матеріалу. На одному з фланців кріпилися наступні вузли експериментальної установки: джерела пучка електронів та пучка молекул; приймачі іонного та молекулярного пучків; електромагніт; водяні пастки; вакуумні електричні вводи; різноманітні допоміжні елементи. Вакуум у камері зіткнень був створений за допомогою тріступінчастої системи відкачки (рис. 2.2), в складі якої були присутні: високовакуумний магніторозрядна помпа НОД-250; паромасляна помпа НВД-015 та форвакуумна помпа типу ВН-05МГ для первинного розрідження; вакуумні проводи; вакуумні крани ДУ-50, ВРП-32, ВРП-25; криогенна та цеолітова уловлювачі. Розрідження в камері зіткнень, яке було необхідним для експериментів, було досягнуто в три стадії. На першій стадії, після загрузки робочої речовини (досліджуваного взірця) в камеру зіткнень і її герметизації, вмикався механічний насос з послідовним охолодженням повітрям ВН-05МГ, який створював у вакуумній камері первинне розрідження в $1,3 \cdot 10^{-1}$ Па. На наступній стадії в дію вводився паромасляний насос НВД-015, який понижувала тиск у камері зіткнень до величини 10^{-3} Па. Для того щоб запобігти проникненню випарів масла в камеру зіткнень були використані два уловлювачі – криогенний (охолоджувався за допомогою рідкого азоту), який був встановлюваний на вході паромасляного насоса та цеолітовий, який встановлений на його виході. Під час цієї ж стадії був

здійснений первинний прогрів та проведена термодезгазація досліджуваного зрізця, прогрівання стінок вакуумної камери та вузлів галогеновою лампою потужністю 600 Вт, розміщеною всередині камери неподалік електронної гармати.

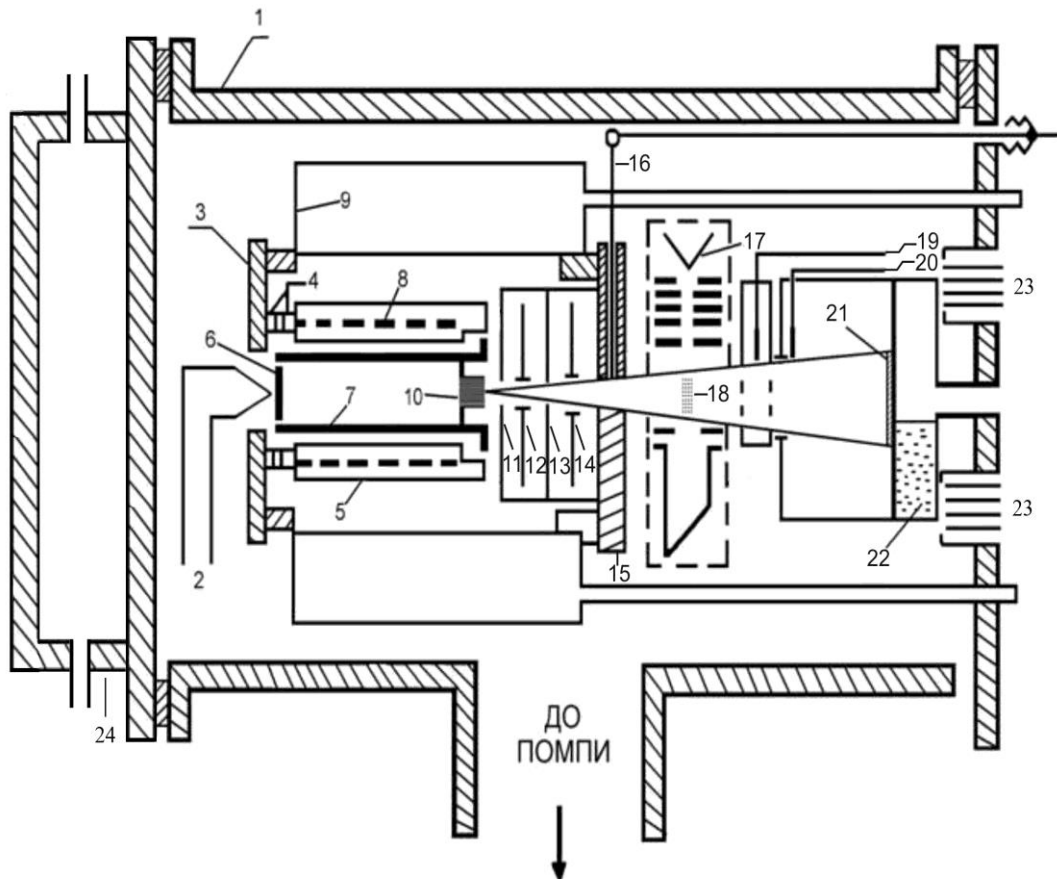


Рис. 2.1. Вакуумна камера та її складові: 1 – циліндр з нержавіючої сталі; 2 – температурний датчик; 3 – корпус кріплення джерела пучка молекул; 4 – діелектричні вставки; 5 – каркас нагрівника; 6 – закривка контейнеру; 7 – металева ампула із зразком; 8 – резистивний нагрівник; 9, 24 – радіатори; 10 – сотовий формувач; 11 – 14 – формуючі діафрагми; 15 – корпус джерела електронного пучка; 16 – шибер пучка молекул; 17 – джерело електронного пучка; 18 – геометрія перетину електронного та молекулярного пучків; 19 – іонний осьовий електрод; 20 – шибер; 21 – осад молекулярного пучка; 22 – азотний конденсат; 23 – металеві-вакуумні електроди.

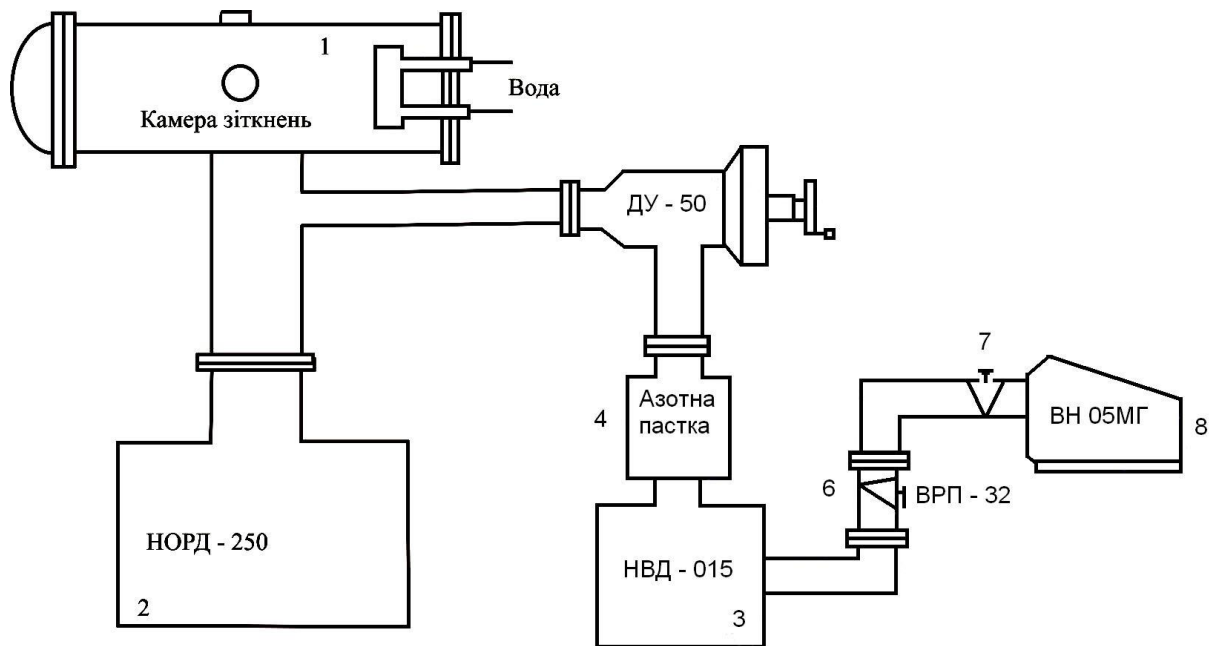


Рис.2.2. Схема вакуумної відкачки:

1 – геометрія перетину електронного та молекулярного пучків, 2 – магніторозрядна помпа, 3 – паромасляна помпа, 4 – паромасляний уловлювач, 5, 6, 7 – вакуумні крани, 8 – форвакуумна помпа.

Коли розрідження у вакуумній камері було досягнуто орієнтовно в $5 \cdot 10^{-4}$ Па, розпочиналася третя, остання, стадія відкачки, на якій камера за допомогою крану ДУ-50 була перекрита від паромасляної та механічної помп, а наступне пониження тиску у вакуумній камері було здійснено магніторозрядною помпою НОРД-250. Для забезпечення контролю за ступенем розрідженості були використані наступні датчики ПМТ, ПМИ-2, ПМИ-27 в поєднанні з вакууметрами ВИТ-1А та ВИ-14.

Загальна тривалість відкачки камери зіткнень разом з її внутрішнім прогріванням, яке передувало стадії отримання пучка молекул, складала ~ 40 год. Опісля тиск у вакуумній камері знижувався до $1 \cdot 10^{-6}$ Па, що було необхідним критерієм для отримання пучка молекул та проведення відповідних експериментів.

2.2. Джерело пучка молекул

За умови невеликої кількості досліджуваного зразка отримання біомолекул в газоподібному стані є непересічною задачею і передбачало окрему стадію технологічних і пошукових конструкторських розробок та досліджень. Метод отримання газової фази, що нами використовувався, зводився до формування обмеженого у просторі пучка молекул, що не взаємодіяли між собою. Процес генерування пучка молекул був здійснений за допомогою ефузійного комплексу та спеціального сотового формувача (див. рис. 2.3, рис. 2.4). Складові частини ефузійного термічного джерела були наступними: мідна ампула із зразком, резистивний нагрівник, температурний датчик (хромель-алюмелева термопара), термозахисна оболонка. Ампула, де знаходився досліджуваний зразок, була виготовлена у виді порожнистого металевого циліндру, на торці якого був змонтований елемент зі ста випускними каналами на площі з розмірами $1,5 \times 1,5 \text{ мм}^2$, а на протилежному торці була розміщена робоча досліджувана речовина, що була герметизована притертим корком. Спай хромель-алюмелевої термопари був розміщений у вузькому та протяжному каналі корку (рис. 2.3). За реперними температурними точками кипіння води та плавлення льоду в окремому експерименті відбувалося калібрування термопари. Калібрувальна похибка шкали температур термопари складала $\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. Резистивний нагрівник являв собою каркас із нержавіючої сталі, на якому монтувалася біфілярна обмотка з молібденового дроту діаметром 0,5 мм. Стабілізоване джерело постійного струму ТЕС-14 забезпечувало живлення спіральної обмотки.

Будова джерела пучка молекул мала жорстку нерозбірну конструкцію і допускала швидкісну загрузку досліджуваного взірця в ампулу або її очищення. Слід зазначити, що геометрія пучка при цьому залишалася незмінною.

Джерело пучка молекул, що було розміщене на одному із країв порожнистого мідного циліндру (рис. 2.1) охолоджувалося протічною водою. На

протилежаючому краю циліндра була змонтована «холодна» формуюча діафрагма із шиббером. Після проходження місця взаємодії з електронним пучком (рис. 2.8), молекули згенерованого пучка в кінці свого руху осідали на дні циліндричної мідної камери (приймача), утворюючи при цьому примітний слід (осад). Отримані параметри конденсату були використані для визначення геометричних величин молекулярного пучка (ефективного переріза зіткнення, кутової діафрагми тощо). Приймач був виготовлений з міді у вигляді камери циліндричної форми, вхідна апертура S якої забезпечувалася шиббером 2 (див. п. 2.5). Температурний режим камери відповідав температурі азотного конденсату. Отримані дані про масу осаду та час його формування надавали можливість визначення інтенсивності пучка молекул, і відповідно, їх концентрацію у пучку.

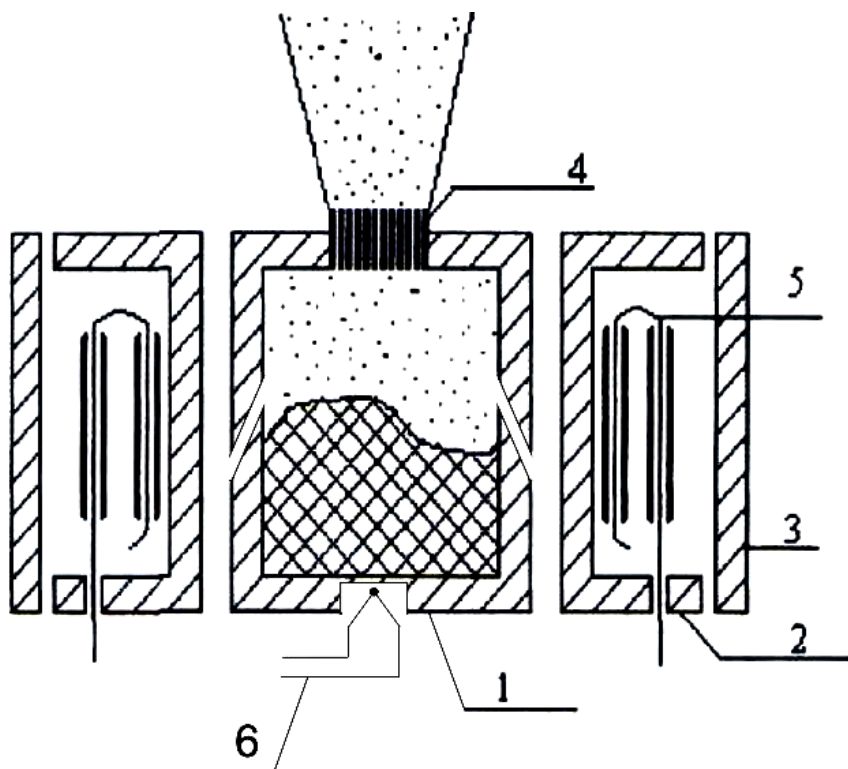


Рис. 2.3. Зображення джерела пучка молекул:

- 1 – металева ампула із зразком; 2 – каркас нагрівника;
- 3 – термозахисна оболонка; 4 – сотовий формувач,
- 5 – резистивний нагрівник;
- 6 – температурний датчик.

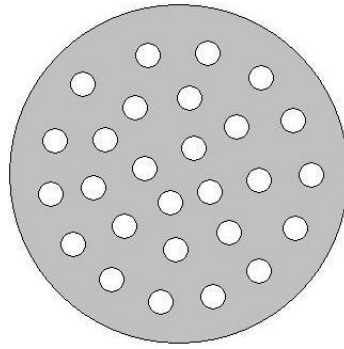


Рис. 2.4. Сотовий формувач.

2.3. Електронна гармата.

Розглянемо конструктивну частину та функціональні характеристики джерела пучка електронів, які були використано в установці для проведення експериментальних досліджень. Умовне зображення джерела електронного пучка – п'ятиелектродну гармату з вольфрамовим V-подібної форми катодом безпосереднього нагріву приведене на рис. 2.5. Електроди були виготовлені з немагнітного прецизійного жаротривкого хромо-нікелевого сплаву – відполірованого ніхрону. Невеликий негативний, відносно катода, потенціал був поданий на перший електрод гармати для затримування низькоенергетичної частини електронів. Для забезпечення стабільності параметрів роботи електронної гармати протязі довготривалого експерименту джерело електронного пучка нагрівалося до температури 500 К. Електронний пучок вловлювався протяжним колектором електронів (циліндром Фарадея), на який був поданий невеликий позитивний, відносно охоронного аноду, потенціал. Однорідне магнітне поле з індукцією $B = 1,2 \cdot 10^{-2}$ Тл було створене паралельно осі пучка електронів. За положенням піку резонансного утворення негативно зарядженого іона молекули SF_6^- проводилося калібрування шкали енергій електронів. Для досягнення поставленої цілі, через прецизійну систему напуску, вакуумна камера заповнювалась важкою неорганічною речовиною в газоподібному стані SF_6^- . Шляхом сканування енергії електронного пучка проводилося вимірювання струму негативно заряджених іонів (рис. 2.6).

Енергетичним положенням резонансу був зафіксований нуль енергетичної шкали електронів, а ширина лінії резонансу на його напів-висоті визначала неоднорідність електронного пучка – $\Delta E_{1/2}$. Функції збудження та енергетичні залежності перерізів іонізації були визначені при силі струму в $(1 - 5)10^{-6}$ А та енергетичній неоднорідності $\Delta E_{1/2} \sim 0,3$ еВ.

В ході підготовки джерела електронного пучка до роботи було проведено його термічну дегазацію та очистку при високому ($1 \cdot 10^{-4}$ Па) вакуумі. Відтак було виконане довготривале активування катоду, проведений оптимальний підбір значень потенціалів на анодах та було визначено енергетичну однорідність електронного пучка. Активування вольфрамового катоду було проведено за робочого вакууму при тиску не нижче $6,6 \cdot 10^{-5}$ Па. Сила струму розжарення складала 2,6 – 3,0 А. Відповідні значення потенціалів: $V_1(A_1) = -0,15$ В; $V_2(A_2) = 12$ В; $V_{3,4}(A_{3,4}) = 4 - 8$ В були встановлені на електродах джерела пучка електронів.

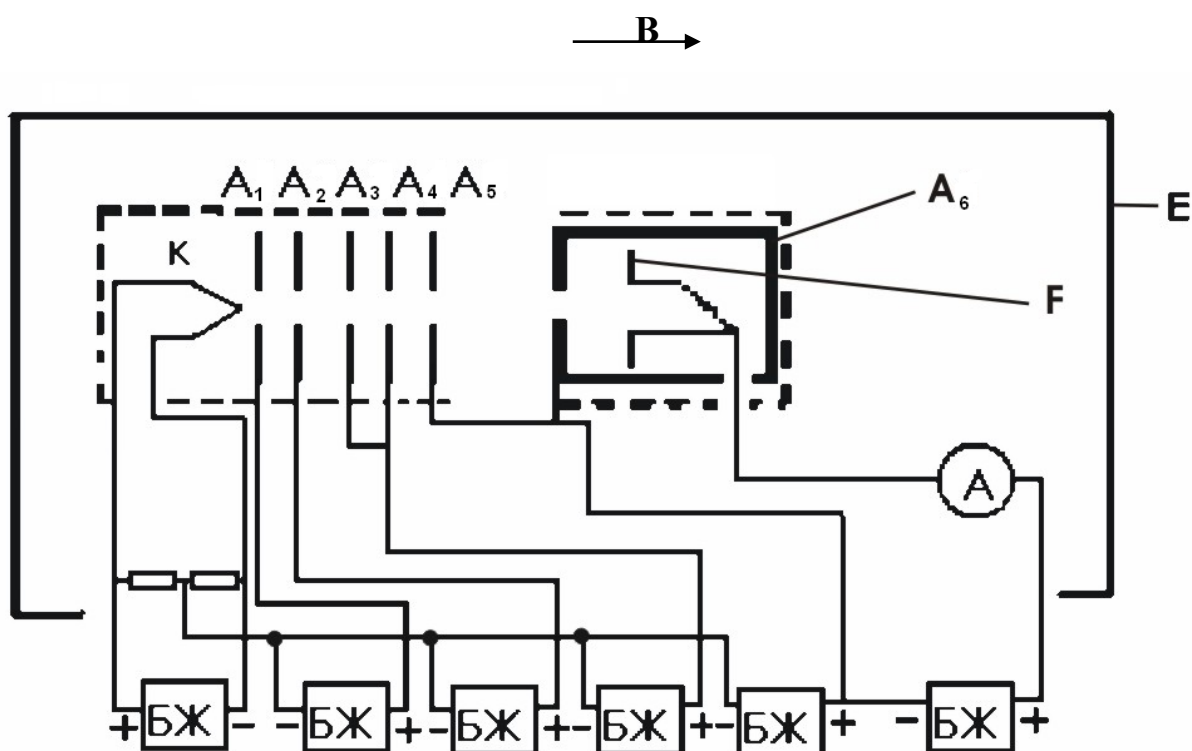


Рис. 2.5. Умовне зображення джерела пучка електронів: К – вольфрамовий катод; $A_1 - A_6$ – аноди; F – колектор електронів; E – термозахисна оболонка; БЖ – джерела живлення; **B** – магнітне поле.

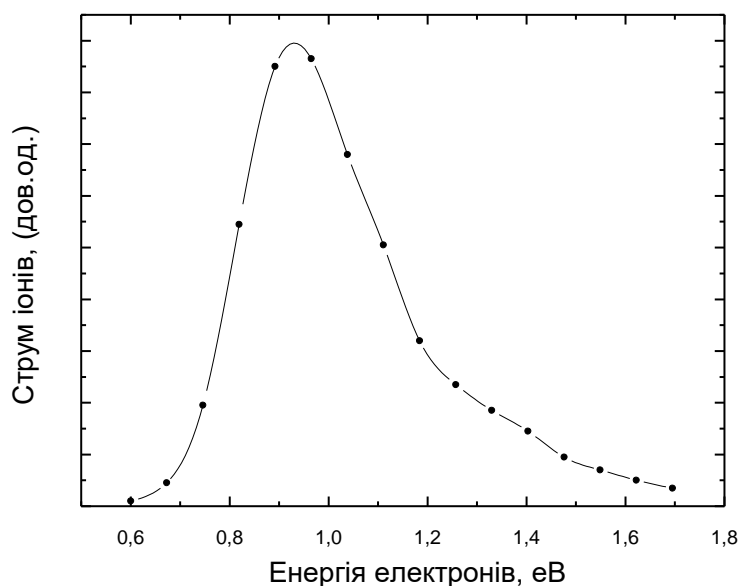


Рис. 2.6. Енергетична залежність струму іонів SF_6^- .

2.4. Система реєстрації фотонів при вивченні процесів збудження молекул електронним ударом та методика проведення експериментів

Оптичні дослідження проводились на установці, яка забезпечувала два варіанти подачі молекул в зону взаємодії з пучком електронів. В залежності від мети експерименту використовувалася методика комірки (рис.2.7) та методика пучка (рис.2.8).

Метод комірки є більш простим і був реалізований наступним чином (рис. 2.7). У спеціальному контейнері була розміщена досліджувана речовина, яку нагрівали до певної температури. Утворена газова фаза речовини по паропроводу поступала у замкнений об'єм $\sim 2 \text{ см}^3$ кубічної форми (комірку). У тих випадках коли вихідна речовина при нормальних умовах знаходиться в газовій фазі використання методу комірки стає більш простим. Контейнер з досліджуваним порошком препарату знаходився за температури, що не перевищувала 350 К. На одній із зовнішніх граней комірки була змонтована діафрагма з діаметром 1,5 мм для вводу електронного пучка та саме джерело

пучка, а на протилежній – приймач пучка електронів (циліндр Фарадея). Випромінювання, стимульоване електронним пучком, виводилося із комірки через два кварцові віконця, змонтованих на протилежних гранях комірки. Утворені іони під дією електричного поля були спрямовані або на колектор з вимірюванням їх струму, або через щілину – за межі комірки для мас-спектрометричного аналізу зарядового і масового складу іонів.

Електронний пучок формувався п'ятиелектродною гарматою. Комірка була розміщеною у магнітному полі таким чином, що його силові лінії були направлені паралельно пучку електронів. Калібрування енергетичної шкали електронів здійснювалося за значенням величини енергетичного порогу збудження спектральної смуги молекулярного азоту з довжиною хвилі $\lambda = 315,9$ нм (друга позитивна система, перехід $X^1\Sigma_g^+ \rightarrow C^3\Pi_u$) з врахованою похибкою $\pm 0,25$ еВ. Значення індукції магнітного поля становило $\sim 1.2 \cdot 10^{-2}$ Тл. З метою реєстрації випромінювання використовувався спектрофотометр, що складався із фотоелектронного помножувача (ФЭУ-106), дифракційного монохроматора (МДР-23) з величиною оберненої дисперсії 1 нм/мм і системи реєстрації фотосигналу. Задля покращення відношення сигнал/шум реєстраційна система працювала у режимі рахунку фотоімпульсів в поєднанні з модуляцією пучка електронів.

Проведення експериментів здійснювалося за наступних умов: сила струму електронного пучка знаходилася в межах $(3 - 4) \cdot 10^{-5}$ А за енергетичної неоднорідності електронів на пів-висоті їх розподілу енергій $\Delta E_{1/2} \sim 0,5$ еВ; ступінь розрідженості у вакуумній камері, з розміщеною коміркою з парами зразка, складав $\sim 1 \cdot 10^{-5}$ Па. З метою уникнення конденсації парів на електродах електронної гармати та віконцях та комірка була нагрітою до температури 370 К.

Метод комірки доцільно використовувати для формування хімічно неактивних та фізично стабільних мішеней при відносно невисоких температурах (< 600 К). Істотні вади методу комірки проявляються в дослідях з атомами і молекулами, які утворюють на поверхнях елементів джерела

електронного пучка та комірки діелектричні плівки. Вплив цих плівок дуже ускладнює коректні дослідження в області енергій електронів порядком одиниць еВ. Вказані вади методу комірки усуваються, якщо формувати мішені у вигляді локалізованого у просторі потоку (пучка).

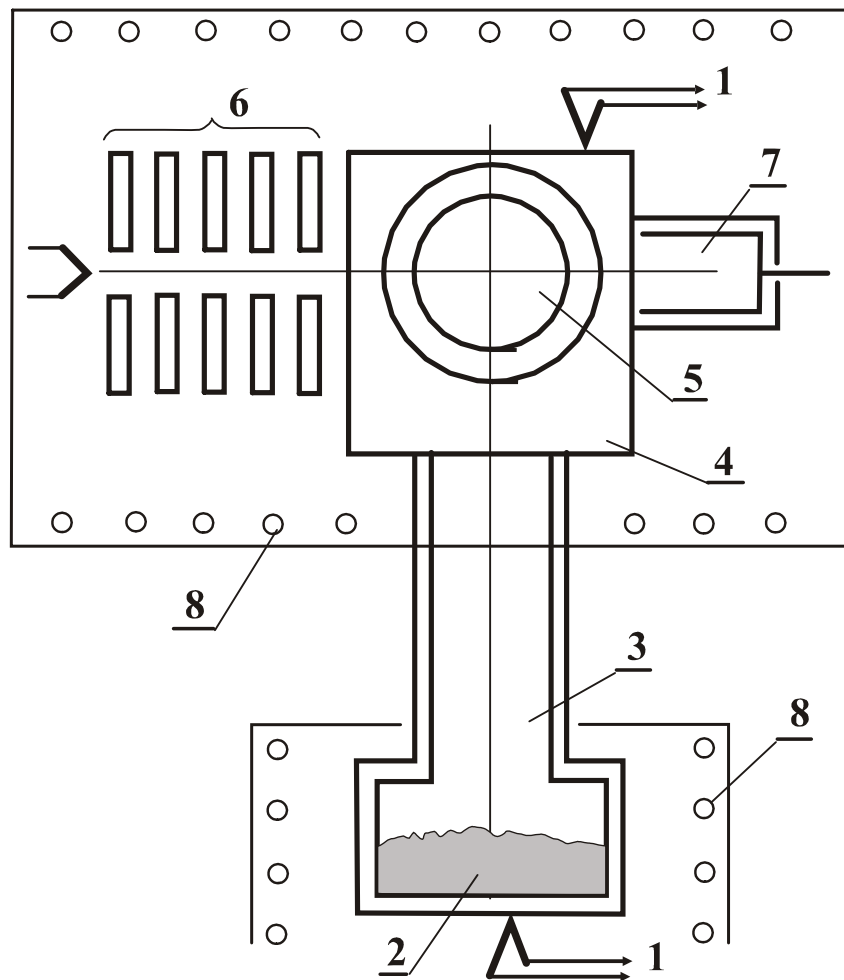


Рис. 2.7. Схема формування атомних або молекулярних мішеней методом комірки:

1 – термопара; 2 – досліджуваний зразок; 3 – паропровід; 4 – комірка; 5 – кварцове віконце; 6 – електронна гармата; 7 – приймач електронів; 8 – нагрівник.

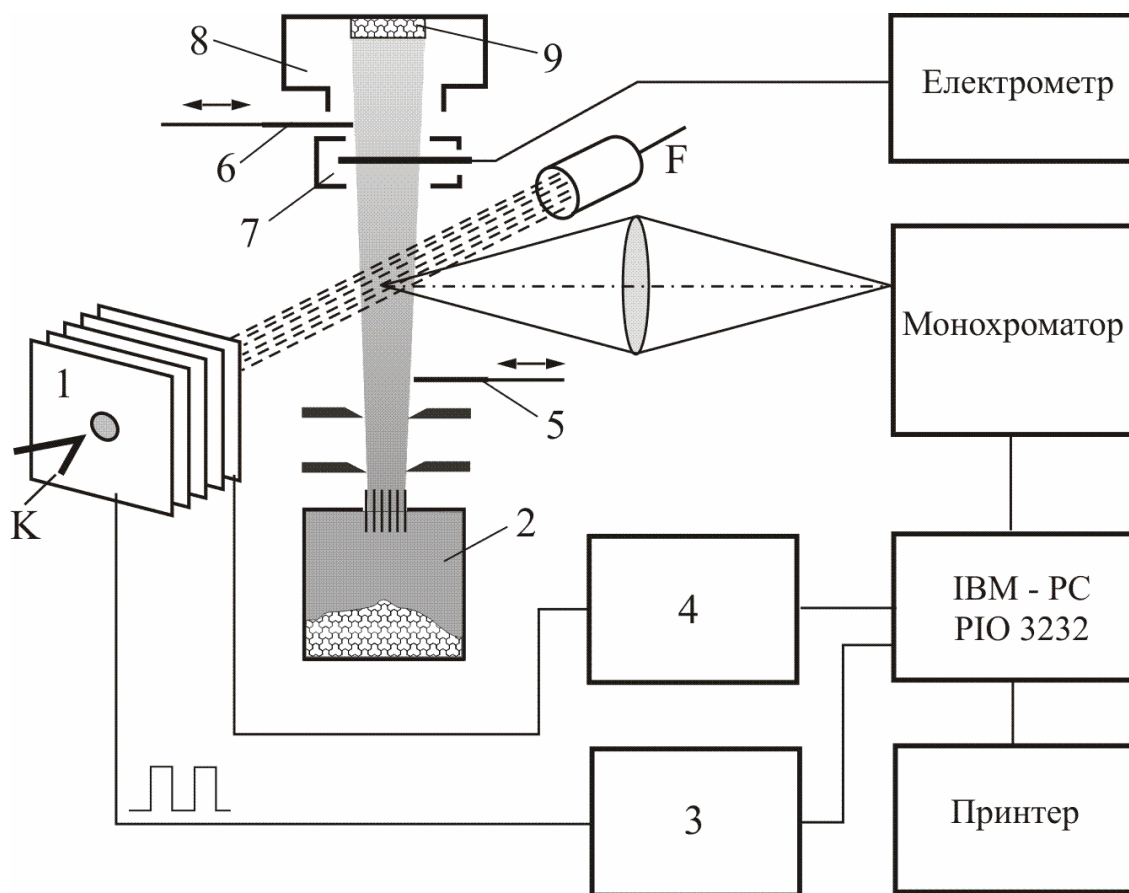


Рис. 2.8. Блок-схема експериментальної установки для дослідження збудження молекул електронним ударом (пучкова методика):

1 – електронна гармата; 2 – контейнер з речовиною; 3 – підсилювач; 4 – джерело скануючого потенціалу; 5, 6 – засувка молекулярного пучка; 7 – колектор іонів; 8 – колектор молекулярного пучка; 9 – конденсат молекулярного пучка; К – катод; F – колектор електронів.

Створення окремої експериментальної установки, центральний вузол якої є схематично представленим на рис. 2.9, було викликано необхідністю дослідження явища люмінесценції в умовах електричного розряду. По осьовій лінії скляної трубки були розміщені молібденові електроди – анод (А) та катод (К), а в найбільш прохолодному місці трубки температурний хромель-алюмелевий термопарний датчик. Досліджуваний взірець був поміщений в трубку, яка попередньо пройшла процедуру вакуумної очистки та дегазації.

Газова фаза біомолекул була отримана шляхом нагрівання резистивної електромагнітної котушки, по двом близько розташованим, паралельним обвиткам якої, проходив постійний електричний струм. Спостереження випромінювання розряду проводилося через кварцове віконце. З метою унеможливлення конденсації парів, кварцове віконце було розміщеним в додатковому термостаті, температура якого була на 20 К вищою за температуру основного термостату.

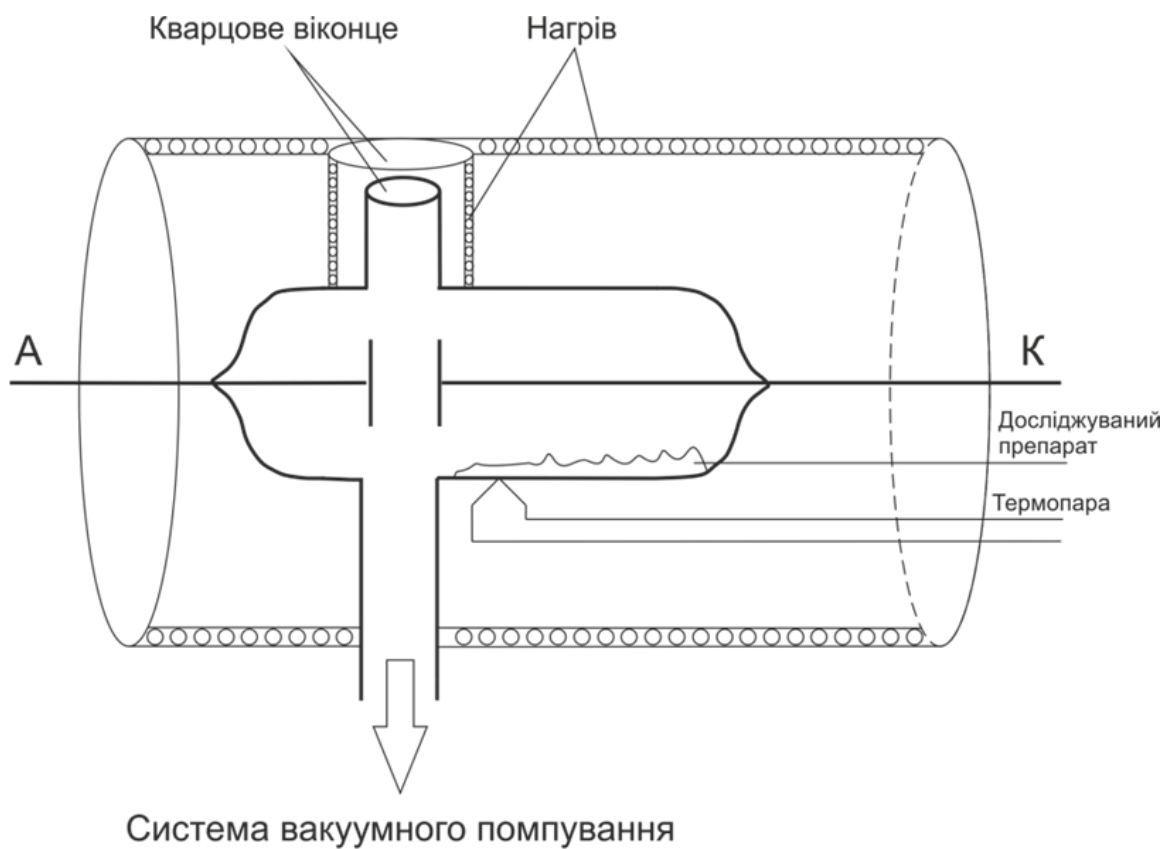


Рис. 2.9. Схематичне зображення розрядного пристрою.

2.5. Фізичні принципи і технічні методи мас-спектрометрії

Для дослідження закономірностей взаємодії компонент нуклеїнових кислот з повільними електронами був використаний метод мас-спектрометрії у двох

модифікаціях – для виявлення та аналізу як позитивних іонів, так і негативних іонів біологічних молекул.

Мас-спектрометричний метод використовується у тих випадках, коли необхідно дослідити якісний та кількісний склад позитивно чи негативно заряджених іонів, які утворилися при взаємодії мішеней із електронами. Найважливіші переваги мас-спектрометрії: роздільна здатність R , яка характеризує його здатність відрізнити між собою дві близькі маси $m + \Delta m$ і m :

$$R = \frac{m}{\Delta m};$$

надзвичайно висока чутливість систем реєстрації іонізованих молекул і їх фрагментів можливість одночасного якісного і кількісного аналізу об'єктів; отримання повної інформації про структуру молекул; використання різноманітних способів іонізації, в т.ч. і електронним ударом; можливість вичення об'єктів у різних фазах твердій, рідкій і газоподібній. Вищезазначений перелік свідчить тільки за виняткову перспективність мас-спектрометричних методів для дослідження складних біологічно важливих молекул, що вже, на даному проміжку часу, успішно реалізовується [156,157,165,251,253].

У ході наших експерименті за допомогою методів мас-спектрометрії була досліджена ціла низка фізичних процесів і фізико-хімічних змін в азотистих компонентах нуклеїнових кислот та нуклеозидах (азотиста основа в з'єднанні з цукром), спричинених дією повільних електронів.

Принцип роботи мас-спектрометра базується на визначенні типу частинки (молекули, атома) за відношенням m/z (маси до заряду). При цьому іони створюються шляхам відривання (у випадку позитивних іонів) від нейтральної частинки або приєднання до неї (у випадку негативних іонів) хоча б одного електрона. Іони спрямовуються в мас-аналізатор, де відбувається їх розділ за величинами m/z з подальшою реєстрацією їх кількості.

Сукупність відносних ймовірностей утворення різних типів іонів молекул мішені за певних температур та тиску газу в результаті дії певного іонізуючого фактору формує мас-спектр. Іонізуючим фактором може бути сильне магнітне чи електричне поле, потік монохроматичного випромінювання з високою інтенсивністю, пучок електронів або атомів, висока температура тощо. У представленій роботі, для вирішення поставленої задачі дослідити взаємодію біомолекул з електронами, іонізуючим фактором був обраний електронний пучок.

Методи мас-спектрометрії, що застосовуються для досліджень процесів іонізації електронним ударом надають нам можливість реєстрації продуктів взаємодії молекулярних мішеней з електронним пучком широкого діапазону енергій. В умовах глибокого вакууму та малих концентрацій мішеней виконується умова однократності зіткнень - бомбардуючий електрон з помітною ймовірністю може взаємодіяти з мішенню лише один раз. За наявності вищих величин енергій електронів у пучку, існує можливість не лише іонізації, але також, і руйнування хімічних зв'язків мішені. Вищеприведений процес стає ймовірним у випадку, якщо енергія первинних електронів достатня для відриву наявних, в молекулі-мішені, електронів. Тоді є можливим внутрішній перехід молекули з електронно-збудженого до коливально-збудженого стану молекулярного іона з подальшою його фрагментацією.

Поруч з фрагментами, які утворюються при звичайному розриві зв'язку, в мас-спектрах є присутніми іони, утворення яких є пов'язаним з можливим перегрупуванням, під час дисоціації, атомів. Найчастіше спостерігається перегрупування, пов'язане з міграцією атома водню, зумовленим його невеликою масою. Зрозуміло, що в результаті зіткнень електронів з молекулами є поява іонів різних знаків – як позитивно заряджених (катіонів), так і негативно заряджених (аніонів). Мас-спектрометри для позитивних і негативних іонів відрізняються певними конструктивними відмінностями. Для даного типу досліджень застосовується статична модифікація мас-спектрометра

з наступними основними блоками: 1) джерело пучка молекул, із взірцями досліджуваних молекул в газовій фазі; 2) джерело електронного пучка; 3) система розділу за величинами m/z ; 4) реєстрація іонного струму; 5) система відкачки для забезпечення високого вакууму в мас-спектрометрі; 6) контрольні системи тиску і температури.

На частинку із зарядом z , що проходить через однорідне магнітне поле діє сила Лоренца, під впливом якої частка буде здійснювати рух за криволінійною траєкторією. В даному випадку баланс сил можна описати наступним рівнянням:

$$\frac{mv^2}{r} = qvB,$$

де m – маса частки; z – її заряд; v – швидкість руху частки; r – радіус кривизни траєкторії; B – індукція магнітного поля. Звідси отримаємо:

$$\frac{m}{z} = r \frac{B}{v}$$

Проаналізувавши наведену рівність, приходимо до висновку, що в статичних модифікаціях мас-спектрометрів іони з різними значеннями m/z в аналізаторі рухаються за різними траєкторіями, тобто має місце їх розділ у просторі.

Мас-спектри позитивно заряджених іонів в даній роботі були отримані за допомогою мас-спектрометра МІ-1201. Базові вузли мас-спектрометра (рис. 2.9) є наступними: комірка Кнудсена із досліджуваною речовиною, система апертур для генерування молекулярного пучка, хромель-алюмелева термопара, джерело електронного пучка – електронна гармата Пірса, вторинний електронний помножувач, магнітне поле. Молекулярний та електронний пучки є взаємно перпендикулярними. Статичне магнітне поле з індукцією до 0,2 Тл

використовувалося для розділення за масами продуктів іонізації. Під дією прискорюючого потенціалу 5 кВ продукти реакції витягувалися із області зіткнень і потрапляли на вторинний електронний помножувач (ВЕР-1) з коефіцієнтом підсилення 10^8 . Електронний потенціометр КСП-1 записував мас-спектр.

Вимірювання мас-спектрів позитивно заряджених іонів надає можливість вивчення процесів дисоціативної іонізації молекул в результаті електронного удару. Мас-спектри іонів біомолекул, утворених внаслідок електронного удару, добре відтворюються при енергіях налітаючих електронів, набагато більших за поріг іонізації. Струм пучка електронів складав 0,3 мА. Калібрування мас-спектрометра за масами здійснювалося за допомогою азоту і ртуті.

Серед важливих задач представленої роботи було дослідження абсолютних значень повних та парціальних перерізів формування позитивних іонів молекул нуклеотидних основ нуклеїнових кислот. Визначення величин парціальних перерізів передбачало використання мас-спектрометричного аналізу продуктів взаємодій. Для досягнення цієї мети використовувався мануфактурний мас-спектрометр МИ-1201.

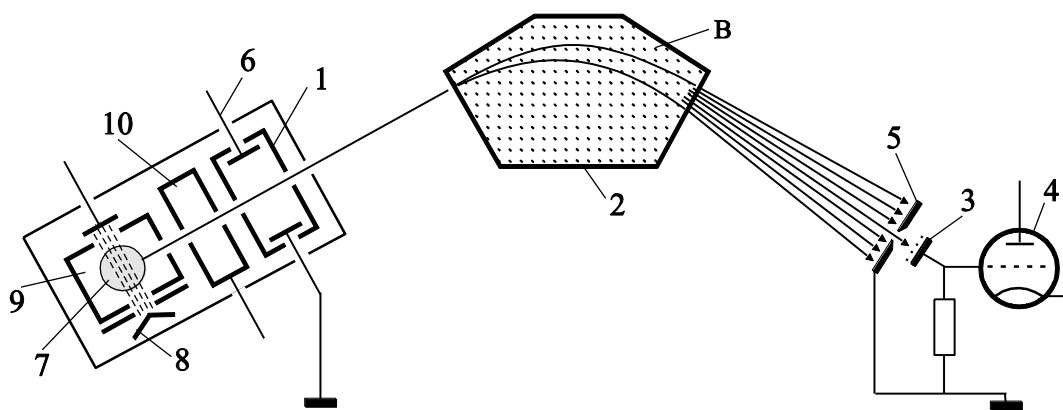


Рис. 2.10. Умовне зображення магнітного мас-спектрометра: 1 – анод, 2 – магніт, 3 – іонний колектор, 4 – постійного струму підсилювач, 5 – вихідна апертура, 6 – коректуючий анод, 7 – пучок молекул, 8 – вольфрамовий катод, 9 – камера іонізації, 10 – формуючий анод, В – індукція магнітного поля.

Вищезазначений мас-спектрометр МИ-1201 відноситься до статичного магнітного типу з секторним аналізатором. Даний прилад характеризується роздільною здатністю ~ 1000 (визначається за співвідношенням $m/\Delta m$, де m – маса іона, Δm – відстань між найближчими мас-спектрометричними лініями) та діапазоном мас – 1 – 5000.

У представлений роботі згаданий прилад МИ-1201 здебільшо використовувався для запису мас-спектрів за умов газової комірки. При визначенні парціальних перерізів іонізації в умовах пучків електронів та біомолекул, що перетинаються цей прилад не давав коректні результати. Навіть з огляду на високі експлуатаційні характеристики, лінійність шкали приладу, МИ-1201 також виявився недостатньо чутливим для запису енергетичних залежностей утворених іонів. Вищенаведене підштовхнуло нас до ідеї виготовлення лабораторного макету з усіма необхідними та достатніми характеристиками для врахування особливостей досліджень електронно-молекулярних зіткнень. У результаті аналізу літературних джерел було виявлено схему мас-спектрометра з подвійним фокусуванням [119], в якій масовий аналіз здійснювався у взаємно перпендикулярних електричному і магнітному полях. Приведена в роботі схема приладу задовільняла умовам експериментальних досліджень і, з врахуванням необхідних змін, була використана при виготовленні нашого лабораторного мас-спектрометричного макету (рис. 2.11). Мас-спектрометрична камера є основною частиною цього макету. Конструкція камери являє собою секційний прямокутний паралелепіпед, який був виготовлений з мідного листа товщиною 1 мм. Відстань між вхідною щілиною S_1 і вихідною щілиною S_2 камери складала 90 мм, а ширина щілин, відповідно, 0,2 мм. Опісля проходження через вхідну щілину колімований пучок молекулярних іонів спрямовувався в область дії електричного та магнітного полів. Радіальне електричне поле було створене за допомогою циліндричного конденсатора. Таким чином, сили з боку електричного і магнітного полів, що діяли на іони у мас-

спектрометричній камері забезпечували подвійне фокусування пучка іонів. Неподалік вхідної щілини в камері був розміщений іонний зонд 5, що надавав можливість вимірювати струм утворених іонів без розділення їх за відношенням m/z .

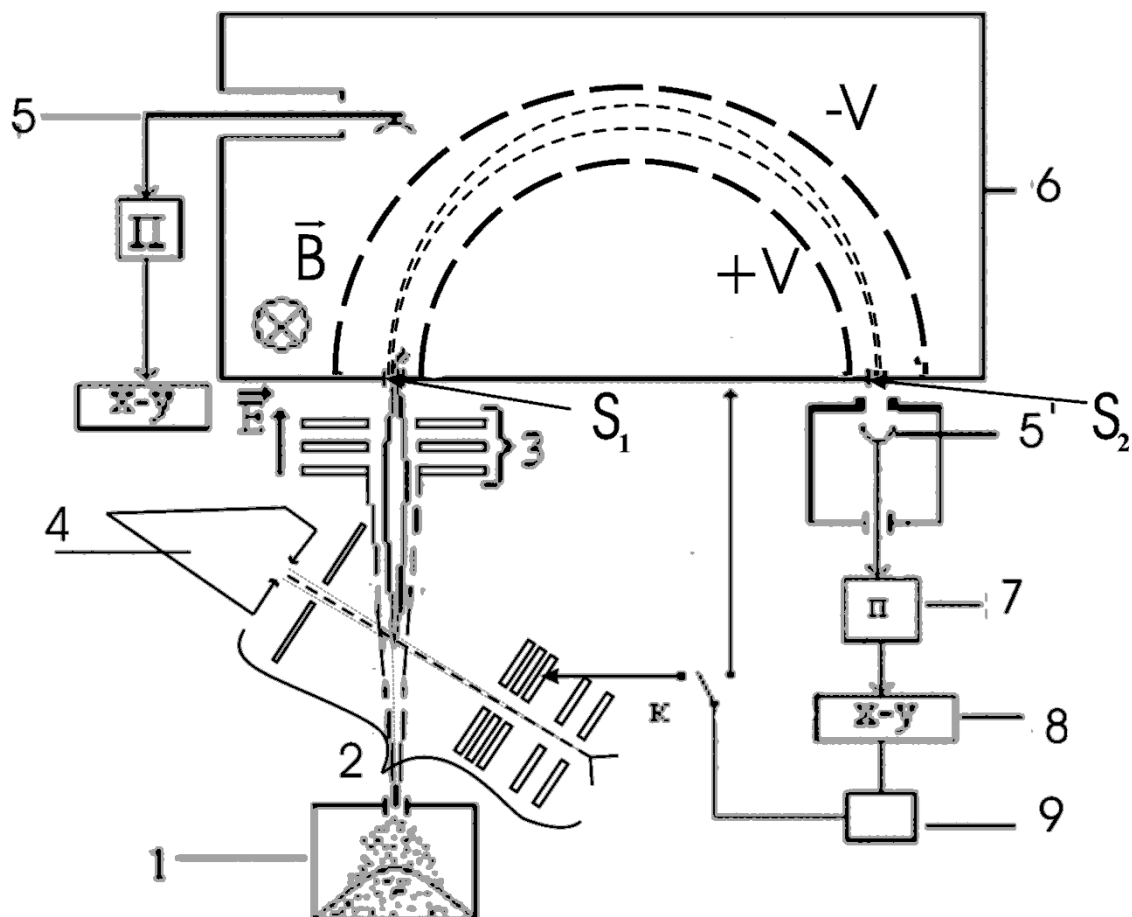


Рис. 2.11. Лабораторний мас-спектрометричний макет зі статичним магнітним полем: 1 – ефузійне джерело молекул; 2 – п'ятиелектродна електронна гармата; 3 – іон-оптична лінза; 4 – циліндр Фарадея; 5, 5' – іонні зонди; 6 – мас-спектрометрична камера; 7 – підсилювач струму; 8 – двокоординатний самописець; 9 – джерело розгортки напруги; К – ключ; +V, -V потенціали на обкладинках конденсатора; S_1 - вхідна щілина; S_2 – вихідна щілина.

У проміжку між полюсними наконечниками електромагніту, зображеного на рис. 2.12, створювалося магнітне поле. Електромагніт складався з трьох основних частин: феромагнітних пластин, двох електричних котушок з обмотками та феромагнітного дроту. Феромагнітні пластини, магнітопровід та осердя

котушок були виготовлені з м'якої сталі. Кожна із котушок мала 3000 витків обмотки мідного дроту діаметром 0,3 мм, особливістю якого було наявність спеціального захисного покриття.

Колінеарно осі електронного пучка був направлений вектор магнітної індукції. Вся конструкція електромагніту була розміщена у вакуумній камері на зйомному фланці. Завдяки такому розміщенню була надана можливість точного виставленн колінеарності осі електронного пучка і силових ліній вектора індукції ***B***.

Максимальне значення індукції магнітного поля в експериментах становило $\sim 1.4 \cdot 10^{-1}$ Тл. Розгортка мас-спектру здійснювалась за допомогою лінійної зміни індукції магнітного поля. Калібрування шкали мас було необхідним елементом мас-спектрометричних досліджень. Використання реперного газу із відомим відношенням m/z є загальноприйнятим підходом для вирішення цієї задачі. В якості реперного газу в даному дослідженні використовувався аргон. Напуск газу до тиску $\sim 1 \cdot 10^{-3}$ Па у вакуумну камеру здійснювався прецизійним пристроєм СНА2. Роздільна здатність мас-спектрометра складала ~ 200 одиниць.

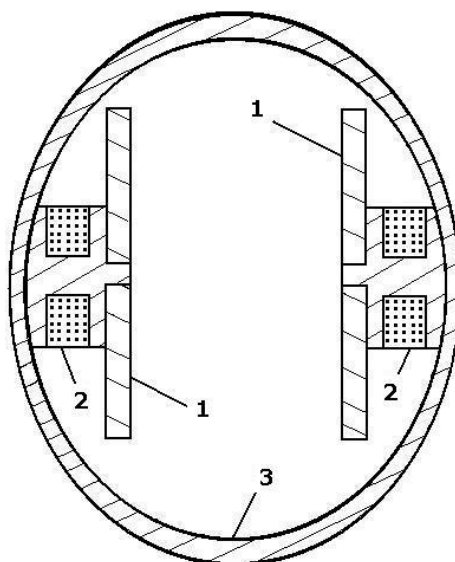


Рис. 2.12. Умовне зображення джерела магнітного поля: 1 – феромагнітні пластини; 2 – електричні котушки з обмотками; 3 – феромагнітний дріт.

2.6. Система реєстрації іонів при визначенні повних перерізів іонізації та методика проведення експериментів

Система реєстрації іонів та керування процесом вимірювань приведена на блок-схемі експерименту (рис.2.13). Вона складалася з електрометричного підсилювача іонного струму (В7-30), перетворювача «струм-частота» для пучка електронів, блоків ступінчатої розгортки прискорюючого потенціалу пучка електронів, комп'ютера, забезпеченого інтерфейсною картою вводу-виводу (РІО 32/32), принтера. Вищезгадана система функціонувала у двох режимах: визначення струмів іонів і електронів за фіксованої енергії пучка електронів (у випадку встановлення абсолютного перерізу іонізації) або у режимі визначення співвідношення значення іонного струму до сили електронного струму при ступінчатому скануванні енергії електронного пучка (при визначенні енергетичної залежності ефективного перерізу іонізації).

Система реєстрації працювала наступним чином. В області перетину електронного і молекулярного пучків проходив процес утворення іонів. Отримавши початковий імпульс, іони здійснювали рух в напрямку приймача 5, в якому був розміщений зонд (іонний осьовий електрод 6 (рис 2.13). На зонд був поданий потенціал величиною 25 В від джерела живлення 9, з полярністю протилежною полярності реєстрованих іонів. Необхідне значення потенціалу було знайдене в окремому експерименті і було достатнім для забезпечення повного збору іонів, що утворилися в місці перетину пучків молекул та електронів. Магнітне поле з індукцією **В** запобігало попаданню на осьовий електрод електронів, розсіяних на молекулах та поверхнях інших електродів. Процес вимірювання сили струму утворених іонів здійснювався за допомогою електронного підсилювача, вихідний сигнал з якого поступав на вхід інтерфейсної карти РІО 32/32.

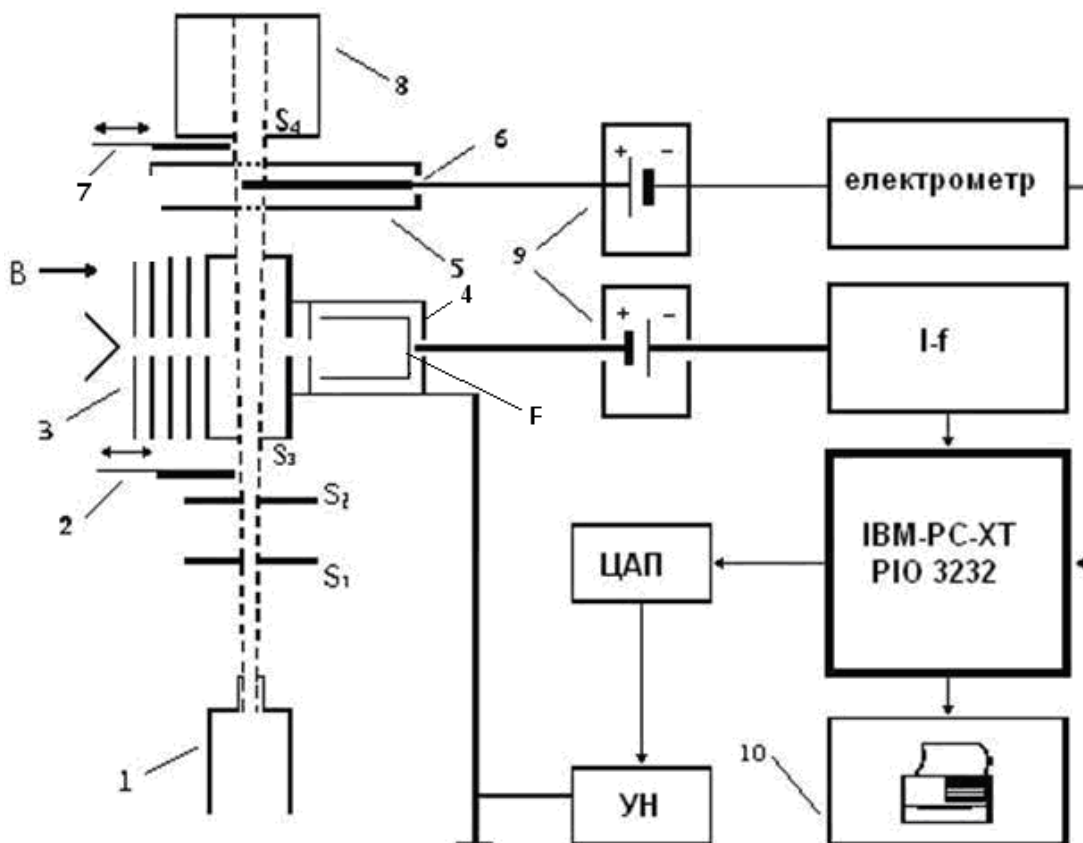


Рис. 2.13. Умовна схема дослідів: 1 – металева ампула із зразком; $S_1 - S_4$ – формуючі апертури; 2, 7 – шибери пучка молекул; 3 – джерело пучка електронів; 4 – охоронний анод; F – приймач електронів; 5 – приймач іонів; 6 – іонний осьовий електрод; 8 – молекулярна пастка; 9 – джерела живлення; 10 – принтер; I-f – перетворювач «струм-частота»; ЦАП – цифро-аналоговий перетворювач; УН – електронний підсилювач.

Електрони пучка уловлювалися приймачем (циліндром Фарадея), на який був поданий негативний потенціал від джерела живлення – 9, відносно охоронного аноду – 4. Негативний потенціал перешкодив проникненню в область пучка молекул вторинних електронів з поверхні F циліндра Фарадея. За допомогою перетворювача «струм-частота», струм в циліндрі перетворювався у частотний сигнал, з подальшим поступленням на вхід інтерфейсної карти РІО 32/32.

Система ступінчатої розгортки прискорюючого потенціалу пучка електронів складалася із генератора імпульсів, цифро-аналогового

перетворювача (АЦП) типу Ф-4800, лічильника імпульсів та вихідного підсилювача напруги. Порядок роботи системи розгортки (кількість циклів, діапазон і крок зміни потенціалу), інформація з якої поступала на вхід карти РІО 32/32, визначалася за спеціальною програмою.

Процес досліджень складався із чотирьох стадій.

На першій стадії проводилися контрольні досліди. Для забезпечення досягнення цієї мети вакуумна камера за допомогою прецизійної напускної системи заповнювалася важким газом гексафторіду сірки SF_6^- до значення величини тиску $1,3 \cdot 10^{-3}$ Па. Опісля запускалася в дію електронна гармата і фіксувався резонанс для процесу утворення негативно заряджених іонів молекул газу SF_6^- . Енергетичне положення резонансу було використане з метою калібрування шкали енергій електронів, а його ширина на пів-висоті – для визначення величини енергетичної неоднорідності $\Delta E_{1/2}$ електронного пучка.

На другій стадії у камері зіткнень був створений вакуум $\sim 1 \cdot 10^{-6}$ Па. Було введене в дію джерело пучка молекул (шибер 2 – відкритий, шибер 7 – закритий) та були визначені енергетичні залежності абсолютних величин перерізів утворення іонів біомолекул від енергії електронів.

На третій стадії досліджувалися повні перерізи утворення позитивних та негативних іонів молекул.

На четвертій стадії проводилися мас-спектрометричні дослідження та визначалися абсолютні значення перерізів утворення молекулярних іонів і позитивно заряджених фрагментів молекул.

2.7. Джерела ультрафіолетового випромінювання.

У представленій роботі був досліджений вплив на біологічні системи когерентного і некогерентного УФ випромінювання. У якості джерела когерентних променів був застосований лазер на молекулярному азоті ЛГІ-21. Випромінюванням оптичного квантового генератору є ультрафіолетове світло з

довжиною хвилі 337 нм. Особливістю роботи вищеприведеного лазера є можливість генерації виключно в імпульсному режимі. Паспортні характеристики ЛГІ-21: середня потужність випромінювання ~ 3 мВт, імпульсна потужність становить 1,6 кВт, частота імпульсів – 100 Гц, тривалість імпульсу – $7 \cdot 10^{-9}$ с, інтенсивність випромінювання – $1,2 \cdot 10^2$ Вт/м²,

У якості джерела некогерентного світла була використана газорозрядна спектральна лампа ДВС-25. Зазначена воднева лампа випромінює інтенсивний суцільний спектр у діапазоні від 360 нм до межі пропускання віконця лампи. Густина розрядного струму даної лампи складає десятки А/см², а потужність світлового потоку – 25 Вт. На використуваній в роботі довжині хвилі 337 нм, потужність становить орієнтовно 8 Вт/м².

Вплив наведених джерел УФ-випромінювання на біологічно важливі молекули експериментально був вивчений *in vivo* та *in vitro*. Опісля опромінення досліджувані плівки з напиленими біомолекулами були досліджені методом інфрачервоної абсорбційної спектроскопії. Оцінювання стану ДНК в живих клітинах здійснювалося за динамікою регенерації тканин *Triturus Vulgaris*.

2.8. Методика отримання плівок біомолекул.

Застосоване нами поняття «біомолекул у конденсованому стані» в даному дослідженні відноситься також і до тонких плівок азотистих основ нуклеїнових кислот, що були отримані завдяки методу квазітермічного напилення у вакуумі. Плівковий стан надає можливість спостереження проявів міжмолекулярних взаємодій у досліджуваних молекулах.

Методика квазірівноважного термічного вакуумного напилення з використанням установки ВУП-5 (рис. 2.14) була використана для отримання плівок біомолекул. Процес осадження тонких плівок на підкладку проходить в умовах вакууму ($\sim 5 \cdot 10^{-5}$ Тор).

Як зазначено, всі вихідні препарати досліджуваних молекул представляють собою білу порошкоподібну речовину. З метою здійснення переходу цієї речовини у газоподібний стан використовується ефузійна модель комірки Кнудсена. Система колімуючих щілин в даному випадку не використовується оскільки плівка повинна мати однакову товщину. Випаровування здійснюється завдяки джоулевому нагріванню. Свіжий скол КСІ служить підкладкою плівки, яка є прозорою у спектральному діапазоні 0,21 – 30 мкм. Наголосимо на тому, що нормальна адгезія плівки забезпечується саме на свіжому сколі і без зазнавання тріщин. Величина робочого тиску під ковпаком вакуумної камери підтримувалася системою насосів і дорівнювала $5 \cdot 10^{-5}$ Тор. Нагріта, до певної температури, при якій була встановлена термодинамічна рівновага, пара молекул досліджуваної нами речовини конденсувалася на підкладці з кімнатною температурою.

Товщина плівок контролювалася за допомогою інтерференції відбитих лазерних променів. На невеликій частині підкладки було закріплено дзеркало, на якому теж відбувався процес осадження плівки. Промінь монохроматичного світла від He-Ne лазера відбивався від поверхні дзеркальця з напиленою плівкою і потрапляв на кремнієвий детектор, який служив в якості фотоприймача. Один з променів відбивався від поверхні дзеркальця, інший – від поверхні плівки осадженої на дзеркальце. Спостерігалось явище інтерференції між двома відбитими променями. Залежно від товщини плівки (різниці оптичного ходу) мав місце мінімум або максимум в інтенсивності відбитого світла, який відповідав, мінімальним або максимальним показам на детекторі. В наших експериментальних дослідженнях напилення плівок припинялося при досягненні п'ятого максимуму, що відповідав товщині плівок в ≈ 1 мкм.

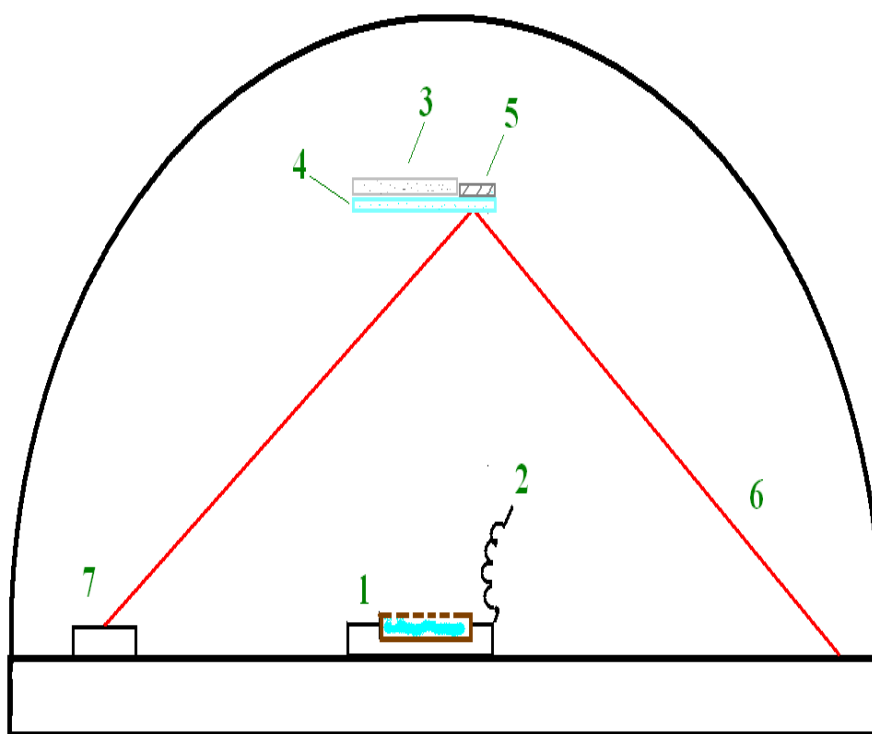


Рис. 2.14. Умовне зображення досліду для отримання плівок досліджуваних препаратів: 1 – танталова комірка; 2 – температурний датчик; 3 – основа; 4 – плівка; 5 – скло; 6 – лазерний He-Ne промінь; 7 – фотодетектор.

2.9. Інфрачервона абсорбційна спектроскопія плівок основ нуклеїнових кислот.

Плівки азотистих основ нуклеїнових кислот, отриманих за допомогою вакуумного квазітермічного напылення, були досліджені методом абсорбційної інфрачервоної спектроскопії у діапазоні хвильових чисел (величин зворотних довжинам хвиль) від 3600 до 1100 cm^{-1} . Спектри поглинання плівок основ у ІЧ-діапазоні досліджувались за допомогою спектрометра ІКС-31. Приведений спектрометр є однопроменевим приладом, що здійснює відносні вимірювання монохроматизованого потоку випромінювання методом неперервної зміни хвильового числа. Реєстрація спектру була проведена за допомогою самописця. Спектрометр працював в інтервалі чисел від 12500 по 400 cm^{-1} .

Вихідна величина потоку випромінювання регулювалася зміною щільності як механічним, так і автоматичним способом.

У складі освітлювача спектрометра були присутні змінні елементи: джерело випромінювання, плоске дзеркало і постійні елементи: два плоских і одне сферичне дзеркала. Встановлене на осі електродвигуна, дзеркало здійснювало амплітудне моделювання потоку випромінювання із частотою 12,5 Гц. Досліджуваний об'єкт був встановлений в площині відображення джерела випромінювання перпендикулярно осьовому променю пучка. В місці установки об'єкта апертурний кут складав 5° . Змінний масив використовувався для узгодження оптичних схем монохроматора та освітлювача, а також для забезпечення герметизації внутрішнього об'єму освітлювача. Масив з фтористого літію був використаний в спектральній області від 12500 по 2000 см^{-1} , а масив з бромистого калію, відповідно, в області від 2000 по 400 см^{-1} .

2.10. Контрольні досліди і невизначеності експериментів

Прецизійні вимірювання функцій іонізації та абсолютних величин її перерізів є можливими лише за неухильного виконання ряду умов при врахуванні і мінімізації різноманітних спотворюючих факторів. Саме для досягнення цієї меті були проведені контрольні досліди, що передували основним експериментальним вимірам. У цих дослідах були досліджені і проаналізовані: умова однократності зіткнень; зміни геометричної форми пучка електронів при зміні їх енергії; поверхнева вторинна електронна емісія; калібрування шкали енергій електронів пучка; вимірювання концентрації молекулярного пучка та стабільність його інтенсивності; термічна стійкість будови молекул препаратів при їх нагріванні.

Достатнім критерієм для виконання умови однократності зіткнень була наявність лінійних залежностей результатів реакцій (утворення позитивних та

негативних іонів) при зміні сили струму пучка електронів та концентрації молекул [119]. У тестових дослідах нами було однозначно продемонстровано, що вищезазначені лінійні залежності із похибкою в 5% спостерігаються для величин концентрації молекул $(2 - 9) \cdot 10^{10} \text{ см}^{-3}$ та значень струмів електронного пучка $(0,5 - 5) \cdot 10^{-6} \text{ А}$. Абсолютно всі виміри проводилися виключно в межах вищенаведених значень струмів і концентрацій.

Для мінімізації впливу вторинної електронної емісії із поверхонь електродів, насамперед, з електродів A_6 і F (рис. 2.5) вживалися відповідні заходи. Зокрема, приймач електронів, що був вироблений у вигляді продовгуватого порожнистого циліндра, отримував позитивний потенціал відносно електрода A_6 . Площа діафрагми останнього зазначеного була набагато більшою від площі перерізу електронного пучка, а саму діафрагму безпосередньо закривала сітка з прозорістю 95%.

Геометрична форма електронного пучка не змінювалася завдяки створеному повздовжньому магнітному полю.

Спосіб калібрування шкали енергій електронів розглянуто детально в п. 2.3.

Стабільність інтенсивності пучка молекул була забезпечена шляхом використанням високостабілізованого живлення нагрівача контейнера контролювалася протягом всього експерименту за значенням величини іонного струму. Відхилення сили струму іонів від його середніх значень складало 5%.

Рівень максимальної температури контейнера із досліджуваними взірцями в процесі вимірювань становив 405 K, що не перевищував температуру їх фрагментації та гарантував незмінність структурної будови молекул зразків при їх нагріванні в джерелі молекулярного пучка.

У порівнянні наших вимірювань енергетичних залежностей перерізів іонізації із надійними даними інших авторів [297, 298] (рис. 2.19, 2.20) визначалася, в загальному, оцінка коректності методики. Результат такого співставлення дозволяє нам зробити висновок про надійність використаних методів вимірювання. Коректність вимірів визначалася ступенем узгодженості

мас-спектрометричних результатів отриманих для реперного газу на нашому мас-спектрометричному макеті, на приладі МІ-1200 та з даними NIST Chemistry WebBook. Як можемо побачити на рис. 2.20, одержані нами результати для ліній однозарядного і двозарядного іонів ізотопу Ar^{40} хімічного елемента аргону досить добре узгоджуються із відомими даними [158].

Величини експериментальних похибок (Δx) були визначені шляхом розрахунків середньоквадратичної невизначеності (ΔS_n) за результатами серії із п'яти вимірів:

$$\Delta x = \Delta S_n \cdot t_{0,9}, \quad (2.5)$$

де $t_{0,9}$ – коефіцієнт Стюдента з надійністю 0,9.

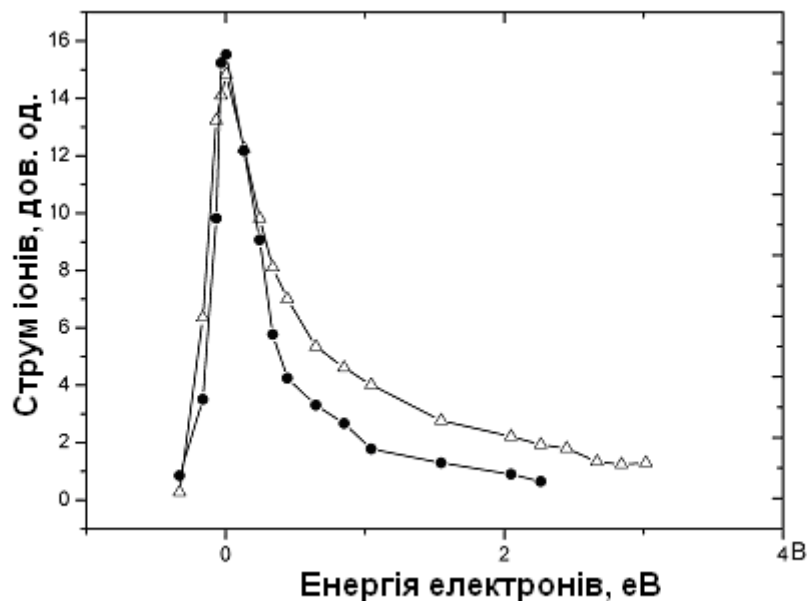


Рис. 2.18. Вихід іонів SF_6^- (у відносних одиницях), ● – дані роботи [297]; △ - результат представленої роботи.

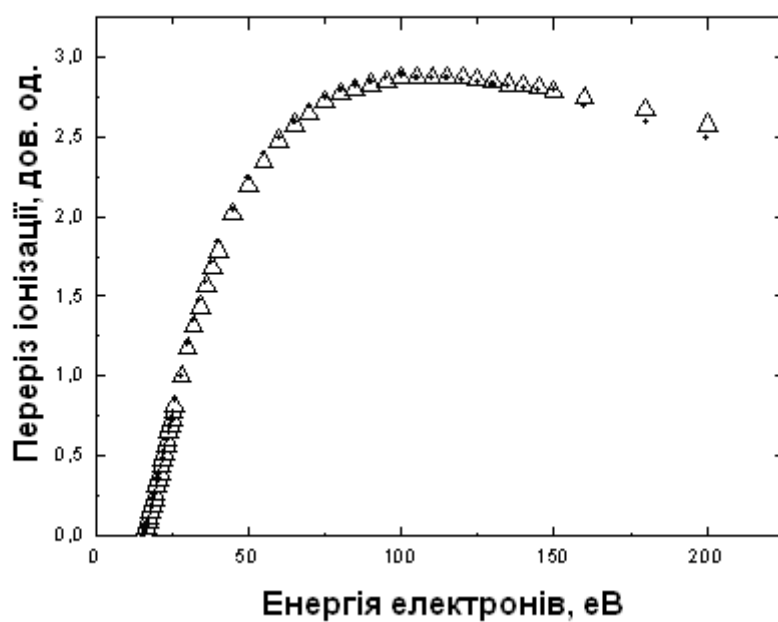
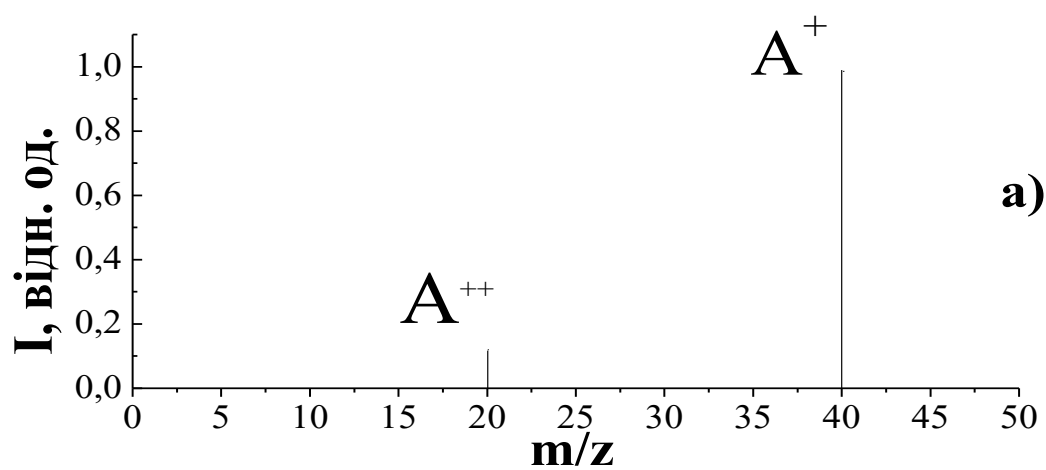


Рис. 2.19. Функція іонізації молекули N_2 ,

● – приведені дані роботи [298]; \triangle - результат представленої роботи.



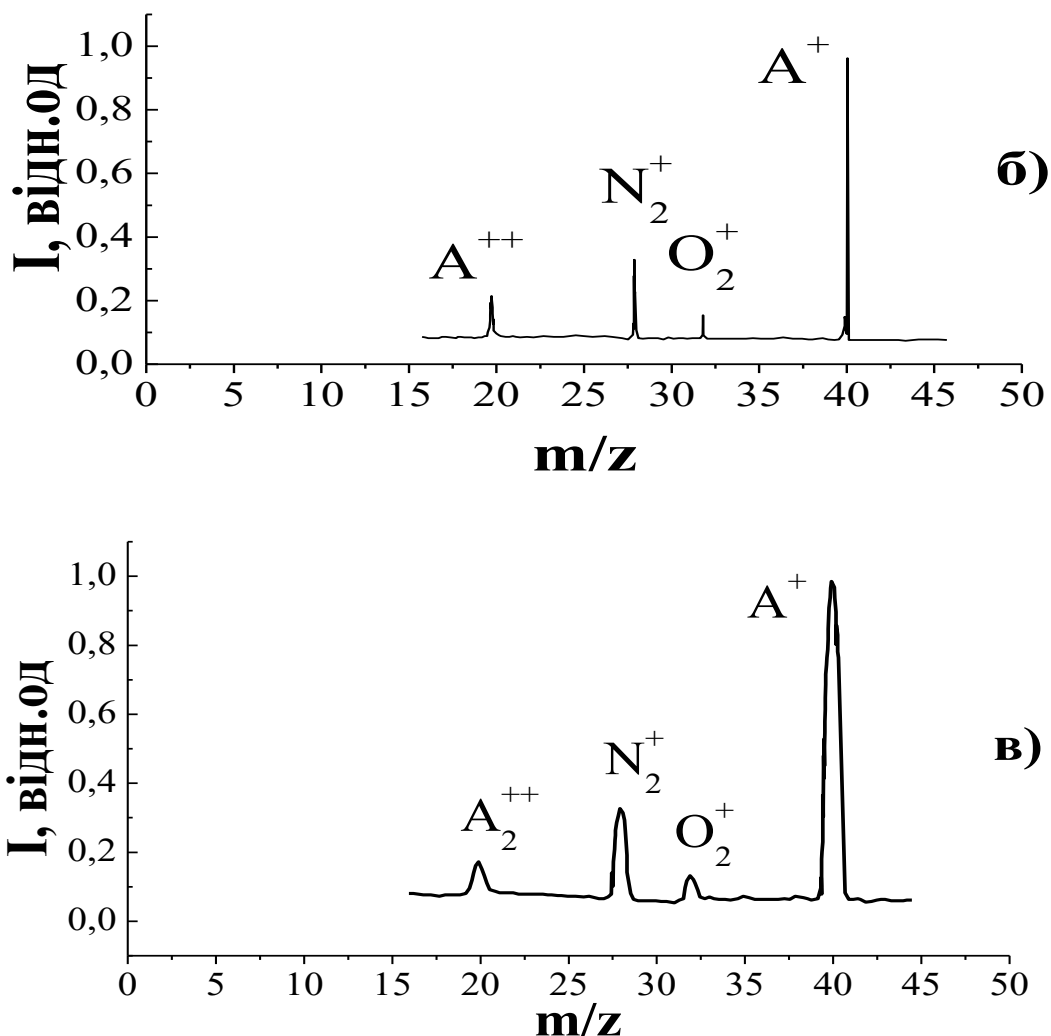


Рис. 2.20. Мас-спектри аргону Ar^{40} за величини енергії електронів 95 еВ:

а) – дані NIST [158]; б) – результати представленої роботи, отримані на приладі МІ-1201; в) – результати представленої роботи, які були отриманими на лабораторному мас-спектрометричному макеті.

Відносна похибка, яка була визначена за допомогою виразу $\Delta y = \Delta x/x \cdot 100\%$, складала: $\sim 9\%$ – при вимірюванні енергетичних залежностей перерізів іонізації; $\sim 21\%$ – для визначення абсолютних значень перерізів іонізації; $\sim 10 - 15\%$ – для ординат мас-спектрів. Вищенаведена похибка в припороговій області зростала в 1,5 – 2 рази внаслідок невеликих величин корисних сигналів. Похибка при фіксуванні довжини хвилі в дослідженнях ІЧ-спектрів плівок біомолекул не перевищувала величину 1 %.

Висновки до розділу 2.

1. Створена сучасна експериментальна установка з електронним і молекулярним пучками, що перетинаються, з метою дослідження процесів збудження молекул та утворення позитивних і негативно заряджених іонів молекул азотистих основ нуклеїнових кислот. Серед можливостей представленої установки: визначення повних і парціальних перерізів утворення позитивно заряджених іонів; вимірювання спектрів випромінювання; визначення абсолютних величин перерізів утворення негативних іонів; дослідження мас-спектрів позитивних іонів. Приведений детальний опис основних вузлів експериментальної установки.

2. Розроблені та опрацьовані оригінальні методики отримання пучків молекул та визначення їх концентрацій зі встановленим діапазоном температур, в якому уникнена термічна фрагментація молекул азотистих основ: цитозину, тиміну, урацилу, гуаніну та аденіну.

3. Проведені контрольні досліди із визначення функцій іонізації молекул SF_6 та N_2 , дослідження мас-спектру аргону: одержані результати показали задовільну ступінь узгодженості з даними отриманими з літературних джерел. Детально визначені та проаналізовані оптимальні умови проведення експериментів.

4. Високий рівень технічних характеристик створеної експериментальної установки, надійність застосованих методик і методології проведення досліджень забезпечували високу надійність отриманих результатів.

5. Можливість загального порівняння особливостей дії на досліджувані біомолекули низькоенергетичного випромінювання корпускулярної (пучок електронів) та хвильової (УФ-світло) природи в одному і тому ж енергетичному діапазоні.

РОЗДІЛ 3

ПРОЦЕСИ ЗБУДЖЕННЯ АЗОТИСТИХ ОСНОВ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ ПОВІЛЬНИМИ ЕЛЕКТРОНАМИ

Вступ до розділу 3

У роботі вперше експериментальним шляхом проведено дослідження процесів збудження біомолекулярних компонентів нуклеїнових кислот у газовій фазі низькоенергетичними електронами в діапазоні енергій від 0 до 300 еВ. Вивчені спектральні характеристики піримідинових (урацил, тимін, цитозин, метилцитозин) і пуринових (аденін, гуанін) азотистих основ. Досліджені спектри люмінесценції азотистих основ та результатів їх дисоціативного збудження електронним ударом у діапазоні енергій електронів від 200 до 600 нм. Виміряні функції збудження (енергетичні залежності перерізів збудження), біомолекул. Проведені розрахунки параметрів фізичної структури азотистих основ нуклеїнових кислот. Отримані результати опубліковані у статтях [95,96,124,129,131,133,137,138,141,144,320,333] та в матеріалах конференцій [153,155,159,160,162,164,165,172,174,177,178,386–396,399–403].

3.1. Характеристика досліджуваних мішеней.

У якості об'єктів для дослідження були вибрані важливі компоненти генетичних макромолекул нуклеїнових кислот – азотисті основи цитозин, тимін, урацил, гуанін та аденін. Нуклеїнові кислоти – це важливий клас високомолекулярних сполук, що виконують функції збереження та передачі генетичної інформації, а також визначають вид, форму, склад живої тканини і її функції [182–184]. За структурою ці молекули можна поділити на два великих класи – ДНК (дезоксирибонуклеїнова кислота) та РНК (рибонуклеїнова кислота).

Вищенаведені кислоти є полінуклеотидамив (полімерами нуклеотидів) та складаються із великої кількості мономерів-мононуклеотидів. Полінуклеотиди є трикомпонентними сполуками, себто, складаються з азотистої основи (пуринової чи піримідинової), вуглеводу (пентози: рибози або дезоксирибози) та ортофосфорної кислоти. Похідними піримідинової основи є *цитозин*, *тимін* та *урацил*, похідними пуринової – *аденін* і *гуанін*. Відповідні структурні формули досліджуваних об'єктів приведені на рис. 3.1 – 3.2.

Цитозин. Структурна формула $C_4H_5N_3O$. Альтернативна назва 2-окси-6-аміно-піримідин. Молярна маса 111.102 г/моль. Температура повної руйнації молекулярної структури (температура плавлення) ~ 595 К [182]. Цитозин з рибозою формує нуклеозид цитидину і є комплементарний гуаніну, утворюючи з ним три водневі зв'язки. Входить в склад РНК і ДНК.

Тимін. Структурна формула $C_5H_6N_2O_2$. Альтернативна назва 5-метил-2,4-діоксипіримідин. Молярна маса 126.113 г/моль. Температура плавлення ~ 600 К [182]. Тимін з дезоксирибозою утворює нуклеозид тимідину. Тимін комплементарний аденіну, утворюючи з ним два водневі зв'язки. Входить в склад ДНК. В РНК тимін відсутній.

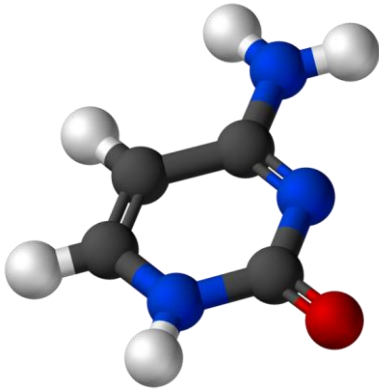
Урацил. Структурна формула $C_4H_4N_2O_2$. Альтернативна назва 2,4-діоксипіримідин. Молярна маса 112.08676 г/моль. Температура плавлення ~ 608 К [182]. Володіє амфотерними (і кислотними, і основними) властивостями, здатний до таутомерії. Входить в склад РНК. В ДНК урацил відсутній.

Аденін. Структурна формула $C_5H_5N_5$. Альтернативна назва 6-амінопурин. Молярна маса 135.13 г/моль. Температура плавлення ~ 633 К [182]. У ДНК аденін зв'язується із тиміном за допомогою двох водневих зв'язків, що допомагає стабілізувати будову нуклеїнової кислоти. У рибонуклеїновій кислоті аденін зв'язується з урацилом.

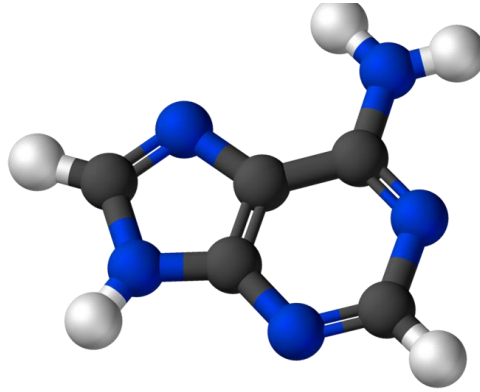
Гуанін. Структурна формула $C_5H_5N_5O$. Альтернативна назва 2-аміно-6-оксипурин. Молярна маса 151.13 г/моль. Температура плавлення ~ 633 К [182].

Формує нуклеозид – гуанозин. Гуанін є комплементарний цитозину, утворюючи з ним три водневі зв'язки. Входить в склад РНК і ДНК.

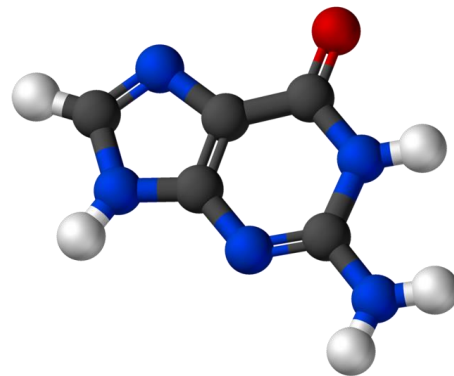
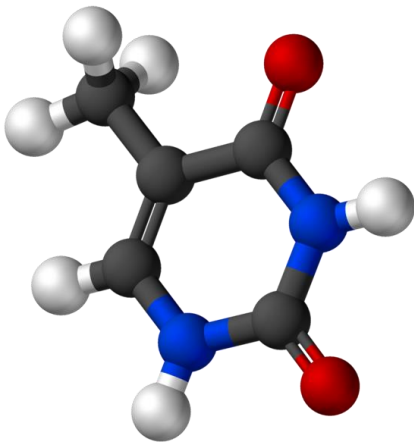
Цитозин



Аденін



Гуанін



Тимін

Урацил

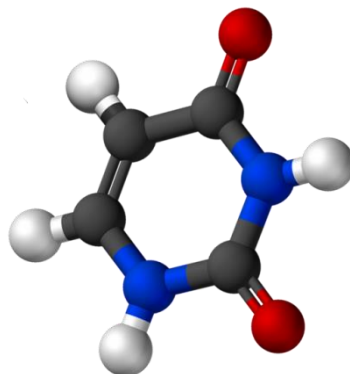


Рис. 3.1 Будова молекул основ нуклеїнових кислот [183].

Зразки молекул, що досліджуються у роботі були виготовлені всесвітньовідомою компанією по виробництву хімічних реагентів, сполук та матеріалів Sigma-Aldrich. Ступінь хімічної чистоти препаратів складав 99,9 %. Відповідно до правил виробника, зразки зберігались в спеціальній упаковці фірми за температури навколишнього середовища $\sim 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Вказані препарати мали вигляд порошкоподібної речовини.

Були отримані молекулярні пучки азотистих основ ДНК і досліджені процеси збудження, іонізації і дисоціації під дією повільних електронів. При постановці цих експериментів був вирішений ще один аспект – отримання молекул нуклеотидних основ у газовому стані.

Основи нуклеїнових кислот довгий час вважались нездатними до випаровування і, відповідно, неможливими до вивчення в умовах ізоляції від навколишнього середовища. Щоб отримати молекули основ у газовому стані, препарати потрібно підігрівати. При цьому з великою ймовірністю можливі процеси дисоціації, розкладу, особливо для канонічних, неметильованих азотистих основ. Однак скрупульозним підбором оптимальних умов (температури, тиску у вакуумній камері) для кожної з основ газоподібний стан молекул і формування їх у пучок вдалося реалізувати.

На сьогоднішній день виділяють наступні ієрархічні рівні будови ДНК: первинна, вторинна і третинна [182–184]. Первинна структура ДНК – це полінуклеотидний ланцюг, мономер якого складається з азотистої основи, дезоксирибози та фосфатної групи (рис.3.2). Енергія зв'язків 2 – 9 еВ. Вторинна структура ДНК – це добре відома подвійна спіраль, базисом якої є водневі зв'язки між комплементарними парами азотистих основ (Вотсон-Криківські пари (рис. 3.3)). Енергія зв'язків 0,12 – 0,3 еВ. Принциповим моментом тут є те, що аденін здатен утворювати Вотсон-Криківські пари лише з тиміном, а гуанін з цитозином.

Саме такий принцип забезпечує збереження і передачу спадкової інформації при поділі клітин. Третинна структура ДНК визначається електростатичними (0,4 – 4 еВ), дипольними (0,04 – 0,09 еВ), Ван-дер-Ваальсівськими (0,04 – 0,08 еВ), гідрофобними (0,04 – 0,1 еВ) та іншими слабкими взаємодіями. Вона визначає спосіб просторової укладки подвійної спіралі, її конформацію. Конформація ДНК є винятково чутливою до найменших змін фізичних та хімічних параметрів середовища.

При взаємодії повільних електронів із молекулярними складовими НК можна очікувати весь спектр фізичних процесів – збудження, дисоціацію, виникнення позитивних і негативних іонів. При енергіях налітаючих електронів, вищих від потенціалу іонізації молекули, можливе утворення позитивно заряджених іонів. При менших енергіях електронів, є імовірність утворення негативних іонів.

Вищенаведені температури плавлення визначалася для нейтральних розчинів препаратів за нормального атмосферного тиску. В умовах високого і надвисокого вакууму є можливою часткова та навіть повна фрагментація молекул й за менших температур. На превеликий жаль, в науковій літературі практично відсутні відомості про дослідження цього явища. Вищезазначений стан згаданої проблеми спонукав нас провести низку додаткових експериментів, метою яких було визначення діапазону температур, за яких фрагментація препаратів була б відсутня. У всіх експериментах циклу для кожного препарату було нами виміряно: функції іонізації позитивних іонів; спектр поглинання водного розчину, мас-спектр іонів.

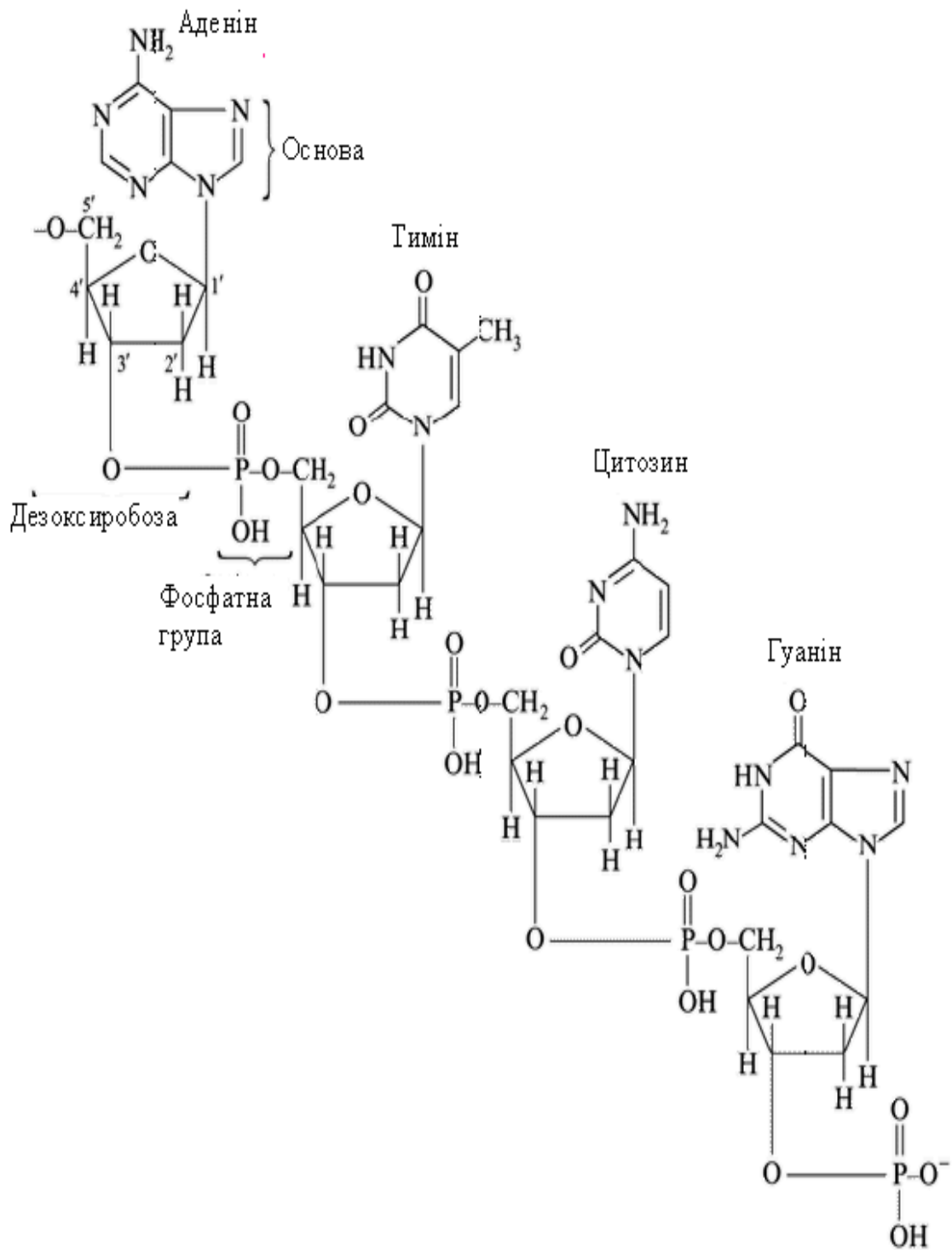
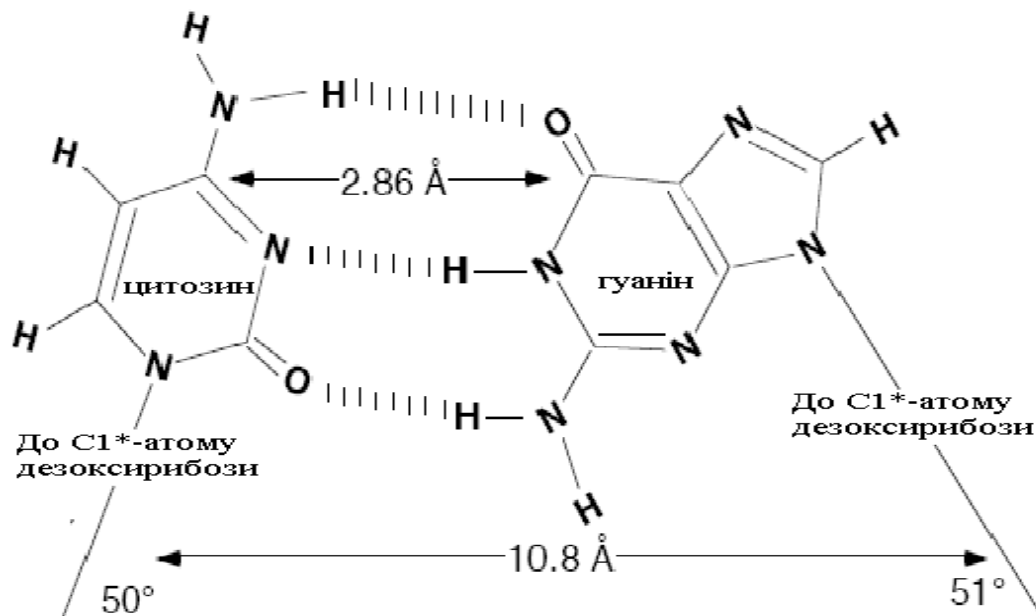
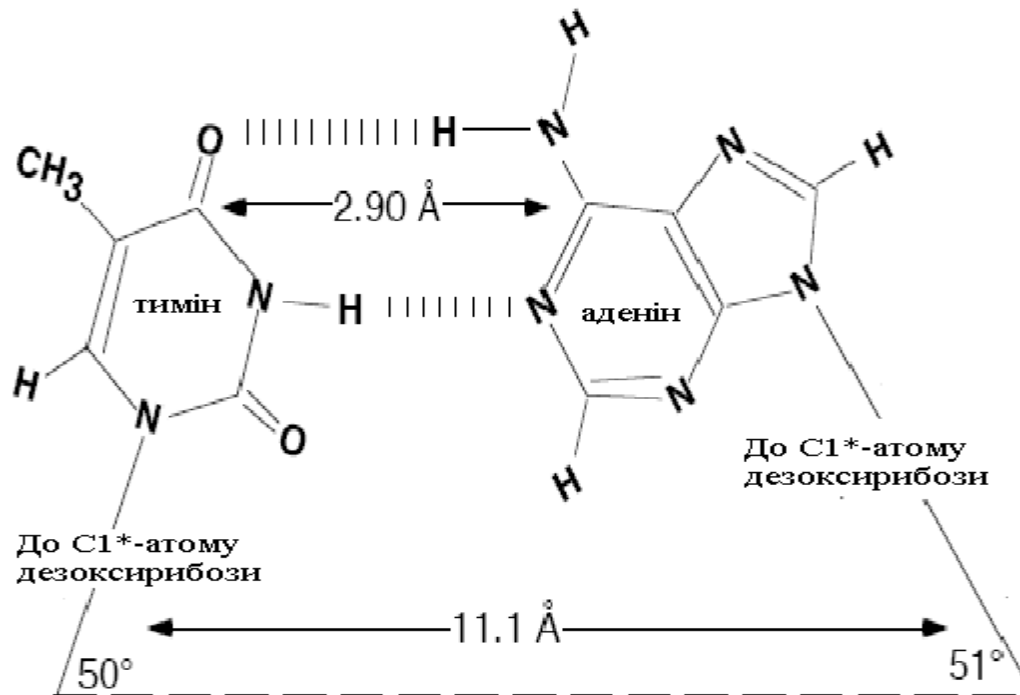


Рис. 3.2. Первинна структура ДНК [183].

a)



б)

Рис. 3.3. Вотсон-Криківські пари [184].

Кожен цикл таких контрольних експериментів передбачав собою наступні складові.

1. Для кожного із препаратів була знайдена саме та мінімальна температура контейнера, за якої концентрація молекул в пучку була належною для проведення вимірів. Також було виявлено, що для зазначених взірців така температура помітно не відрізнялася і становила ~ 370 К. За цієї температури здійснювалися вимірювання енергетичних залежностей повних перерізів утворення іонів та були записані відповідні мас-спектрометричні результати. Після завершення експериментальної стадії з контейнера була відібрана невелика кількість досліджуваної речовини ($\sim 10^{-2}$ г) для формування водного розчину. На основі конденсату пучка молекул був приготовлений інший водний розчин препарату (п. 2.2). Для вказаних розчинів були виміряні спектри поглинання в УФ-області спектру (п. 2.3) та були проаналізовані їх узгодженості з даними літературних джерел.

2. У кожному з наступних експериментальних етапів температура контейнеру піднімалася щоразу на 10 градусів та проводилися вимірювання, що зазначені в п. 1.

У результаті виконання циклу експериментів було встановлено, що починаючи з температури в 420 К, загальні вигляди енергетичних залежностей та відповідних мас-спектрів цитозину, тиміну, урацилу, аденіну і гуаніну отримали тенденцію до змін. Зокрема, максимуми функцій іонізації були зсунуті в область вищих енергій. Також було відмічене зменшення величин інтенсивності мас-спектральних ліній, що відповідають молекулярним іонам. Помітні закономірності в змінах спектрів поглинання водних розчинів взірців, які були проявлені у зменшенні максимумів вказаних спектрів, почали спостерігатися за температур контейнера, більших за 430 К.

Одержані результати надали нам підставу зробити висновки про те, що в молекулах азотистих основ нуклеїнових кислот при досягненні значення температури в 420 К розпочинається термічна фрагментація.

3.2. Збудження молекул піримідинових основ нуклеїнових кислот електронним ударом.

Вивчення процесів збудження та іонізації при зіткненнях електронів із молекулами проводилися на оригінальній експериментальній установці з використанням методу електронного і молекулярного пучків, що перетинаються.

Урацил. У представленій роботі експериментальним чином отримані спектри фотоemisії (люмінесценції) молекул урацилу внаслідок дії електронного удару в діапазоні довжин хвиль 200 – 500 нм для різних енергій бомбардуючих електронів. На рис. 3.4 приведений фотоemisійний спектр урацилу при енергії електронів, що бомбардують, рівній 100 еВ. В спектрі чітко проявлені спектральні смуги з максимумами за таких довжин хвиль: $\lambda\lambda = 486,1; 451,1; 427,3; 421,0; 412,3; 398,0; 387,9; 377,1; 357,3; 344,5; 333,5; 328,4; 317,1; 310,0; 297,2; 277,4; 265,3; 254,0; 241,9; 218,5; 205,5$ нм. Як можна побачити з рис. 3.4, приведені смуги мають комплексний характер, що вказує на їх суперпозиційну природу. Зазначимо, для порівняння, що при фотозбудженні розчинів та полікристалічних плівок азотистих основ спектр їх люмінесценції являє собою плавну широку смугу у діапазоні довжин хвиль від ~ 300 і до ~ 550 нм [73, 109–113, 189, 190]. Здійснити повну коректну ідентифікацію спектральних смуг нелегко. Для урацилу, як і для інших молекул азотистих основ НК, на даний час практично відсутня літературна база даних щодо спектроскопічних характеристик молекулярних смуг випромінювання. Тому в роботі виконана первинна ідентифікація отриманих спектрів, яка базується на експериментальних дослідженнях авторів. Насамперед – на результатах мас-спектрометрії молекул основ, на вимірах енергетичних порогів збудження смуг, на аналізі оптичних функцій збудження, на отриманих даних про ефективні перерізи як повної, так і дисоціативної іонізації основ нуклеїнових кислот електронним ударом, а також - на здійснених авторами квантово-хімічних

розрахунках параметрів фізичної структури молекул нуклеотидних основ при різних впливах. Крім цього, були враховані особливості фотоemisійних спектрів схожих хімічних сполук та довідкові дані [116–122,187].

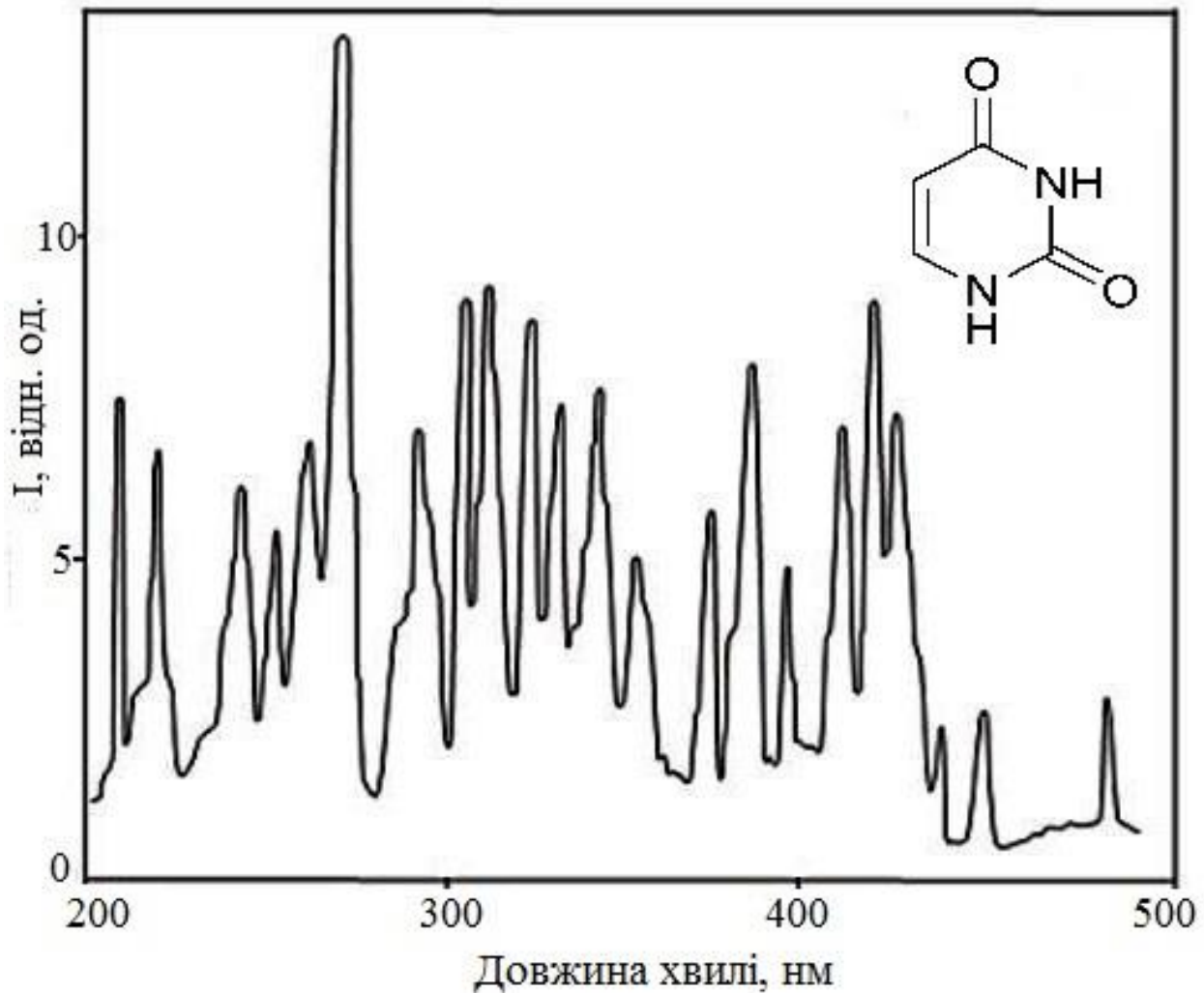


Рис. 3.4. Спектр люмінесценції урацилу за енергії електронів 100 еВ.

Дані мас-спектрометричних аналізів [108] можуть свідчити за високу ймовірність фрагментації молекулярної структури урацилу під дією електронів. Очевидним є те, що частина заряджених фрагментів молекули буде знаходитися в збуджених станах. Водночас і насамперед, слід звернути увагу на саме ті фрагменти, в яких найбільші парціальні перерізи утворення. До їх переліку

входять молекулярний іон – $C_4H_4N_2O_2^+$ і фрагменти $C_4H_4O^+$, $C_3H_2NO^+$, $C_3H_3NO^+$, CNO , CO^+ . Крім цього, шляхи фрагментації молекули урацилу передбачають також і дисоціативне збудження, тобто утворення нейтральних фрагментів, що можуть перебувати в збуджених станах. Перш за все, це фрагменти – H (при розпаді іона $CHNO^+$), C_3H_3NO , $HNCO$ (при розпаді молекулярного іона $C_4H_4N_2O_2^+$) та CO (при розпаді іона $C_3H_3NO^+$). Радіаційний розпад збуджених станів нейтральних і заряджених фрагментів певним чином буде проявлений в емісійному спектрі урацилу.

Так, молекулярна смуга з максимумом за довжини хвилі $\lambda = 205,5$ нм, вірогідно, є суперпозицією декількох емісійних ліній, що належать іону CO^+ (електронний перехід $B^2\Sigma^+ \rightarrow X^2\Sigma^+$, перша негативна система за довжин хвиль $\lambda_m \lambda_n = 206,8; 206,1; 204,2$ нм). Смуга з максимумом за довжини $\lambda = 218,5$ нм є суперпозицією декількох емісій: молекули CO (перехід $A^1\Pi \rightarrow X^1\Sigma^+$ за $\lambda = 217$ нм, четверта позитивна система) та іона CO^+ (електронний перехід $B^2\Sigma^+ \rightarrow X^2\Sigma^+$ за довжини хвилі $\lambda = 219$ нм, перша негативна система). Молекулярна смуга з максимумом за $\lambda = 241,9$ нм належить CO^+ (електронний перехід $B^2\Sigma^+ \rightarrow X^2\Sigma^+$ за довжини $\lambda = 241,9$ нм, перша негативна система). У смугах із максимумами за довжин хвиль $\lambda = 256,4$ нм та $\lambda = 297,2$ нм є присутніми лінії нейтрального фрагмента CO (електронний перехід $A^1\Pi \rightarrow X^1\Sigma^+$ за довжин хвиль $\lambda = 256,2$ нм та $\lambda = 297,3$ нм, третя позитивна система). Спектральна смуга з максимумом за $\lambda = 265,3$ нм, очевидно, являється суперпозицією двох ліній емісії іона CO^+ (перехід $B^2\Sigma^+ \rightarrow X^2\Sigma^+$ за $\lambda = 267,2; 263,9$ нм, перша негативна система). Молекулярна смуга з $\lambda_m = 317,1$ нм вірогідно випромінюється піримідиновим кільцем (переходи $A \rightarrow X$). До формування смуги з $\lambda_m = 328,4$ нм докладаються внески випромінювань фрагментів CN^+ (відповідні переходи $c^1\Sigma \rightarrow a^1\Sigma$) та NCN (електронні переходи $^3\Pi_u \rightarrow ^3\Sigma_g$). За довжини хвилі $\lambda_m = 333,5$ нм випромінює група NCN (перехід $^3\Pi_u \rightarrow ^3\Sigma_g$), а молекулярні смуги з максимумами за $\lambda = 344,5; 357,3$ нм належать $HNCN$ -групі (переходи $A \rightarrow X$). За довжин $\lambda = 377,1$ нм та $\lambda = 388,3$ нм проявляються випромінювання кометної системи ($\lambda = 379,6$ нм)

нейтрального фрагмента CO та системи Герцберга ($\lambda = 389,3$ нм). До формування молекулярної смуги $\lambda = 411,5$ нм причетні фрагменти CO (переходи в системі Герцберга, $\lambda = 412,5$) та водень (H_δ , $\lambda = 410,1$ нм). Інтенсивна лінія за довжини хвилі $\lambda = 421,0$ нм відноситься до фрагменту CH^+ (електронний перехід $A \rightarrow X$, $\lambda = 421,0$ нм). Спектральне випромінювання нейтрального фрагмента CO виражається у молекулярній смузі з довжиною хвилі $\lambda = 427,3$ нм (кометна система з $\lambda = 427,3$ нм), а також в смузі з довжиною хвилі $\lambda = 451,1$ нм (система Ангстрема з $\lambda = 451,0$ нм). Збудження вищенаведених смуг CO та CO^+ під дією електронного удару вивчалися у роботах [123, 125]. Було показано, що в певних молекулярних смугах спектру вірогідним є внесок спектральних ліній серії Бальмера атома водню. Зокрема, це молекулярні смуги з максимумами за довжин хвиль $\lambda = 398,4$ нм ($H_\epsilon = 397,07$ нм), $\lambda = 412,3$ нм ($H_\delta = 410,1$ нм) та $\lambda = 427,3$ нм ($H_\gamma = 434,05$ нм). Найбільш чітко спостерігається випромінювання спектральної лінії H_β атома водню за довжини $\lambda = 486,1$ нм.

На окрему увагу заслуговує найбільш інтенсивна в спектрі молекулярна смуга із максимумом за довжини хвилі $\lambda = 275$ нм. Припускаємо, що фізичний механізм її появи пов'язаний із радіаційним розпадом молекулярного іона урацилу, що знаходиться в першому збудженому електронно-коливному стані в його основний стан. Підставою для цього є наступні фактори. Найпершим є той очевидний факт, що процес утворення молекулярних іонів характеризується найбільшим ефективним перерізом. То ж можна сподіватися, що й перерізи утворення молекулярних іонів в, насамперед найнижчих, збуджених станах, будуть більшими за ефективні перерізи утворення інших заряджених уламків у збуджених станах. Вищенаведеним фактором можна пояснити найбільшу інтенсивність у спектрі молекулярної смуги із максимумом за довжини хвилі $\lambda = 275$ нм. Наступним фактором є виявлення інтенсивного піку за енергії ~ 14 еВ у фотоелектронному спектрі урацилу під час його фотоіонізації. Якщо скласти разом енергію іонізації урацилу, що становить $9,4 \pm 0,2$ еВ та енергію спектрального переходу (для довжини $\lambda = 275$ нм), то й отримаємо сумарне

значення $\sim 13,9$ еВ, що добре узгоджується з енергетичним положенням піка в спектрі фотоелектронів. Як підсумок, можна припустити, що в молекулярного іона нуклеотидної основи урацилу за енергії $\sim 13,9$ еВ існує збуджений електронно-коливний стан, з якого є можливим радіаційний перехід зазначеного іону в основний стан. Вищенаведені фактори приводять пояснення високої інтенсивності молекулярної спектральної смуги із максимумом за довжини хвилі $\lambda = 275$ нм.

Аналізуючи рис. 3.4, можна звернути увагу на те, що в діапазоні довжин хвиль 300 – 440 нм також прослідковуються дві широкі молекулярні смуги, що частково перекриваються і які служать фоном (підложкою) для більш вузьких молекулярних смуг. Найпершу з них можна ототожнити із випромінюванням синглетного стану азотистої основи урацилу, а другу – з радіаційним розпадом триплетного стану молекули цієї основи. Наведена інтерпретація зовсім не суперечить нашим розрахункам, що були виконані за допомогою програмного комплексу HyperChem 8.0 напівемпіричним методом AM1. Можна зазначити, що під час процесу фотозбудження полікристалічних плівок молекули урацилу на широкій молекулярній смузі його люмінесценції проявляються два максимуми за довжин хвиль ~ 350 нм та ~ 420 нм [110]. Максимум за довжини ~ 350 нм характеризує явище флуоресценції, а максимум за ~ 420 нм відноситься до фосфоресценції.

Молекулярна смуга (рис. 3.4) з довжиною хвилі $\lambda = 317,1$ нм може бути випроміненою піримідиновим кільцем (електронні переходи $A \rightarrow X$). У створенні смуги з $\lambda = 328,4$ нм беруть участь випромінювання уламків CN^+ (електронні переходи $c^1\Sigma \rightarrow a^1\Sigma$) та NCN (відповідні переходи $^3\Pi_u \rightarrow ^3\Sigma_g$). Смугою з максимумом при $\lambda = 333,5$ нм випромінює NCN . Для деяких інтенсивних молекулярних смуг урацилу виміряні функції збудження (рис. 3.5 – 3.7).

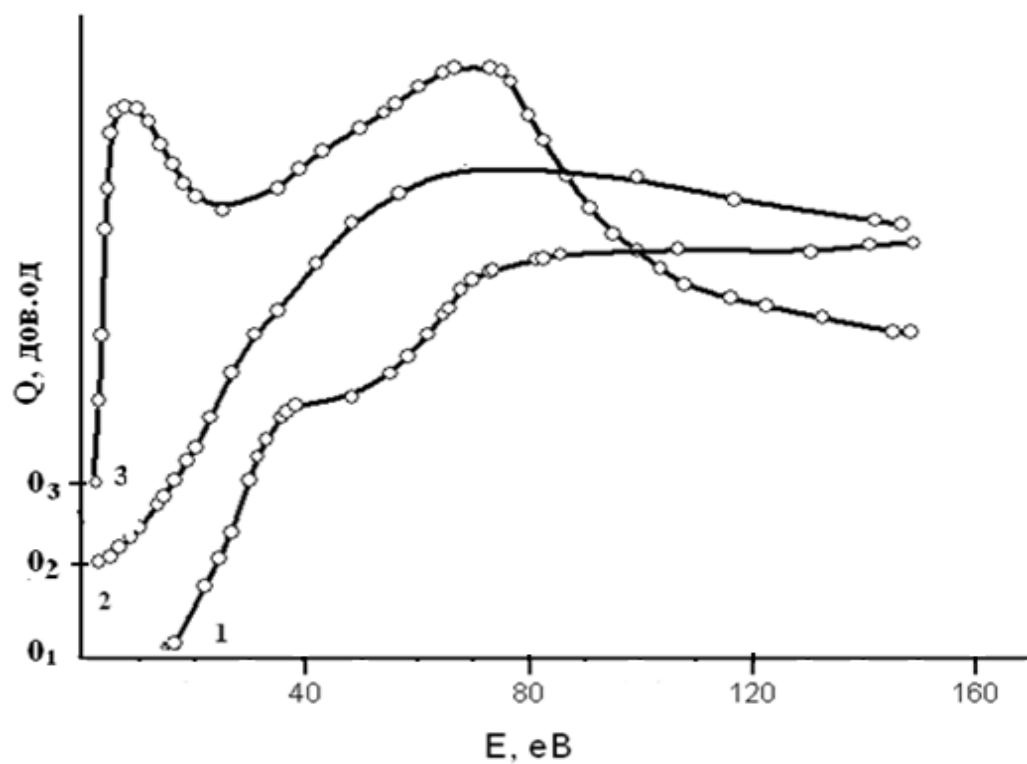


Рис. 3.5. Функції збудження спектральних смуг урацилу: $\lambda = 275$ нм (1); $\lambda = 344$ нм (2); $\lambda = 427$ нм (3).

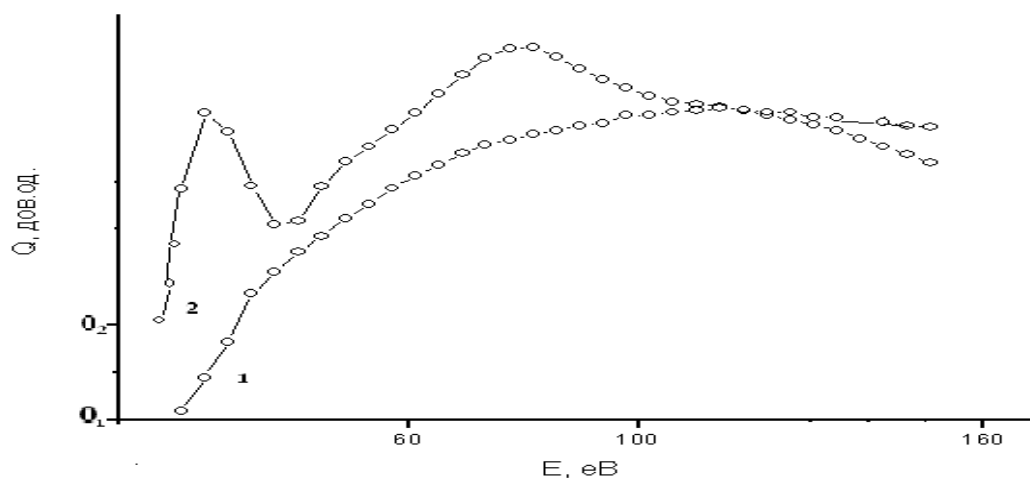


Рис.3.6. Функції збудження спектральних смуг урацилу: $\lambda = 333$ нм (1); $\lambda = 387$ нм (2).

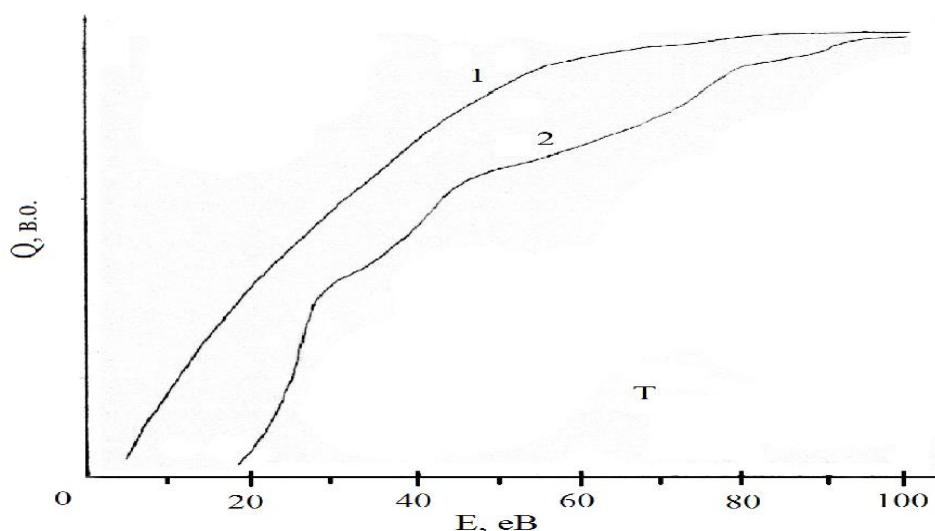


Рис.3.7. Функції збудження спектральних смуг урацилу: $\lambda = 344$ нм (1); $\lambda = 310$ нм (2).

Тимін. В експериментах були отримані спектри випромінювання люмінесценції тиміну в області довжин хвиль 200 – 600 нм, а також залежність ефективних перерізів збудження (функції збудження) спектральних смуг в максимумі від енергії електронів. Енергія електронного пучка сканувалася в межах 0 – 200 еВ. На рис. 3.8 приведено спектр випромінювання тиміну для енергії збуджуючих електронів, що дорівнює 100 еВ. У спектрі виразно проявляються дев'ять молекулярних смуг, максимумами яких знаходяться за таких довжин хвиль: $\lambda_{\text{лм}} = 525,0; 482,2; 432,0; 408,1; 369,6; 333,2; 317,2; 307,5; 286,5$ нм. Встановлено, що інтенсивність смуг залежить від енергії електронів. Характер молекулярних смуг свідчить, що їх природа походження пов'язана із процесами збудження електронно-коливних станів як молекули в цілому, так і її уламків (дисоціативне збудження). Відмітимо, що приведений на рис. 3.8 спектр суттєво відрізняється від спектрів люмінесценції нуклеотидної основи тиміну у розчинах та полікристалічних плівках [73].

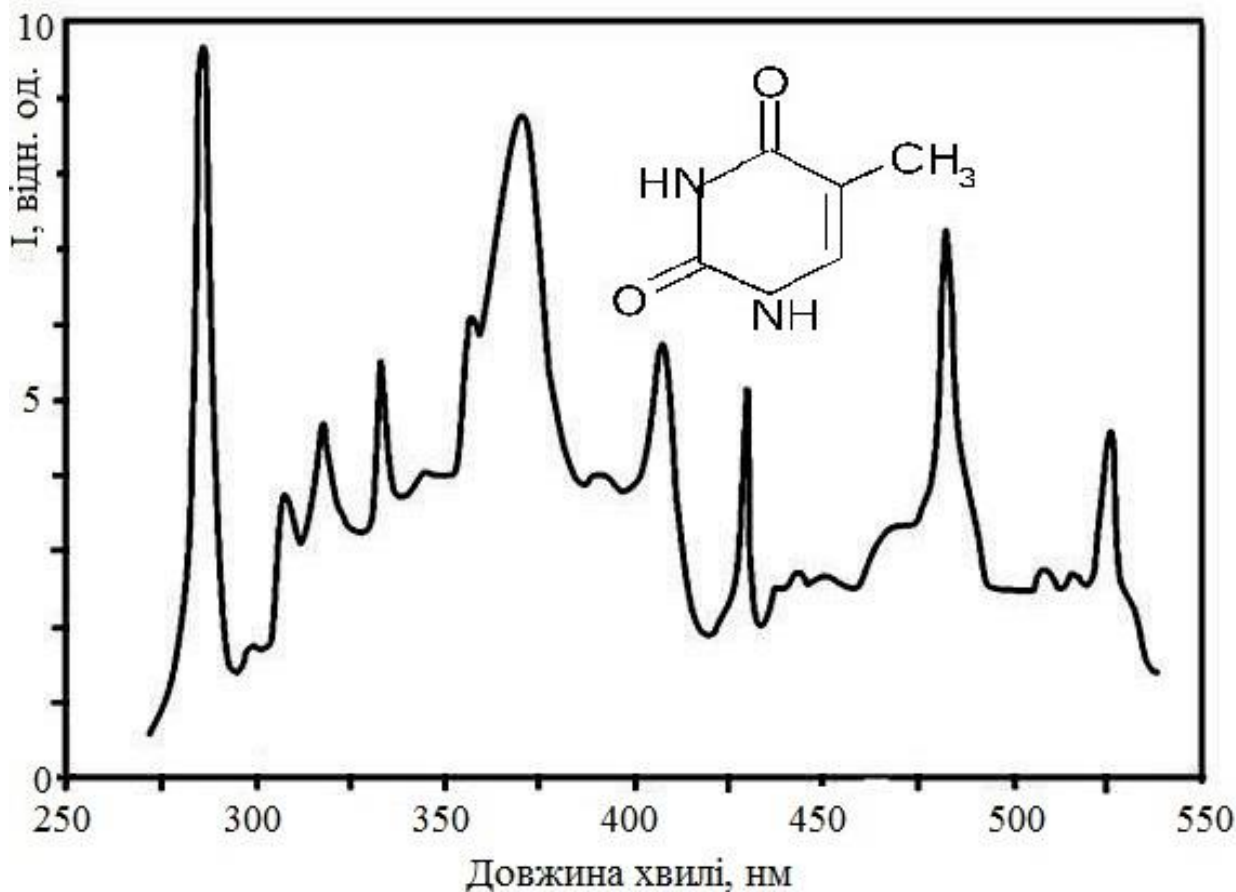


Рис. 3.8. Спектр люмінесценції молекул тиміну за енергії електронів 100 еВ.

Перелік довжин хвиль максимумів смуг і енергетичних порогів їх збудження наведено в таблиці 3.1, а функції збудження найбільш інтенсивних смуг - на рис. 3.9 та рис. 3.10. Виміряна енергія іонізації дорівнює 9,4 еВ, що задовільно узгоджується з даними робіт [118, 120]. Похибка у визначенні порогів збудження і іонізації становить $\pm 0,2$ еВ. Пороги збудження смуг з $\lambda_{\text{лм}} = 408,1$; 432,0 нм не визначались з огляду на низьку інтенсивності смуг в біляпороговій області енергій.

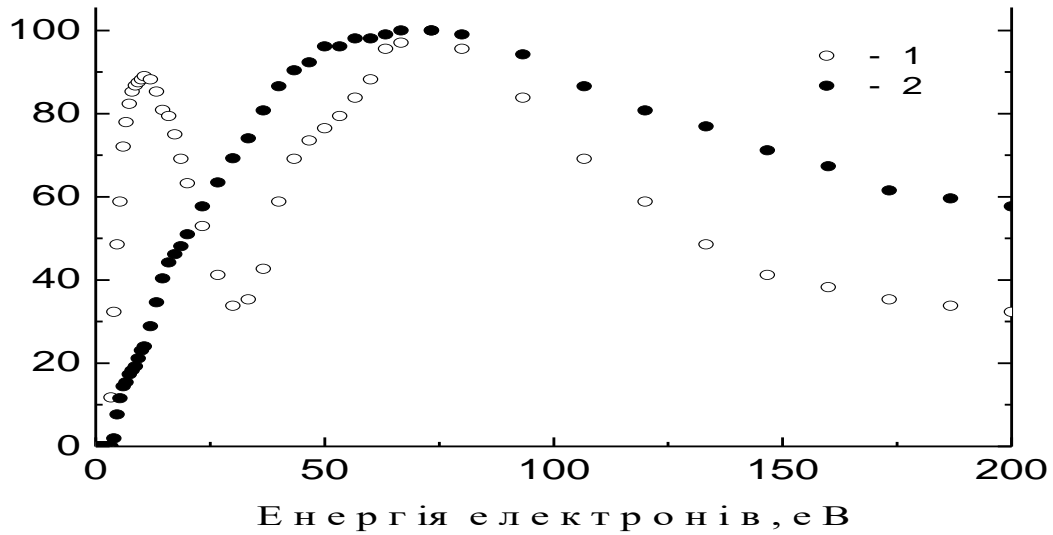
Спектральні смуги тиміну та енергетичні пороги їх збудження

$\lambda_{m, \text{нм}}$	286.5	307,5	317,2	333.2	369.6	482.2	525.0
E_z, eV	13.8	13.0	11.0	10.5	3.5	3.0	27.5

Наведені в таблиці 3.1 спектральні смуги можна розділити по порогам збудження на дві групи: перша група смуг з енергією збудження менше енергії іонізації (9,4 eV), друга - більше енергії іонізації. Функції збудження смуг першої групи мають неоднаковий вигляд (рис. 3.9.а). Так, для смуги з $\lambda_m = 369,6$ нм функція збудження полого з максимумом при енергії 80 eV, що характерно для процесів збудження синглетних станів. Функція збудження смуги з $\lambda_m = 482,2$ нм має максимум поблизу порога, що характерно для порушення триплетних станів. З викладеного випливає, що верхній електронний стан смуги з $\lambda_m = 369,6$ нм є синглетним, з енергією збудження $3,5 \pm 0,2$ eV, а верхній електронний стан смуги з $\lambda_m = 482,2$ нм – триплетним, з енергією збудження $3,0 \pm 0,2$ eV. Автори роботи [121] вважали, що енергія першого синглетного стану молекули тиміну дорівнює $\sim 3,9$ eV, однак, можлива похибка при цьому не вказувалася.

З другої групи молекулярна смуга з $\lambda = 286,5$ нм найбільш інтенсивна. Енергія цього спектрального переходу (4,32 eV) в сумі з енергією іонізації становить 13,7 eV, що в рамках похибки збігається з величиною енергією збудження цієї молекулярної смуги. Крім того, на енергетичній залежності повного перетину іонізації (функції іонізації) (рис. 3.9.б) при енергії $\sim 14,0$ eV спостерігається невеликий злам. Отже можна прийняти, що верхнім станом приведеної молекулярної смуги є іонний стан молекули тиміну. Відзначимо, що максимум функції збудження смуги з $\lambda = 286,5$ нм знаходиться при тій же енергії, що і максимум функції іонізації.

а)



б)

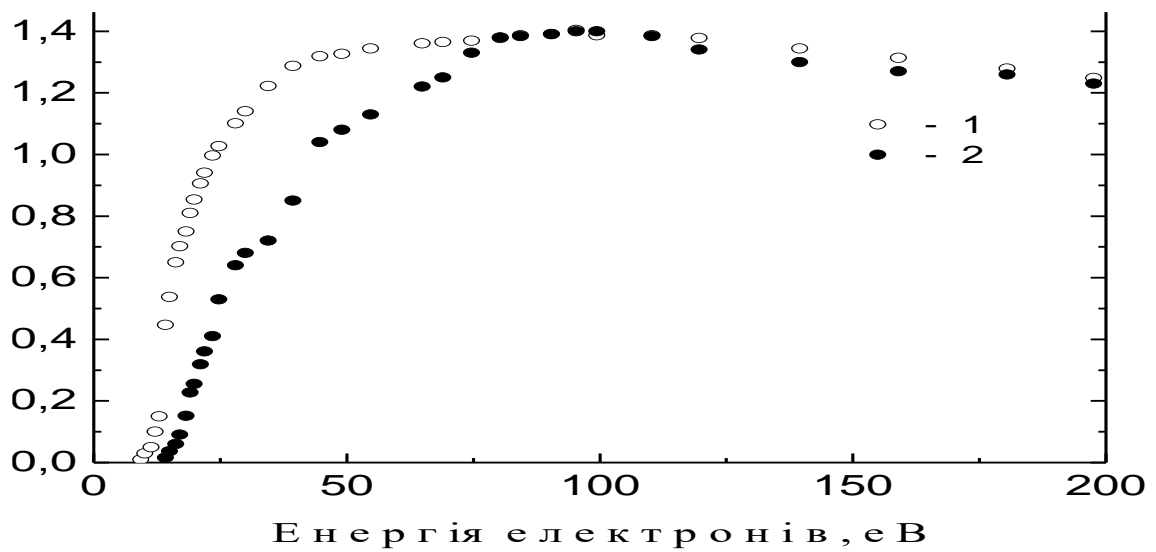


Рис. 3.9. Енергетичні залежності перерізів збудження спектральних смуг тиміну: а) – для $\lambda = 482,2$ нм (1) і для $\lambda = 369,6$ нм (2). б) – повного перерізу іонізації тиміну (1) і перерізу збудження спектральної смуги з $\lambda = 286,5$ нм (2).

Ідентифікація інших смуг скрутна, однак на підставі вище викладеного, а також даних про електронні спектри молекул і енергії зв'язків [116-122, 186],

можна припустити, що смуги з $\lambda\lambda = 307,5; 317,2; 333,2$ нм відображають процеси дисоціативного збудження. Зокрема, смуга з $\lambda_m = 317,2$ нм належить піримідиновому кільцю ($\tilde{A} - \bar{X}$ - перехід), а смугу з $\lambda = 333,2$ нм випромінює NCN-група ($3\Pi_u - 3\Sigma_g$ - перехід).

Спектральна смуга з $\lambda_m = 525,0$ нм і енергією збудження 27,5 еВ відноситься до одного з фрагментів процесу дисоціативної іонізації.

Слід відзначити, що молекула тиміну в порівнянні з молекулою урацилу є менш стійкою до фрагментації під дією електронів. І причиною цього є наявність метильної групи у молекулі тиміну.

Метилцитозин. Спектр метилцитозину приведений на рис. 3.10. Порівнюючи спектри тиміну (рис. 3.8) та метилцитозину, можна відмітити їхню схожість. Зокрема, спектральні смуги з довжинами хвиль $\lambda\lambda = 317,2; 333,2; 369,6; 432,0; 482,2$; нм присутні як у спектрі метилцитозину, так і в спектрі тиміну, а відповідно мають такий самий механізм утворення. Певно, причиною є аналогії у структурі тиміну і метилцитозину: піримідинові кільця і метильні групи. З цього можна зробити висновок, що приєднання метильної групи до молекули цитозину приводить до помітного збурення його електронно-коливної структури, що робить її менш стійкою до електронного удару.

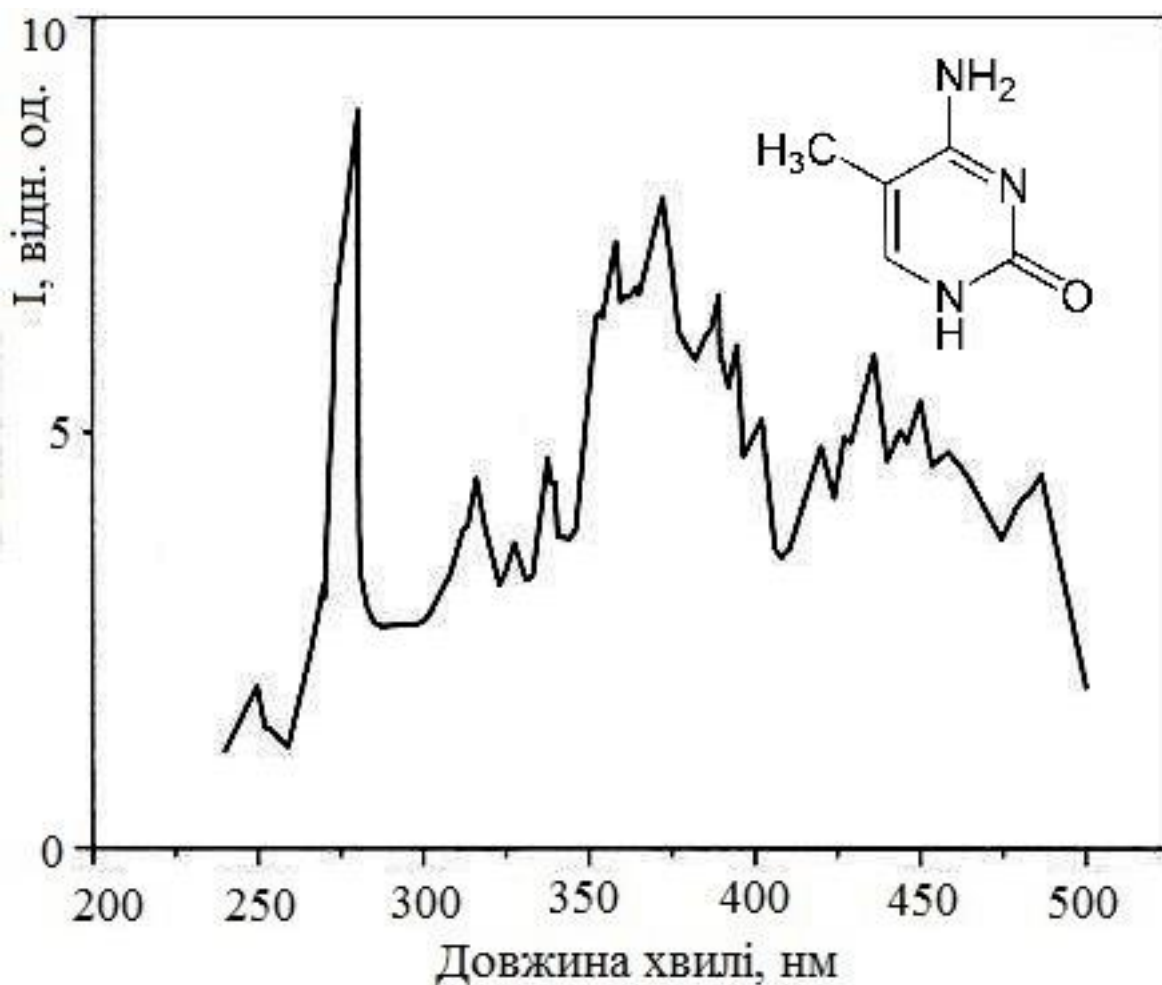


Рис. 3.10. Спектр люмінесценції молекул метилцитозину для енергії електронів 100 еВ.

Для найбільш інтенсивних смуг у спектрах випромінювання (люмінесценції) молекул метилцитозину були досліджені енергетичні залежності перерізів збудження, так звані функції збудження. Приклади функцій збудження приведені на рис. 3.11 та 3.12. Аналіз показав, що збудження молекулярного іону метилцитозину відповідає довжині хвилі максимуму смуги 277 нм. В околі 357 нм імовірно збудження синглетних рівнів цілої молекули, при 322 нм – її фрагментів. Довгохвильова смуга 440 – 460 нм відображає міжсистемні переходи, які призводять до збудження триплетних рівнів.

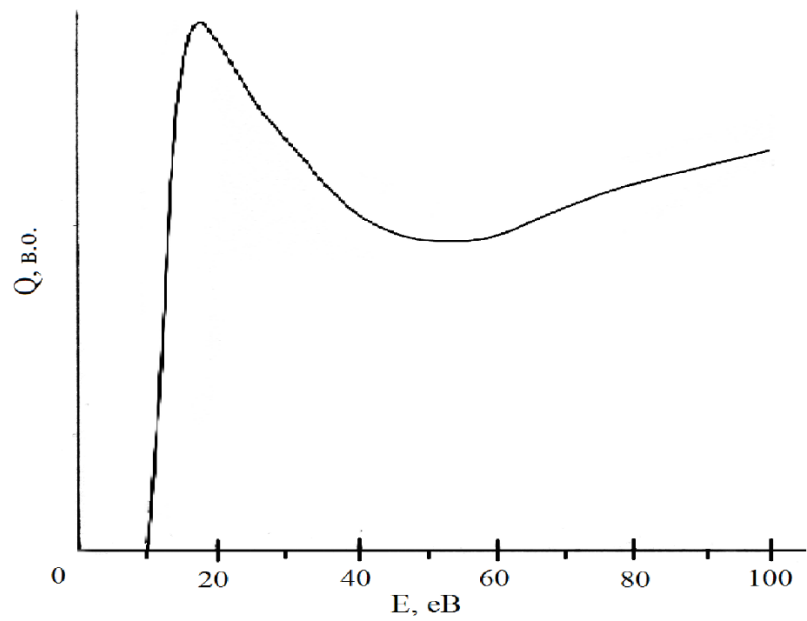


Рис. 3.11. Функція збудження молекулярного іону метилцитозину: довжина хвилі максимуму смуги 277 нм.

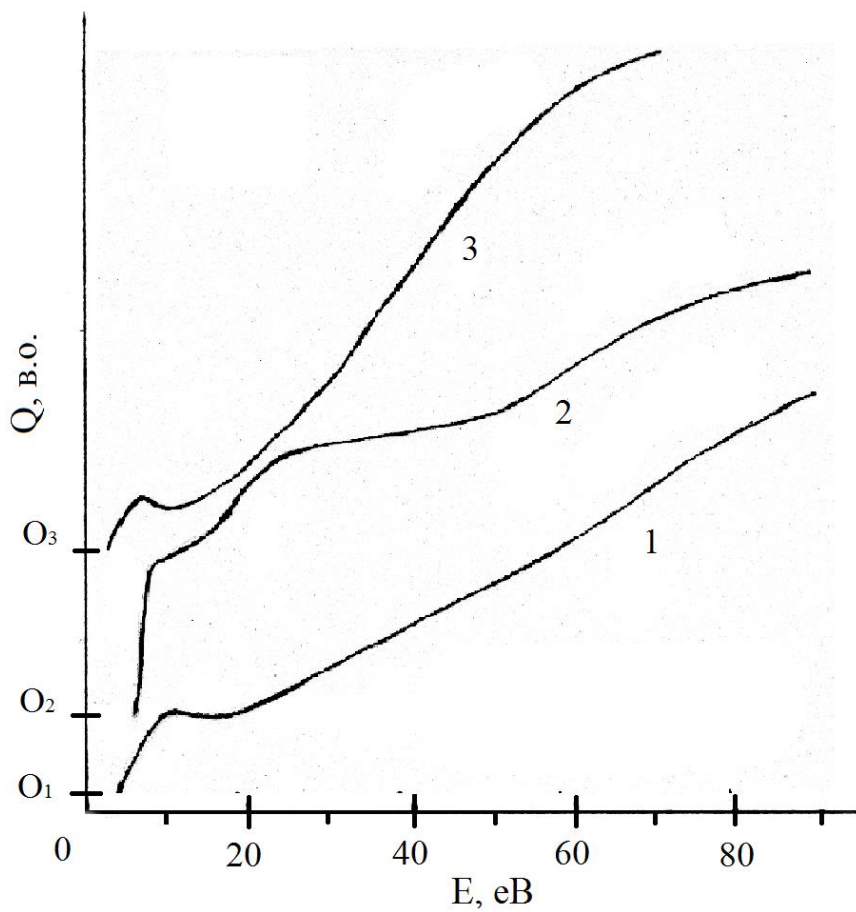


Рис.3.12. Функції збудження молекул метилцитозину:
 1 – довжина хвилі максимуму смуги 357 нм; 2 – 322 нм; 3 – 440 нм.

Цитозин. Для цитозину отримані спектри люмінесценції у спектральній області від 200 до 600 нм при різних енергіях налітаючих електронів. У спектрах можна виділити декілька широких спектральних смуг, інтенсивність і форма яких залежали від енергії електронів. Типовий спектр для енергії електронів $E = 100$ еВ приведений на рис. 3.13. Видно, що найбільш інтенсивні смуги мають максимуми при 392,2; 328,3; 340,5; 429,3; 356,7; 316,8, 290,6 нм. Смуга з максимумом при довжині хвилі $\lambda_m = 290,6$ нм залишалася найбільш інтенсивною і при енергії електронів 300 еВ.

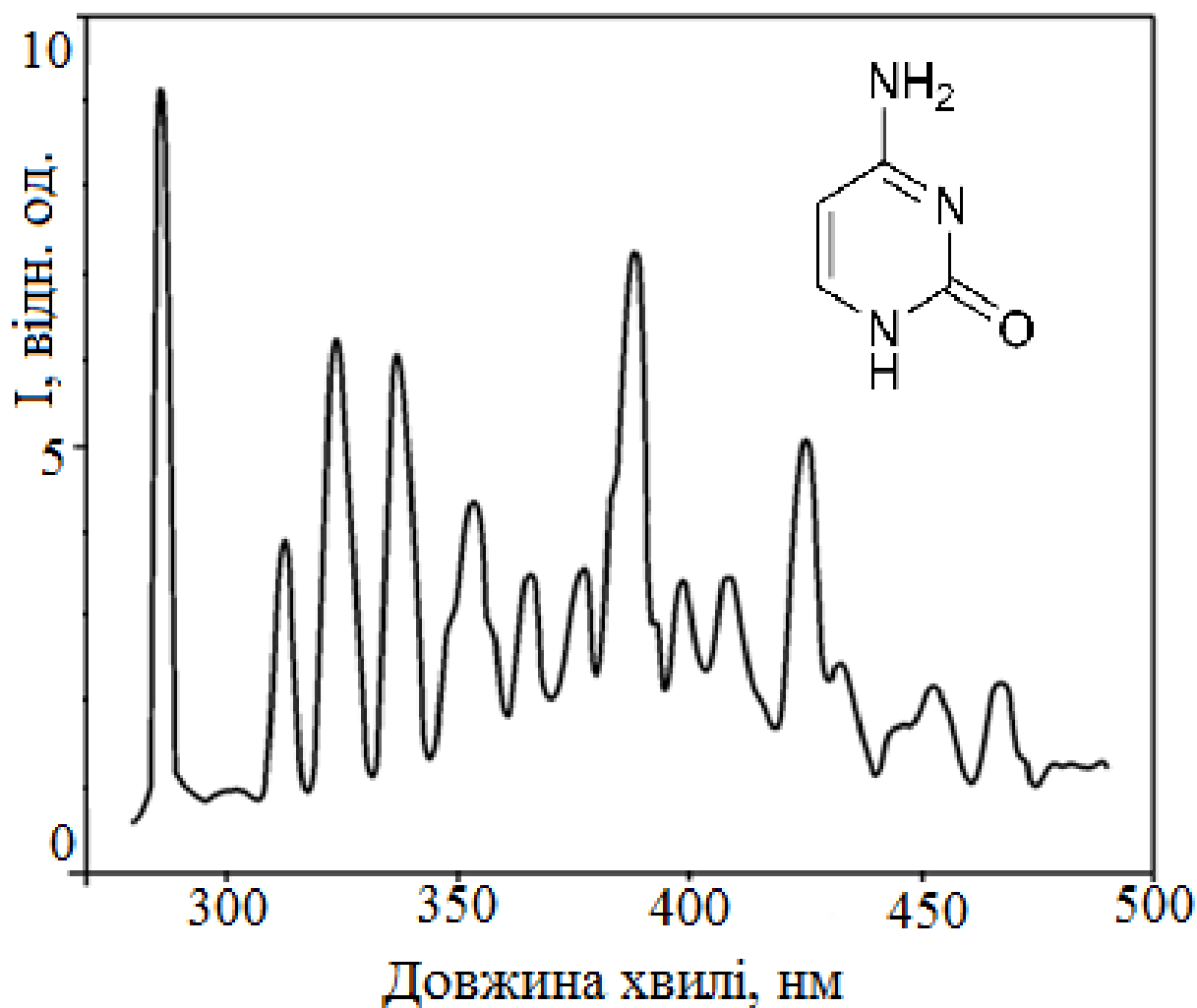


Рис. 3.13. Спектр люмінесценції молекул цитозину для енергії електронів 100 еВ.

Видно, що деякі спектральні смуги, наприклад, з $\lambda = 316,8; 340,5; 415,5$ нм ілюструють суперпозицію декількох процесів. Так, смуга з $\lambda = 316,8$ нм може виникати внаслідок двох процесів: висвічування піримідинового кільця, перехід $\tilde{A} - \bar{X}$ та іона CO^+ , резонансний перехід $B^2\Sigma \rightarrow ^2\Sigma$. Свічення групи CN може спостерігатися в області біля 380 нм (перехід $B^2\Sigma \rightarrow A^2\Pi$), а іона CN^+ – поблизу 328 нм (перехід $c^1\Sigma \rightarrow a^1\Sigma$). В цьому ж діапазоні випромінює група NCN (електронний перехід $^3\Pi_u \rightarrow ^3\Sigma_g^-$). Молекулярна смуга з $\lambda_m = 415,1$ нм може бути сформованою за рахунок переходів $B^1\Sigma \rightarrow A^1\Pi$ і $\tilde{A} \rightarrow X$, фрагментів CO та $N_2.CN_2$ відповідно, а також за рахунок фосфоресценції піримідинового кільця. Група HNCN може брати участь і в утворенні смуги з $\lambda = 350,7$ нм (перехід $\bar{A} \rightarrow X$), а CNC-смуг, з максимумами при 370,9 і 381,2 нм (переходи $^2\Sigma \rightarrow ^2\Pi; ^2\Delta \rightarrow ^2\Pi$). Фрагмент C_2H_3N , кількість якого за даними мас-спектрометрії відносно велика, не бере участі в формуванні спектра в даній області, оскільки його люмінесценція знаходиться у вакуумному ультрафіолеті. Смуги в області 340 – 360 нм, можливо, належать молекулі цитозина або піримідиновому кільцю з однією бічною групою, а вище 420 нм – слід чекати їх фосфоресценцію з метастабільних триплетних станів. Цікавою є найінтенсивніша в спектрі смуга, що знаходиться в короткохвильовій області ($\lambda_m = 290,6$ нм). Враховуючи її положення в спектрі і розподіл інтенсивностей у мас-спектрах, можна припустити, що вона утворюється за рахунок молекул цитозина або їх іонів. Не виключено також, що спектр люмінесценції молекул цитозина в газовій фазі може мати ультраструктуру з декількома максимумами в області біля 290 – 360 нм, як це показано вдля деяких гетероциклічних сполук.

Цікавим є порівняння наших даних (рис. 3.13) з результатами отриманими нами за допомогою сучасного високочутливого спектрофлуориметра RF-6000 компанії Shimadzu з дослідження фотолюмінесценції нейтрального водного розчинумолекул цитозину [376]. Взаємодія повільних електронів з молекулами цитозину в газовому стані супроводжується виникненням у діапазоні 300 – 500

нм спектру люмінесценції складної форми, що свідчить про інтенсивну фрагментацію молекул. Спектр випромінювання цитозину формують процеси дисоціативного збудження молекул, дисоціативного збудження з іонізацією, збудження електронних рівнів вихідної молекули та молекулярного іону. При цьому слід зазначити, що в умовах газової фази цитозину дезактивація метастабільних триплетних станів практично відсутня.

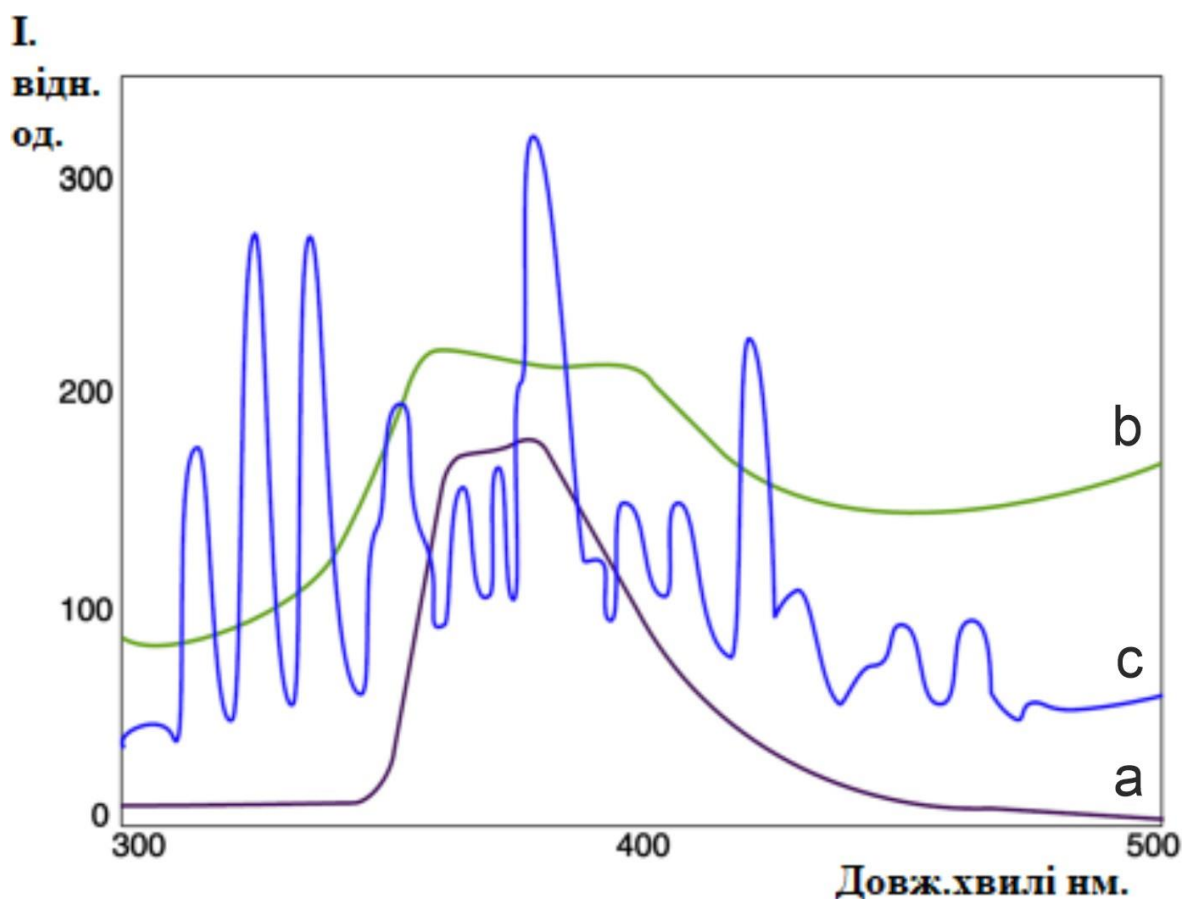


Рис. 3.14. Спектр люмінесценції цитозину: а – при збудженні випромінюванням ксенонової лампи з довжиною хвилі 280 нм; б – при одночасній дії випромінювань ксенонової лампи з довжиною хвилі 280 нм та лазера з довжиною хвилі 530 нм; с – при збудженні пучком електронів.

Таким чином, виходячи з вищенаведеного можна вважати, що перший максимум на кривій люмінесценції при її збудженні ксеноновою лампою та лазером обумовлений за рахунок флуоресценції, а другий – за рахунок фосфоресценції. Таким чином в проведених експериментах звертається увага на високу ймовірність заселення метастабільних триплетних станів цитозину

міжсистемним кросингом шляхом внутрішньої конверсії електронно-збуджених синглетних станів. Зазначимо, що метастабільні триплетні стани відіграють ключову роль у фотохімії азотистих основ нуклеїнових кислот і прогнозовано мають великий вплив на розвиток нових біотехнологій.

Підсумовуючи, можна зазначити, що люмінесценція представлена широкою смугою з нечітко вираженим порогом при довжині хвилі 340 нм та розмитим максимумом в спектральній області 365 – 380 нм. Показано, що представлена крива люмінесценції відображає флуоресценцію, а фосфоресценція відсутня взагалі. Отримані результати були порівняні з даними відомих досліджень. Були виявлені певні розбіжності між отриманими результатами і даними інших авторів. Показано, що виявлені розбіжності в першу чергу зумовлені кислотністю водних середовищ молекул цитозину. Вперше виконані експерименти зі збудження нейтрального водного розчину цитозину при одночасній дією випромінювання ксенонової лампи та лазерного променя неперервної дії з довжиною хвилі 530 нм та потужністю 0,25 Вт. Встановлено, що за даних експериментальних умов поріг люмінесценції зміщується в короткохвильову область, а на кривій люмінесценції виникає додатковий максимум при довжині хвилі 410 нм, який пояснюється проявом явища фосфоресценції.

Нами були досліджені енергетичні залежності відносних перерізів збудження (функції збудження) випромінювання при енергіях електронів від 0 до 300 еВ для десяти смуг. Функції збудження для різних смуг відрізнялися як за виглядом, так і за величиною граничних енергій, що може вказувати на відмінності в механізмах утворення відповідних збуджених станів.

Щоб з'ясувати це питання проведено якісний аналіз функцій збудження в наближенні Бете-Борна використовуючи залежність Фано [179]. Він ґрунтується на тому, що переріз процесів збудження оптично дозволених (σ) і оптично заборонених переходів (σ)' описуються різними залежностями від енергії електронів. У першому випадку

$$\sigma = \frac{4\pi a_0^2 R}{E} M^2 \ln CE,$$

де a_0 - радіус атома водню в основному стані (за Бором); R - постійна Ридберга; E - енергія збуджуючих електронів; C - постійна, пов'язана з властивостями молекули; M - матричний елемент дипольних переходів. У другому випадку $\sigma = \beta/E$, де β - величина, що залежить від узагальненої сили осциляторів. Однак слід врахувати, що дані співвідношення можна використовувати, тільки починаючи з енергій, рівних декільком значенням граничної.

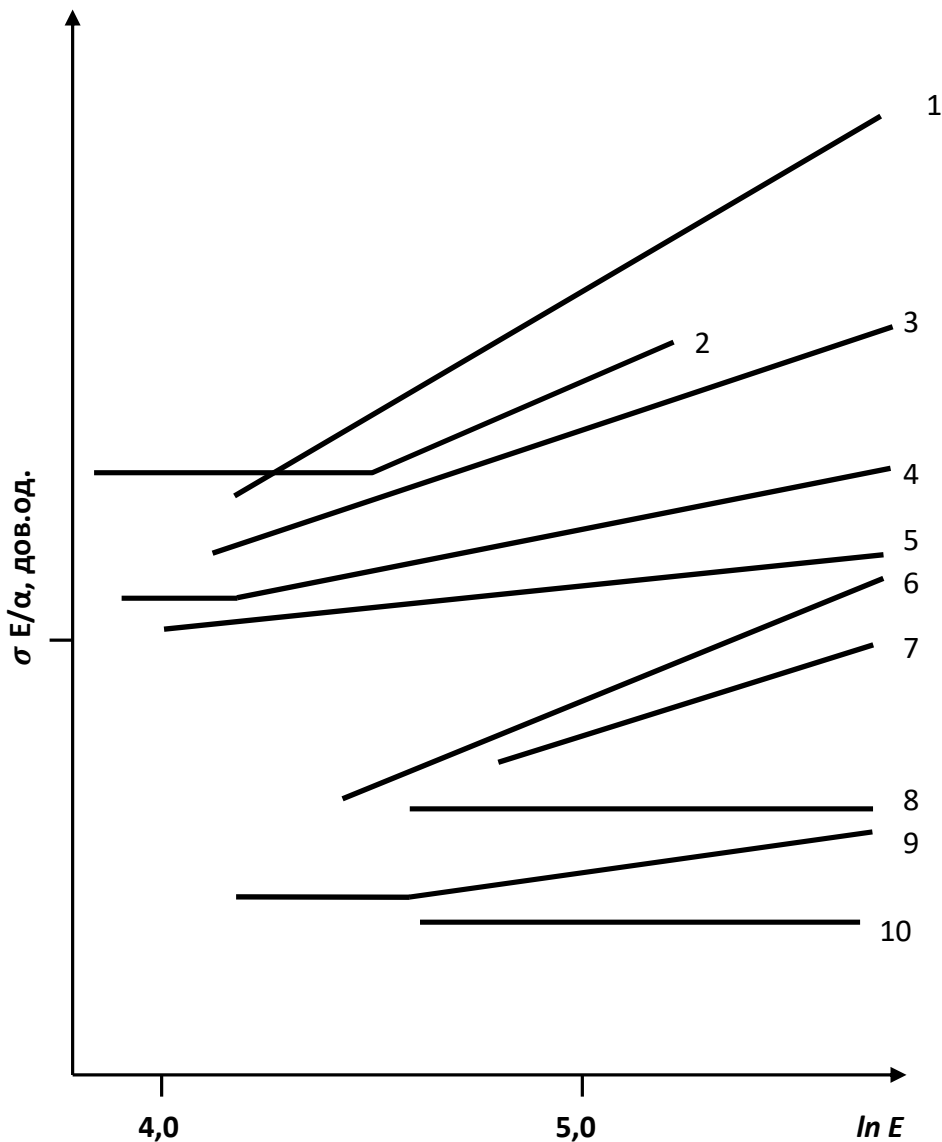


Рис 3.15. Лінійні анаморфози функцій збудження спектральних смуг цитозину з максимумами при 290,6 (1); 316,8 (2); 328,3 (3); 340,5 (4); 356,7 (5); 370,9 (6); 381,2 (7); 392,2 (8); 415,5 (9); 429,3 нм (10).

При виконанні цієї умови функції збудження, представлені в координатах σ E/α , де α - постійна для даної молекули чи фрагмента, для оптично дозволених переходів будуть мати вигляд прямої з додатнім нахилом, а для оптично заборонених - прямої з нульовим нахилом.

Лінійні анаморфози експериментально отриманих в нашій роботі функцій збудження приведені на рис. 3.15. Видно, що мають місце обидва механізми виникнення емісії молекулярного середовища, а також їх суперпозиція (наприклад, анаморфози 2, 4. 9 рис. 3.15).

3.3. Збудження молекул пуринових нуклеотидних основ

Гуанін. Процеси збудження молекул пуринових основ вивчались у різних умовах (розчини, газовий стан, у розряді тощо) і з використанням різних методик.

На першому етапі досліджень здійснювалось фотозбудження молекул гуаніну у розчинах з різними рН. Так, на рис. 3.16 – 3.18 приведені спектри люмінесценції різних розчинів гуаніну за довжини хвилі збудження $\lambda = 220$ нм. Максимум люмінесценції гуаніну у розчині при нейтральних рН (рис. 3.16) спостерігається в області 360 нм, а для слабокислого розчину – при 390 нм (рис. 3.17), тобто зміщується у довгохвильову частину спектра. Протилежна картина має місце для слаболужного розчину (рис. 3.18). Тут максимум люмінесценції зсувається в бік менших довжин хвиль. При цьому інтенсивність люмінесценції для випадків лужного та кислого розчинів зростає більш ніж у два рази по відношенню до нейтрального розчину гуаніну. Таким чином, рН розчину помітно впливає на розташування максимуму та інтенсивність люмінесценції. Очевидно, що приведені на рис. 3.16 та рис. 3.18 спектри відображають флуоресценцію молекул гуаніну, а фосфоресценція практично відсутня. Щодо спектру приведеного на рис. 3.17 то наявність розмитого, вторинного максимуму

при довжині хвилі ~ 420 нм, а також повільний спад інтенсивності люмінесценції можуть свідчити про появу фосфоресценції малої інтенсивності.

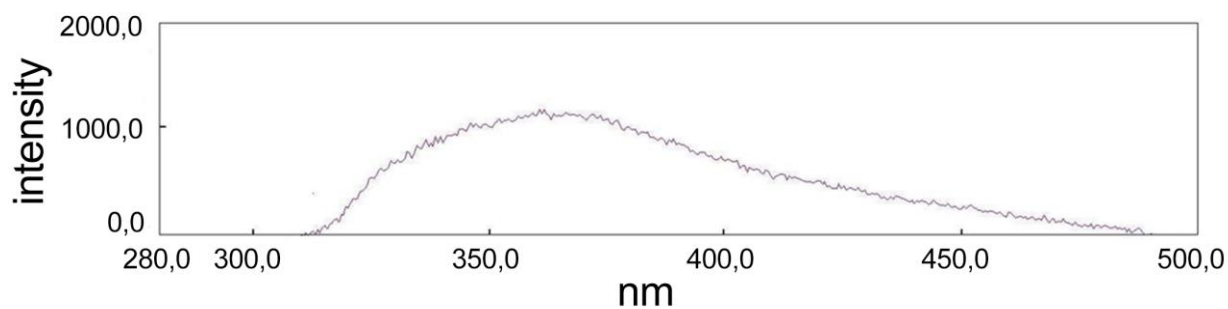


Рис. 3.16. Спектр люмінесценції водного розчину гуаніна під дією збуджуючого випромінювання з довжиною хвилі 220 нм.

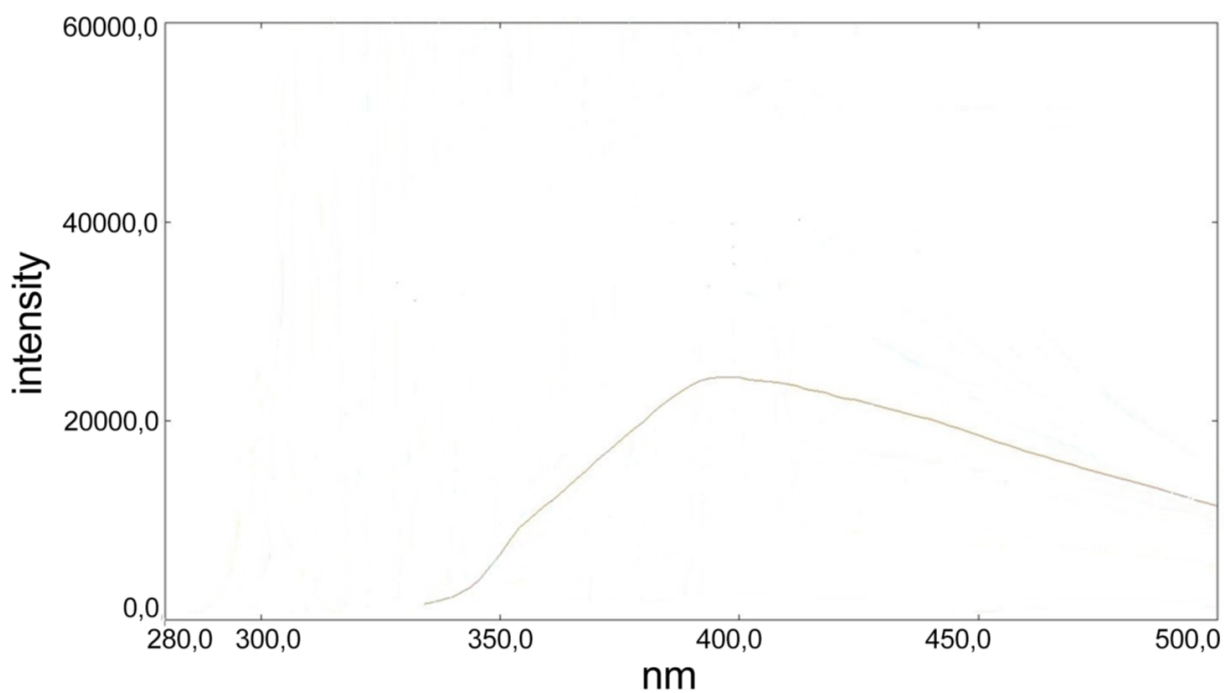


Рис. 3.17. Спектр люмінесценції димексиду розчину гуаніну під дією збуджуючого випромінювання з довжиною хвилі 220 нм.

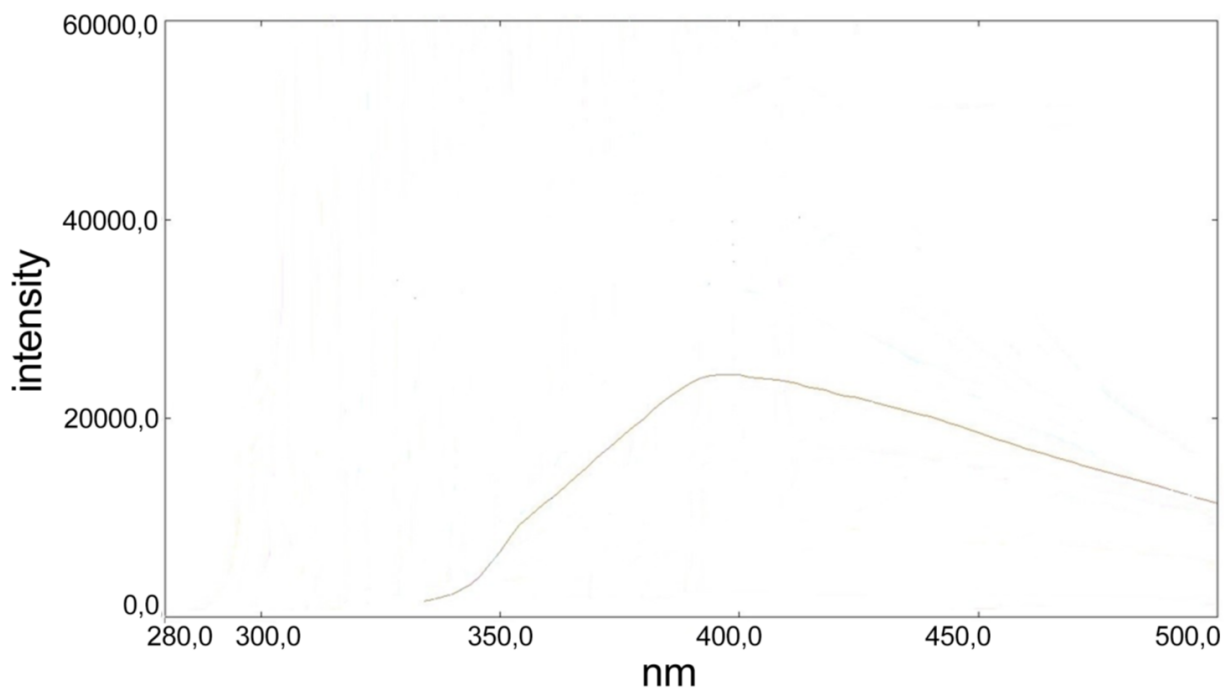


Рис. 3.18. Спектр люмінесценції бікарбонату натрію розчину гуаніну під дією збуджуючого випромінювання з довжиною хвилі 220 нм.

На рис 3.19. наведені спектри люмінесценції молекул гуаніну, що були отримані методом паронаповненої комірки за різних енергій електронного пучка.

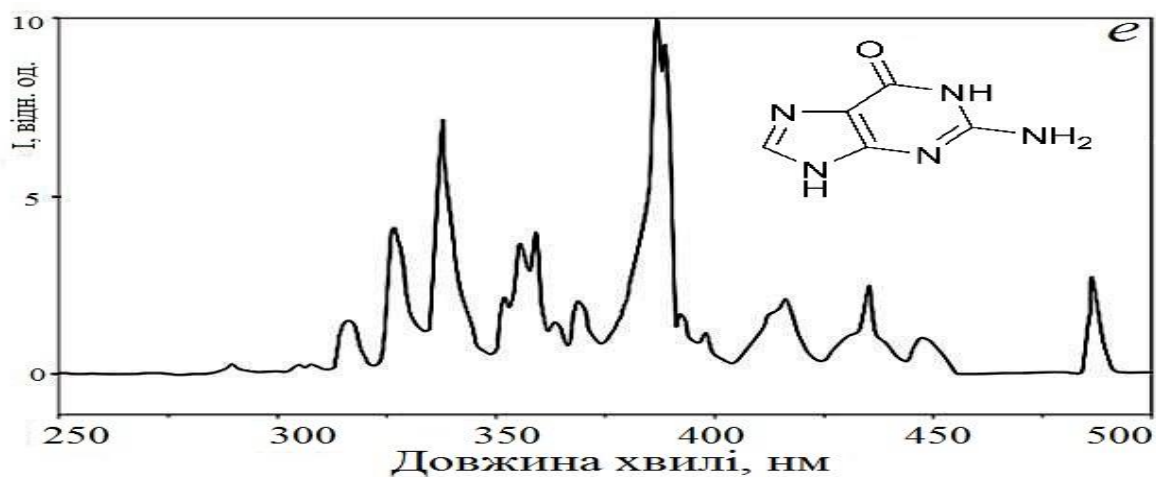


Рис. 3.19. Спектр люмінесценції молекул гуаніну енергії електронів 100 еВ.

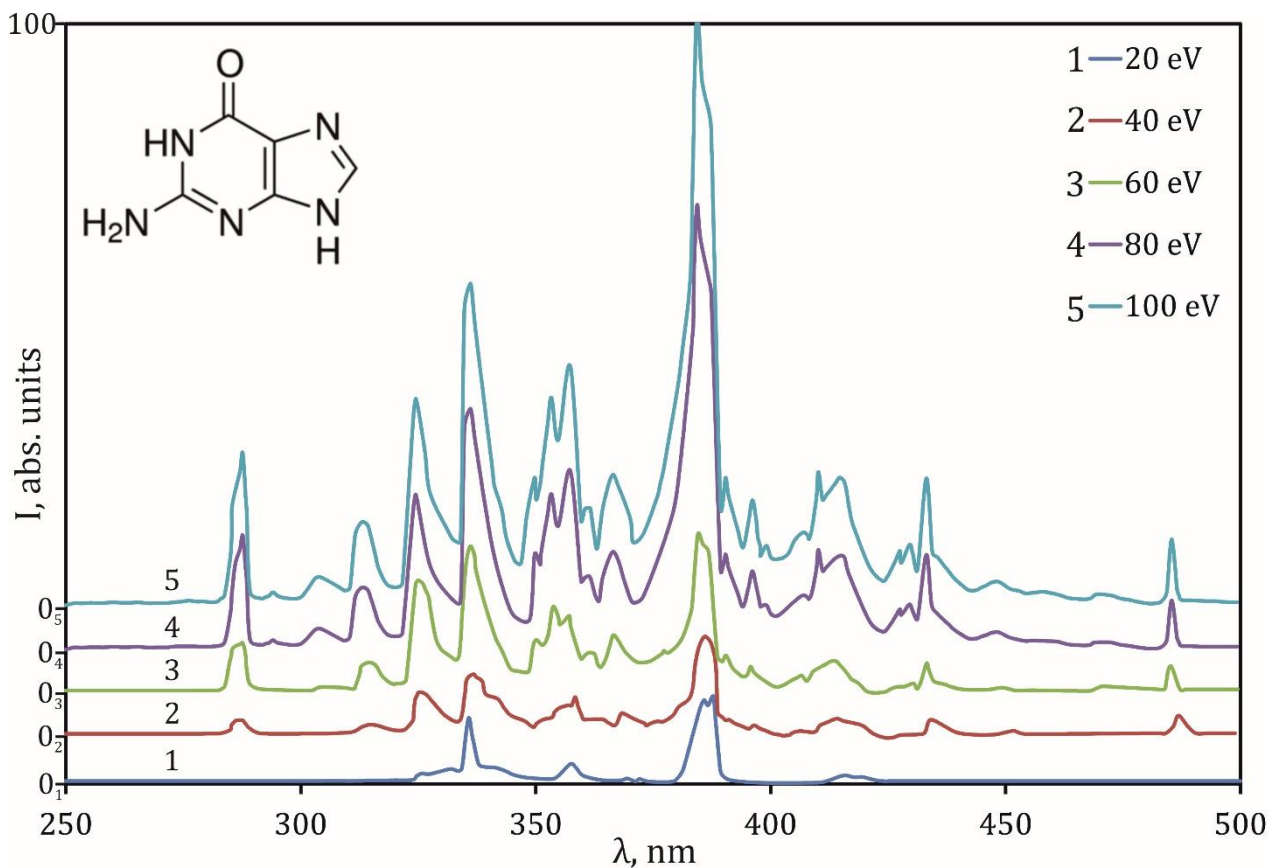


Рис. 3.20. Спектри люмінесценції молекул гуаніну для різних енергій електронів [349].

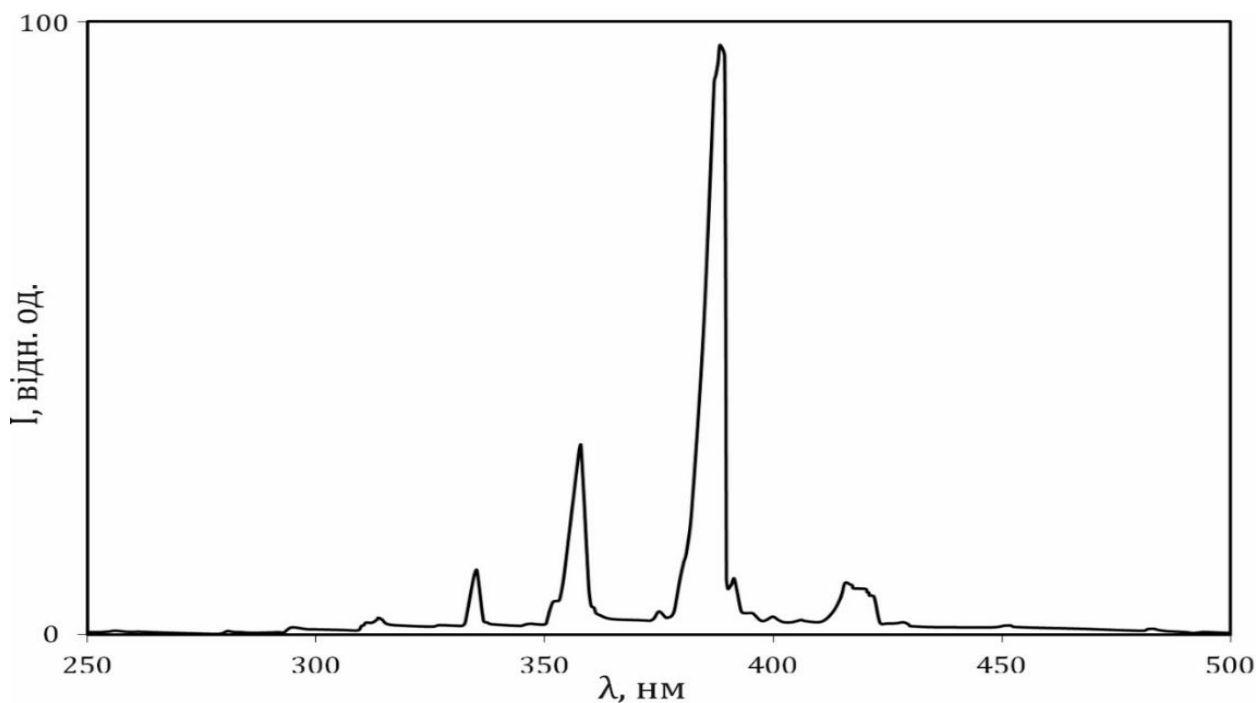


Рис. 3.21. Спектр люмінесценції електричного розряду в парах гуаніну за наступними параметрами розряду: $U = 540$ В, $I_{\text{роз}} = 10$ мА, $T = 350$ К, $p \sim 10^{-2}$ Па [2].

На рис. 3.20 та 3.21 приведені спектри випромінювання розряду в парах молекул гуаніну. У наведених спектрах була врахована спектральна чутливість спектрофотометра.

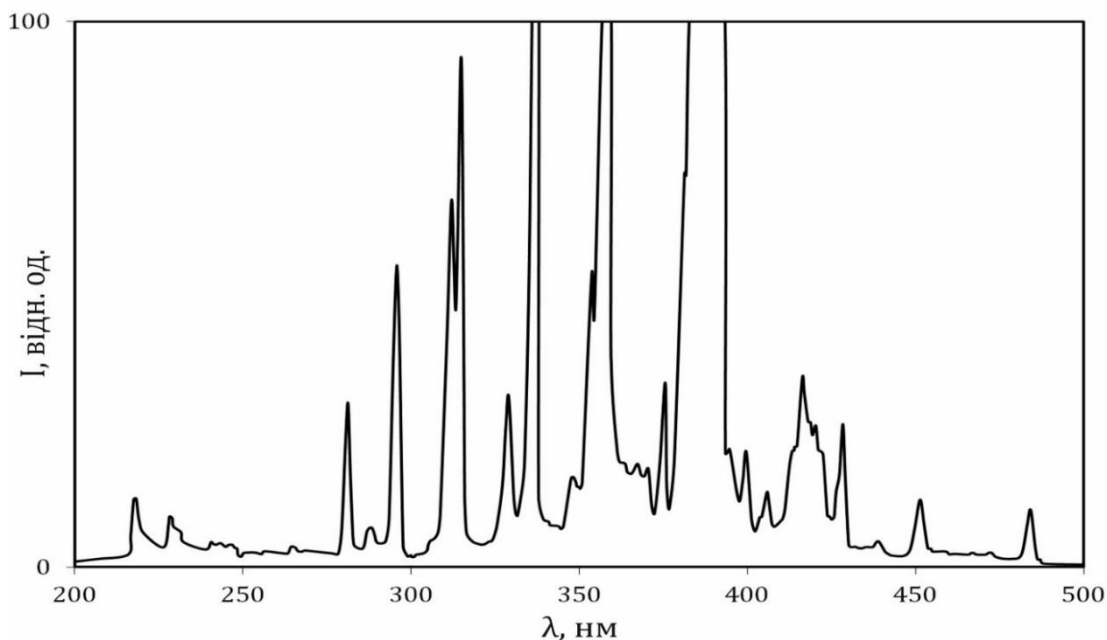


Рис. 3.22. Спектр люмінесценції електричного розряду в парах гуаніну з врахуванням збільшення чутливості системи реєстрації за наступними параметрами: $U = 540$ В, $I_{роз} = 10$ мА, $T = 350$ К, $p \sim 10^{-2}$ Па.

Спектри люмінесценції газової фази гуаніну під дією електронів принципово відрізняються від спектрів на рис. 3.16 – 3.18. Як видно з рис. 3.20, в молекулярних спектрах гуаніну чітко відображаються 19 молекулярних смуг та ліній, з максимумами за таких довжин хвиль: $\lambda_{млм} = 486,1; 447,3; 434,4; 430,5; 415,5; 395,7; 391,6; 388,2; 386,1; 367,1; 362,0; 357,7; 355,3; 337,0; 326,5; 315,9; 307,2; 304,2; 289,2$ нм. Однак, у представленому на рис. 3.21 спектрі спостерігаються молекулярні смуги та лінії, що відсутні на рис. 3.20 і 3.21. Більшість даних молекулярних смуг знаходяться в УФ області: $\lambda\lambda = 405,9; 375,5; 348,3; 295,7; 281,2; 268,5; 243,3; 228,1; 218,2$ нм.

Також були визначені функції збудження (енергетичні залежності відносних перерізів збудження) найбільш інтенсивних смуг з максимумами за довжин хвиль 415,5, 337,0 326,5 і 289,2 нм (рис. 3.23).

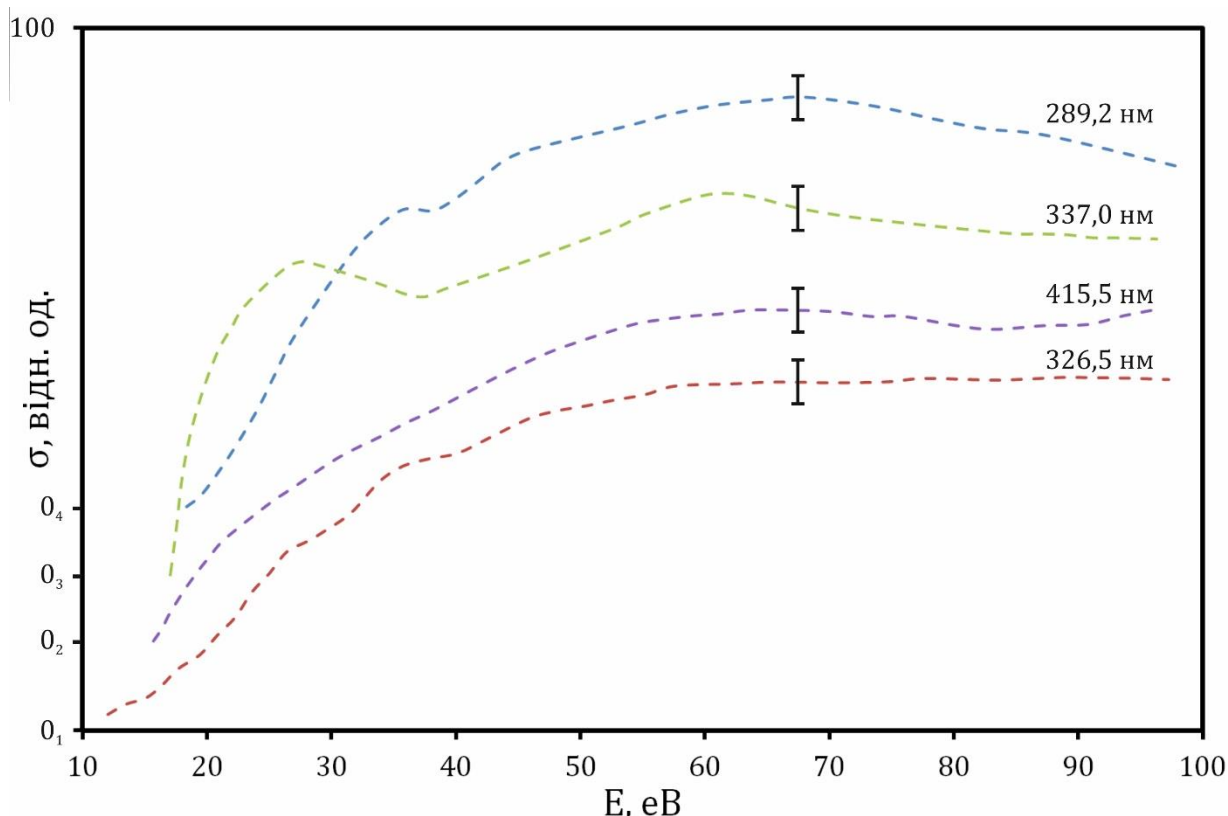


Рис. 3.23. Енергетичні залежності відносних перерізів збудження найбільш інтенсивних смуг гуаніну.

Кількість та форма молекулярних смуг свідчать, що їх походження пов'язане із збудженням електронних станів як молекули в цілому, так і її незаряджених фрагментів (процеси дисоціативного збудження) чи іонізованих (процеси дисоціативного збудження з іонізацією). Повна, коректна ідентифікація спектрів є непростим завданням. Порівняльний аналіз отриманих авторами експериментальних результатів про збудження та фрагментацію пуринових і піримідинових молекул та літературних джерел [156–158, 116–118, 185, 188, 190], а також здійснення квантово-хімічних розрахунків параметрів фізичної структури молекул нуклеотидних основ при різних впливах, дали підставу запропонувати наступну інтерпретацію особливостей у спектрах випромінювання гуаніну.

Спектральна лінія з довжиною хвилі 486,1 нм відноситься до атома гідрогена (H_{β} серія Бальмера) і, між іншим, спостерігається у спектрах молекул інших азотистих основ. З усього викладеного випливає, що під дією електронного удару в біоструктурах утворюється чимала кількість атомів гідрогену. Молекулярні смуги з довжинами хвиль $\lambda\lambda = 447,3; 430,5$ нм вірогідно відносяться до групи CO ($B^1\Sigma^+ \rightarrow A^1\Pi$). У формуванні молекулярної смуги з довжиною $\lambda = 434,4$ нм можуть приймати участь збуджені фрагменти H_2CN_2 ($\tilde{A} \rightarrow \tilde{X}$), N_2 ($C^3\Pi_u \rightarrow B^3\Pi_g$) та CH ($A^2\Delta \rightarrow X^2\Pi$). Схиляємося до думки щодо здебільшо переважного внеску фрагмента H_2CN_2 . Вузька лінія за довжини хвилі $\lambda = 434,1$ нм відноситься до H_{γ} серії Бальмера. Широку молекулярну смугу з максимумом за $\lambda = 415,5$ нм можуть утворювати електронні переходи $\tilde{A} \rightarrow \tilde{X}$ та $B^1\Sigma^+ \rightarrow A^1\Pi$ груп H_2CN_2 і CO відповідно. Інтенсивна смуга з довжиною хвилі $\lambda = 388,2$ нм формується уламками CN ($B^2\Sigma \rightarrow A^2\Pi$) та CO ($C^1\Sigma^+ \rightarrow A^1\Pi$). В даному випадку, слід віддати основний внесок групі CO, оскільки переріз збудження переходу $C^1\Sigma^+ \rightarrow A^1\Pi$ у CO є досить значним. Інтенсивна смуга з довжиною $\lambda = 386,6$ нм формується уламками CNC ($\Delta^2 \rightarrow ^2\Pi$) та CN ($B^2\Sigma \rightarrow A^2\Pi$). Контрибуцію радикала CN можна вважати переважаючою. Незначної інтенсивності смуга з довжиною хвилі $\lambda = 367,1$ нм відноситься до CO^+ ($B^2\Sigma^+ \rightarrow A^2\Pi$). Молекулярна смуга з $\lambda = 355,3$ нм вірогідно може бути сформована фрагментами N_2 ($C^3\Pi_u \rightarrow B^3\Pi_g$) і HNCN ($\tilde{A} \rightarrow \tilde{X}$), але при цьому внесок кожного з них в утворення даної смуги залишається поки-що невідомим. Молекулярну смугу з довжтною хвилі $\lambda = 337,0$ нм слід ототожнювати як суперпозицію переходів NCN ($^3\Pi_u \rightarrow ^2\Sigma_g^-$) і N_2 ($C^3\Pi_u \rightarrow B^3\Pi_g$). Смуга з довжиною $\lambda = 326,5$ нм може бути сформованою молекулярними уламками NCN ($\Delta^2 \rightarrow ^2\Pi$) і CN^+ . Випромінювання в області довжин 327,2 – 341,5 нм та 410,3 – 419,7 нм у виді широких молекулярних смуг, що підсилюється із підвищенням енергії електронного пучка, є проявом відповідних процесів флюоресценції та фосфоресценції молекул гуаніну внаслідок збудження π – електронів [61, 110,

161, 189]. Виконані нами дослідження фотозбудження гуаніну (див. рис. 3.1 – 3.18) також підтверджують даний механізм.

Величини енергій синглетних і триплетних рівнів молекул пуринових основ були оцінені за допомогою програмних комплексів Gaussian та HyperChem.

Енергетичні пороги збудження найбільш інтенсивних спектральних смуг гуаніну приведені в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2.

Спектральні смуги гуаніну та енергетичні пороги їх збудження

$\lambda_m, \text{нм}$	288,5	326,4	336,1	358,3	385,2	416	433,8
E_z, eV	18,9	12,4	10,8	11,22	11,4	10,4	12

Також є зміст порівняти оптичний спектр гуаніну з відповідним його мас-спектром (рис. 3.24).

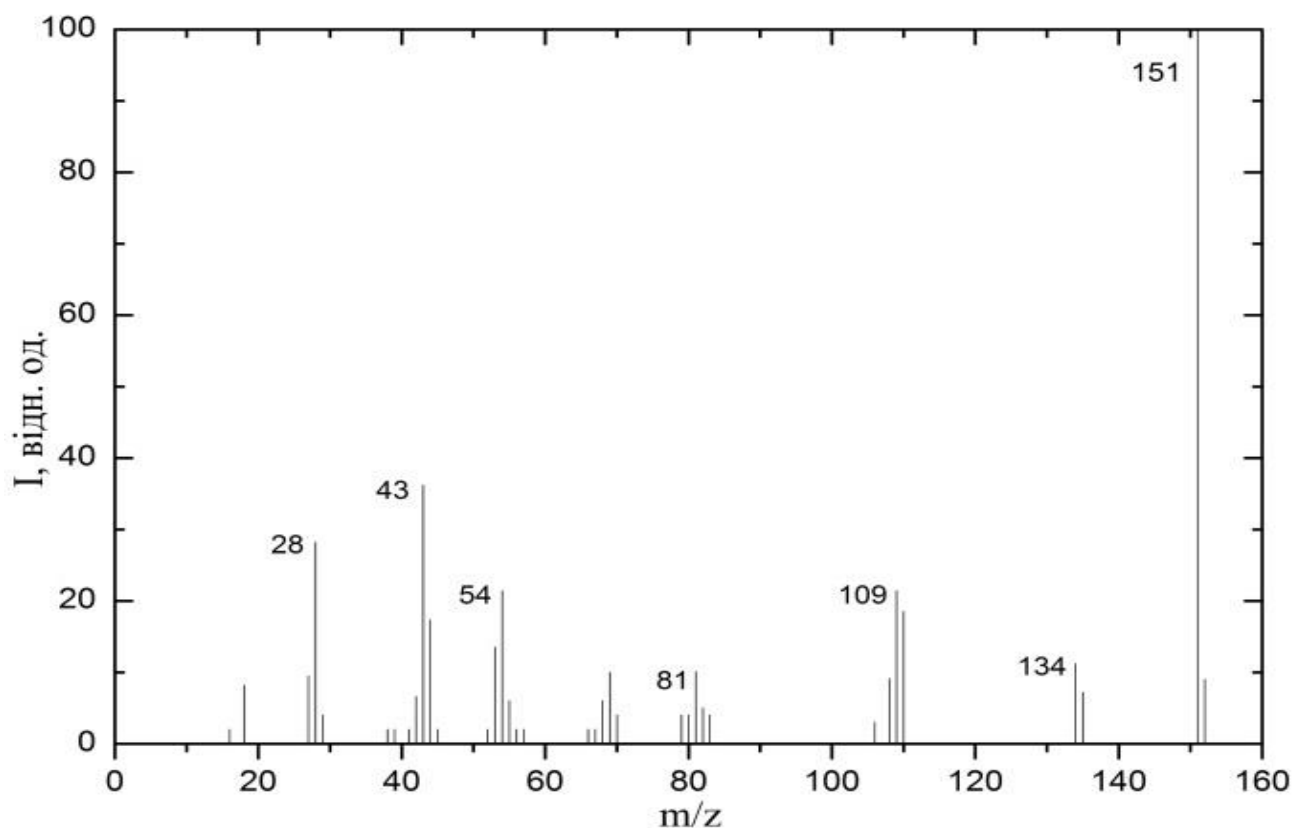


Рис. 3.24. Мас-спектр гуаніну для енергії 100 еВ.

Насамперед, вищенаведене порівняння служить допоміжним засобом у непростій ідентифікації спектру нуклеотидної основи гуаніну. Проведений аналіз засвідчує, що більшість молекулярних смуг належить нейтральним уламкам. На свічення іонізованих молекулярних фрагментів вказують смуги з $\lambda = 326,8$ і $\lambda = 326,8$ нм. Енергетичний поріг збудження смуги $\lambda_m = 326,8$ нм є рівним 12,4 еВ. Якщо енергію даної молекулярної смуги виразити в еВ та додати до потенціалу іонізації молекул гуаніну $8,3 \pm 0,2$ еВ, в сумі отримаємо значення величини $12,1 \pm 0,2$ еВ, яке в межах похибки співпадає з енергією збудження даної молекулярної смуги. Отже, можна припустити, що верхнім станом молекулярної смуги з довжиною хвилі $\lambda_m = 326,8$ нм являється іонний стан молекули цієї азотистої основи. Беручи до уваги вищеприведене, не є дивним той факт, що функція збудження молекулярної смуги з довжиною хвилі $\lambda_m = 326,5$ нм являється надзвичайно подібною до енергетичної залежності перерізу іонізації молекул гуаніну (рис. 3.25).

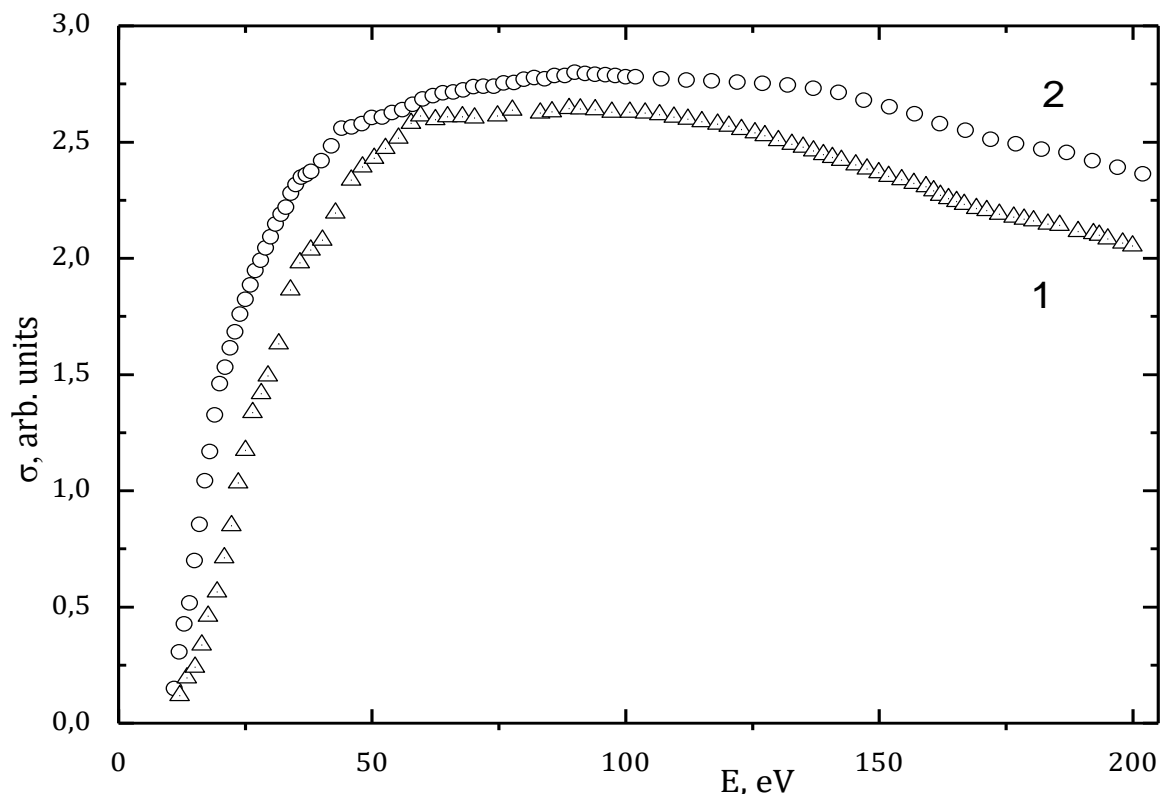


Рис. 3.25. Функція збудження молекулярної смуги з довжиною хвилі $\lambda_m = 326,5$ нм (1) та функція іонізації (2) молекул гуаніну.

Особливу увагу слід приділити лінії $m/z = 135$ у мас-спектрі нуклеотидної основи гуаніну. Вказана лінія, є нічим іншим як молекулярним іоном молекули аденіну, що утворюється в процесі розпаду молекулярного іона гуаніну на два уламки: нейтральний атом кисню і заряджений фрагмент $C_5H_5N_5$ (тобто молекулярний іон аденіну!). У цьому разі новоутворений атом кисню може знаходитися у збудженому стані і, таким чином, випромінити фотон відповідної частоти. Так, дійсно, в спектрі молекули гуаніну існує лінія, яка за довжиною хвилі $\lambda = 398$ нм відноситься до атома кисню [116]. В даному разі, можна зробити висновок, що за непружної взаємодії молекула гуаніну може трансформуватися у молекулярний іон аденіну. Іншими словами, відбувається процес трансмутації азотистої основи. У роботах [180–184] була зазначена виняткова радіобіологічна значимість вказаного явища.

Аденін. Молекули гуаніну і аденіну є похідними пурину, а тому логічним для з'ясування механізмів збудження є порівняння їх спектрів люмінесценції за схожих фізичних умов. На рис. 3.26 наведено спектр випромінювання аденіну, отриманого методом електронного і молекулярного пучків, що перетинаються.

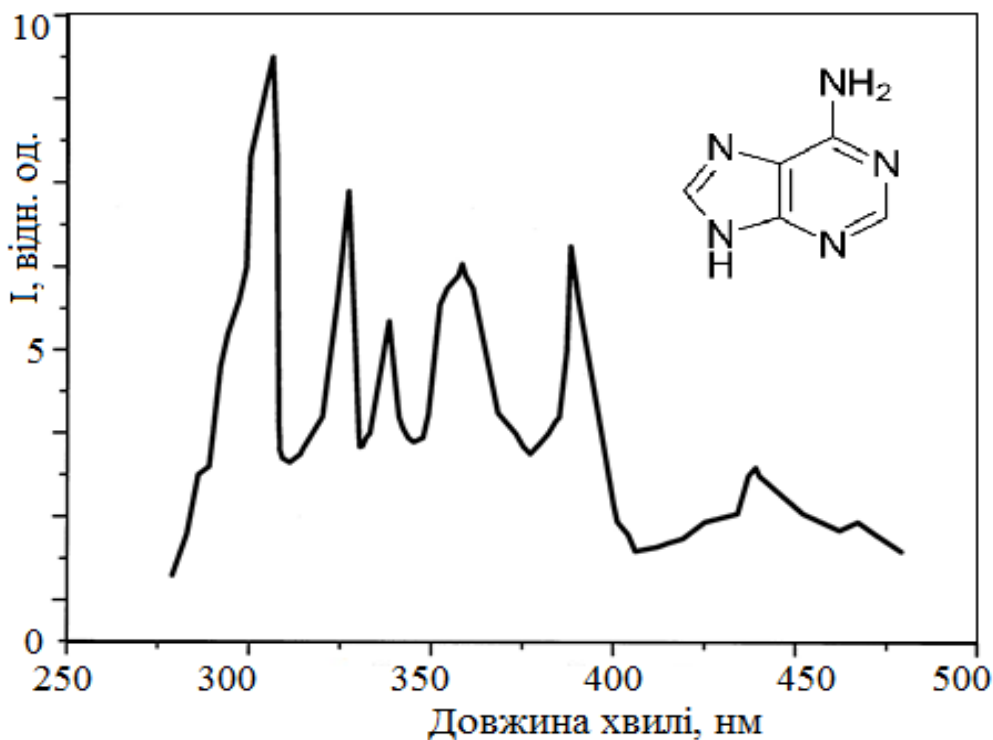


Рис. 3.26. Спектр люмінесценції молекул аденіну для енергії електронів 100 еВ.

У спектральній області від 250 до 500 нм виявлено шість широких молекулярних смуг, інтенсивності і форми яких залежали від енергії електронів.

Очевидно, що більшість спектральних смуг знаходиться в ультрафіолетовій області. Найбільш інтенсивні смуги – короткохвильові з максимумами за довжин $\lambda = 308$ і $\lambda = 327$ нм. Інші смуги мають максимуми за наступних довжинах хвиль: $\lambda = 338; 354; 388; 435$ нм.

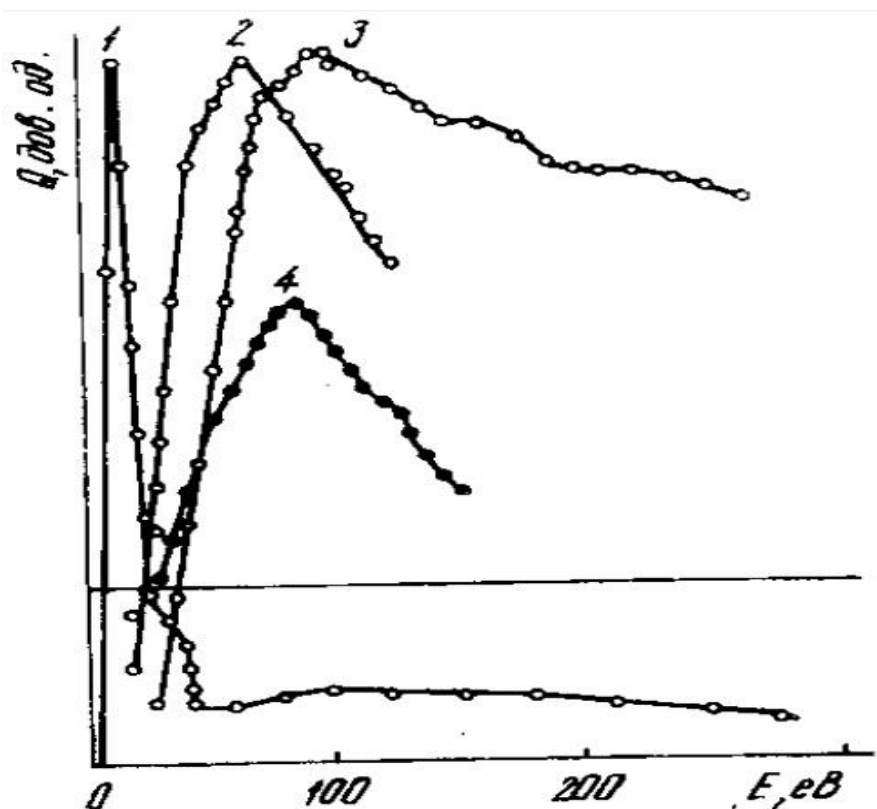


Рис. 3.27. Функції збудження молекулярних смуг аденіну з максимумами за довжин хвиль $\lambda = 435$ нм (1), $\lambda = 354$ нм (2), $\lambda = 308$ нм (3); 4 – функція іонізації.

Здійснений аналіз показав, що спектральна смуга з максимумом при 435 нм відповідає складному (обмінному за спіном) характеру взаємодії з електронами. Тобто має місце інтеркомбінаційний перехід типу $S_0 \rightarrow T_1$ з випромінюванням через триплетний стан. Крім інтеркомбінаційних переходів, тут можливе збудження груп СН (перехід $A^2\Delta \rightarrow X^2\Pi$), N_2CH_2 (перехід $\tilde{A} \rightarrow \tilde{X}$). Найбільш

інтенсивна смуга в спектрі з максимумом у короткохвильовій області ($\lambda_{\max} = 308$ нм), очевидно, відповідає збудженню π -електронів молекулярного іона аденіну. Підтвердженням цього є високий енергетичний поріг відповідної функції збудження. Широка смуга з максимумом при 354 нм – це флюоресценція молекули аденіну. Інші смуги в спектрах аденіну виникають за рахунок свічення фрагментів молекул. Зокрема, за появу молекулярних смуг з $\lambda = 338$ нм і $\lambda = 354$ нм можуть відповідати процеси збудження груп NCN (електронний перехід ${}^3\Pi_u \rightarrow {}^3\Sigma_g^-$) та HNCH (електронний перехід $\tilde{A} \rightarrow \tilde{X}$). Свічення групи CN спостерігається в області біля 380 нм (перехід $B^2\Sigma \rightarrow A^2\Pi$). У приведеному діапазоні випромінює також фрагмент CNC (електронний перехід $\Delta^2 \rightarrow {}^2\Pi$). У формування даної смуги може робити внесок і група NH₂, оскільки енергія зв'язку бокових груп з циклічними структурами невелика (≈ 4 еВ). Збудження іонізованого фрагмента CN⁺ призводить до випромінювання за довжини хвилі $\lambda = 327$ нм.

Спектр люмінесценції аденіну під дією пучка електронів (методом паронаповненої комірки) за різної енергії електронів приведений на рис. 3.28, а спектр люмінесценції постійного електричного розряду в парах молекул аденіну зображений на рис. 3.29. Для найбільш інтенсивних смуг аденіну були визначені функції збудження (рис. 3.30).

У спектрах випромінювання аденіну, які приведені на рис. 3.28, зареєстровані 22 молекулярні смуги і атомарні лінії з максимумами, що знаходяться за таких довжин хвиль $\lambda_m \lambda_m = 486,1; 449,1; 434,1; 430,5; 415,0; 411,0; 402,4; 395,4; 393,8; 387,5; 385,2; 365,5; 357,4; 354,0; 337,0; 333,5; 327,0; 316,4; 308,0; 303,5; 298,2; 287,1$ нм та змінюють свої інтенсивності та форми в залежності від енергії пучка електронів.

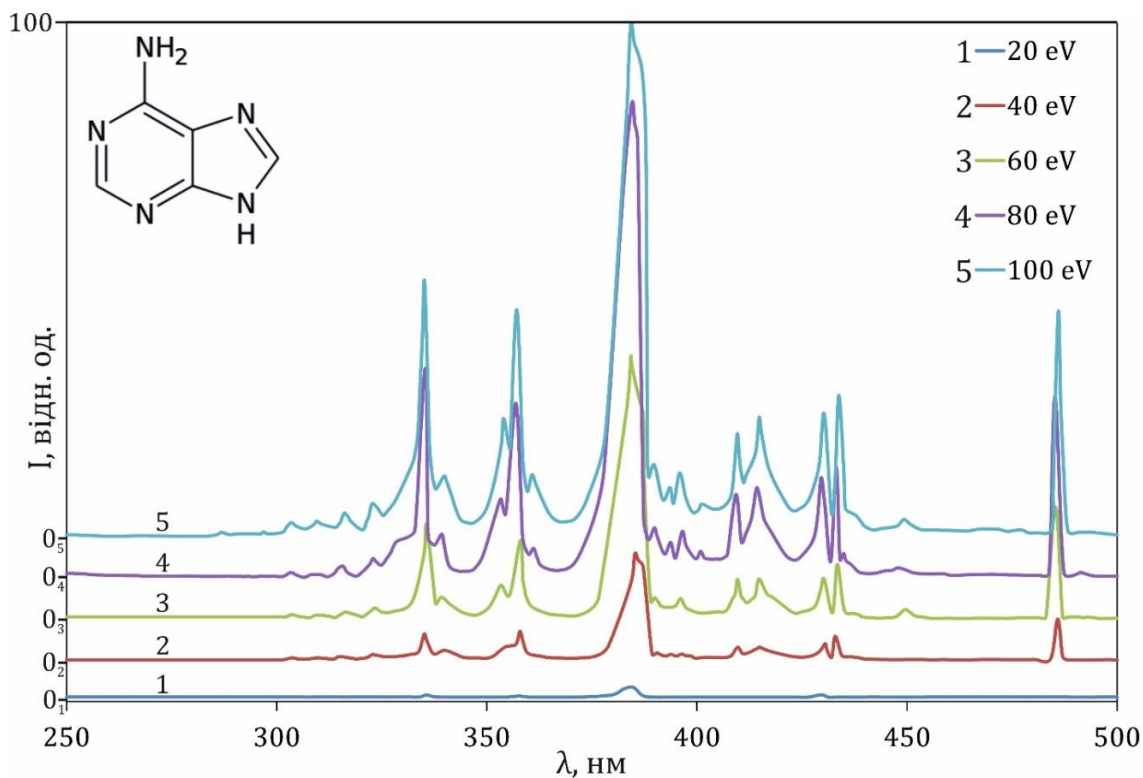


Рис. 3.28. Спектри люмінесценції аденіну за різної енергії електронного пучка.

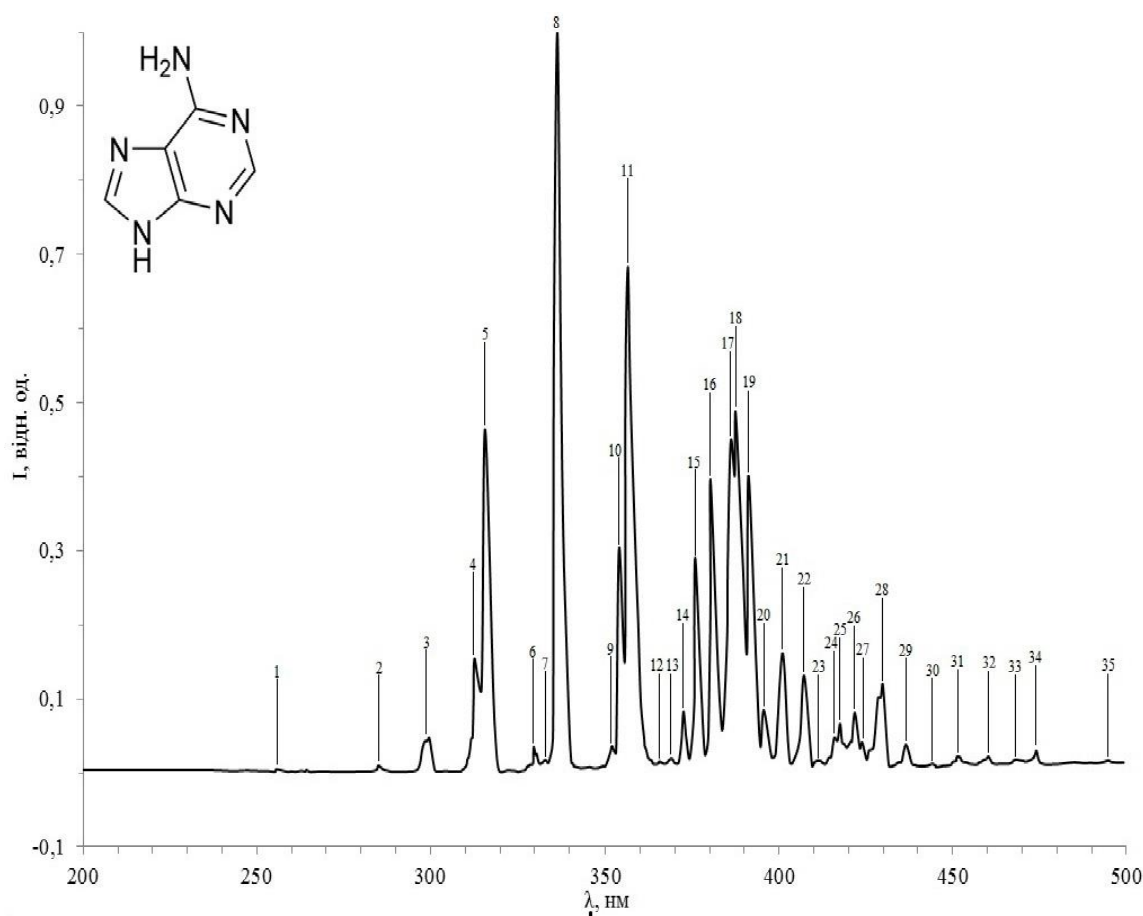


Рис. 3.29. Спектральні смуги, які є зареєстрованими у випромінюванні електричного розряду в парах аденіну.

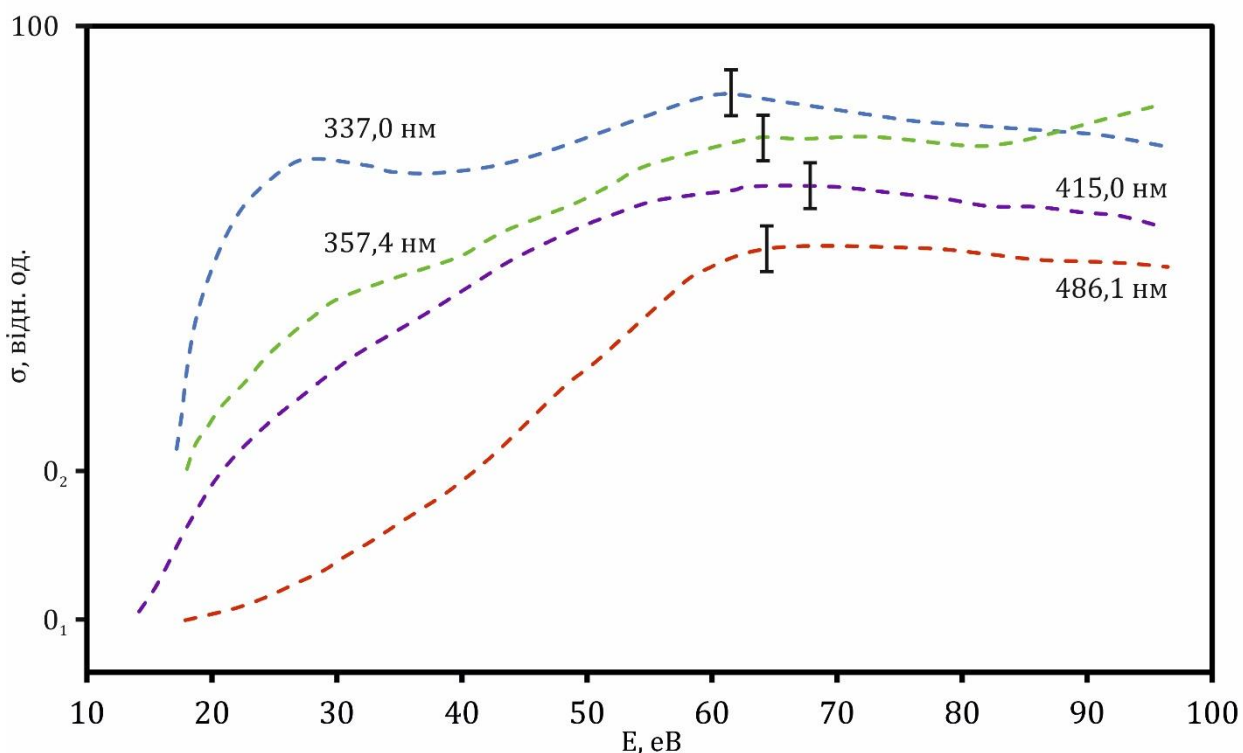


Рис. 3.30. Енергетичні залежності перерізів збудження найбільш інтенсивних смуг аденіну.

На представленому на рис. 3.29 спектрі електричного розряду в парах аденіну, крім вищенаведених молекулярних смуг і атомарних ліній, проявляється ряд інших смуг і ліній з довжинами хвиль λ_m $\lambda_m = 494,8; 474,1; 467,9; 460,3; 444,2; 423,9; 421,8; 417,5; 407,2; 380,3; 375,9; 372,5; 368,9; 351,9; 255,6$ нм.

Для ідентифікації спектрів молекул аденіну, як і у випадку азотистої основи гуаніну, використовувались результати мас-спектрометричних досліджень аденіну, теоретичні квантово-хімічні розрахунки фізичної будови та молекулярної структури нуклеотидних основ при різних взаємодіях, отримані еспериментальним шляхом дані про перерізи повної і дисоціативної іонізації даної молекули під дією пучка електронів та проаналізовані фото-емісійні спектри відповідних багатоатомних хімічних сполук [116–118, 156–158, 185, 188, 190].

Молекулярна смуга з довжиною хвилі $\lambda = 327,0$ нм може бути сформованою фрагментами CN^+ та NCN (перехід $\Delta^2 \rightarrow {}^2\Pi$). Смугою з довжиною λ

= 337,0 нм варто ідентифікувати як суперпозицію переходів NCN (електронний перехід $^3\Pi_u \rightarrow ^2\Sigma_g^-$) та N_2 (перехід $C \ ^3\Pi_u \rightarrow B \ ^3\Pi_g$). Молекулярна смуга з $\lambda = 354,0$ нм вірогідно формується фрагментами N_2 (перехід $C \ ^3\Pi_u \rightarrow B \ ^3\Pi_g$) і HNCN (електронний перехід $\tilde{A} \rightarrow \tilde{X}$). Смуга з довжиною хвилі $\lambda = 357,4$ нм може утворюватися молекулярним уламком HCN₂. Молекулярна смуга меншої інтенсивності з довжиною $\lambda = 365,5$ нм відноситься до CO⁺ (електронний перехід $B \ ^2\Sigma^+ \rightarrow A \ ^2\Pi$). Смуга з високою інтенсивністю за довжини хвилі $\lambda = 385,2$ нм сформована фрагментами CNC (перехід $\Delta^2 \rightarrow ^2\Pi$) та CN (перехід $B \ ^2\Sigma \rightarrow A \ ^2\Pi$). Контрибуцію уламка CN можна вважати домінуючою. Інтенсивна молекулярна смуга з довжиною $\lambda = 387,5$ нм утворюється фрагментами CN (електронний перехід $B \ ^2\Sigma \rightarrow A \ ^2\Pi$) та CO (відповідний перехід $C \ ^1\Sigma^+ \rightarrow A \ ^1\Pi$). Широку смугу з максимумом за довжини хвилі $\lambda = 415,0$ нм породжують декілька груп: зокрема, CO⁺ (перехід $B \ ^2\Sigma^+ \rightarrow A \ ^2\Pi$), з довжиною хвилі $\lambda = 395,4$ нм та CO (електронний перехід $B \ ^1\Sigma^+ \rightarrow A \ ^1\Pi$), з довжиною $\lambda = 411,0$ нм. У формування молекулярної смуги з $\lambda = 434,4$ нм докладуються внески збуджених фрагментів: N_2 (електронний перехід $C \ ^3\Pi_u \rightarrow B \ ^3\Pi_g$), CH (відповідний перехід $A \ ^2\Delta \rightarrow X \ ^2\Pi$), H₂CN₂ (перехід $\tilde{A} \rightarrow \tilde{X}$), а також лінія H_γ ($\lambda = 434,1$ нм) серії Бальмера за переважного внеска фрагмента H₂CN₂. Широка підкладка для молекулярної смуги з довжиною хвилі $\lambda = 434,4$ нм свідчить за інтенсивні інтеркомбінаційні переходи в нуклеотидній основі при її взаємодії з електронами. Молекулярні смуги з довжинами $\lambda = 449,1; 430,5$ нм вірогідно відносяться до групи CO (електронний перехід $B \ ^1\Sigma^+ \rightarrow A \ ^1\Pi$). Подібні смуги спостерігалися також авторами [192]. Атомарна лінія з довжиною $\lambda = 486,1$ нм відноситься до атома гідрогена (H_β, серія Бальмера) і також спостерігається в молекулярних спектрах інших азотистих основ. З огляду на вищенаведене впливає важливий фізичний висновок, а саме: у біоструктурах під дією електронів породжується значна кількість атомів гідрогену.

Спектр свічення електричного розряду в парах аденіну, в якому врахована спектральна чутливість експериментальної установки, представлений на рис. 3.29.

Величини довжин хвиль, пронумерованих на спектрі, в максимумальних значеннях наведені в таблиці 3.3. Для деякої частини смуг запропонована найбільш ймовірна ідентифікація, що базується на проаналізованих даних робіт [116–118, 137, 156–158, 185, 188, 190, 191]. Люмінесценція, що виникає при збудженні π -електронів, вірогідно проявляється молекулярною смугою в околі довжини хвилі $\lambda = 360$ нм. Смуга з максимумом за довжини хвилі $\lambda = 435$ нм, ймовірно відображає суперпозицію декількох процесів. Окрім інтеркомбінаційних переходів, є можливим збудження групи N_2CH_2 .

Таблиця 3.3.

Молекулярні смуги, які є зареєстрованими у випромінюванні електричного розряду в парах молекул аденіну.

№	λ , нм	Випромінювач	I, відн. од.	Електронний перехід	№	λ , нм	Випромінювач	I, відн. од.	Електронний перехід
1.	255,6	NO	0,005	$A^2\Sigma^+ \rightarrow X^2\Pi$	19.	391,2	N_2^+	0,402	$B^2\Sigma \rightarrow X^2\Pi$
2.	284,9	NO	0,010	$A^2\Sigma^+ \rightarrow X^2\Pi$	20.	395,6	N_2	0,085	$C^3\Pi_u \rightarrow B^3\Pi_q$
3.	299,6	N_2	0,047	$C^3\Pi_u \rightarrow B^3\Pi_q$	21.	400,9		0,162	
4.	312,7	N_2	0,154	$C^3\Pi_u \rightarrow B^3\Pi_q$	22.	407,2		0,131	
5.	315,7	N_2	0,464	$C^3\Pi_u \rightarrow B^3\Pi_q$	23.	411,7		0,017	
6.	329,7	CN^+	0,035	$c^1\Sigma \rightarrow a^1\Sigma$	24.	415,8	CN	0,047	
7.	333,1		0,018		25.	417,5		0,067	
8.	336,5	N_2 NCN	0,999	$C^3\Pi_u \rightarrow B^3\Pi_q$ $^3\Pi_u \rightarrow ^3\Sigma_g^-$	26.	421,8	CN	0,081	
9.	351,9		0,036		27.	423,9		0,042	
10.	353,9	N_2	0,303	$C^3\Pi_u \rightarrow B^3\Pi_q$	28.	429,9	N_2^+ CH	0,119	$B^2\Sigma \rightarrow X^2\Pi$ $A^2\Delta \rightarrow X^2\Pi$
11.	356,5	$C_5H_5N_5$ N_2 HNCN	0,683	$S_1 \rightarrow S_0$ $C^3\Pi_u \rightarrow B^3\Pi_q$ $\tilde{A} \rightarrow \tilde{X}$	29.	436,5	$C_5H_5N_5$ N_2CH_2	0,038	$T_i \rightarrow S_0$ $\tilde{A} \rightarrow \tilde{X}$
12.	365,5		0,016		30.	444,2		0,013	
13.	368,9	N_2	0,020	$C^3\Pi_u \rightarrow B^3\Pi_q$	31.	451,1		0,022	
14.	372,5	N_2	0,083	$C^3\Pi_u \rightarrow B^3\Pi_q$	32.	460,3		0,022	
15.	375,9	N_2	0,290	$C^3\Pi_u \rightarrow B^3\Pi_q$	33.	467,9	CN	0,018	
16.	380,3	N_2	0,395	$C^3\Pi_u \rightarrow B^3\Pi_q$	34.	474,1	CN	0,030	
17.	386,1	CN NH_2	0,447	$B^2\Sigma \rightarrow A^2\Pi$	35.	494,8		0,017	
18.	387,5	CN CNC	0,486	$B^2\Sigma \rightarrow A^2\Pi$ $^2\Delta \rightarrow ^2\Pi$					

Порівняльний аналіз свідчить про загальну подібність спектрів молекул гуаніну і аденіну. Зокрема, молекулярні смуги з $\lambda\lambda = 434,4; 388,2; 354; 337; 326,5; 308$ нм виявлені у спектрах люмінесценції обох вищенаведених пуринових основ. В той же час спектр гуаніну за кількістю спектральних смуг значно багатший за спектр аденіну. Представляється, що це є наслідком наявності у гуаніні, по відношенні до аденіна, атома кисню, що провокує підвищує ймовірність перебігу процесів дисоціативного збудження.

У проведених дослідженнях було виявлено, що максимум фотолюмінесценції для нейтральних розчинів молекул постерігається в області біля 360 нм. Для слабокислого розчину максимум люмінесценції спостерігається в області 380 нм, тобто зміщується в довгохвильову частину спектра. Протилежна картина має місце для слаболужного розчину. Таким чином, рН розчинів молекул помітно впливатиме на форму спектрів, розташування максимуму та інтенсивність люмінесценції. Взаємодія молекул азотистих основ у газовому стані з повільними електронами супроводжується виникненням емісійного спектру складної форми в області 200 – 500 нм, що вказує на інтенсивну фрагментацію молекул, а саме руйнування структури за рахунок дисоціативних збудження та іонізації, процесу збудження електронних рівнів «материнської» молекули і молекулярного іона.

Одержані дані можуть бути використаними при оцінці радіаційних змін у біологічно важливих молекулах ДНК та РНК при внутрішньому β -опроміненні і при вирішенні прикладних задач біомедичної інженерії та радіології.

Серед великої кількості сучасних публікацій, в яких описані спектри збудження та люмінесценції біомолекул нуклеїнових кислот, слід відмітити роботи [193–200].

3.4. Квантово-хімічне моделювання структури біомолекул

Квантово-хімічні розрахунки дають можливість отримати інформацію про фізичну структуру біомолекул, визначати проміжні стадії реакцій, оцінювати найбільш ймовірні напрямки перетворень. Важливо, що з їх допомогою можна прогнозувати фізичні механізми біофізичних процесів, уточнити отримані експериментальні дані, прояснити біофізичні наслідки, передбачити зміни внаслідок дії різних чинників (випромінювання, температура тощо).

Знання електронної будови біомолекул, в тому числі і компонентів нуклеїнових кислот, дає можливість прогнозувати невідомі реакції, зробити висновки відносно їх потенціальної реакційної здатності в основному і збудженому станах. Результати квантово-хімічних розрахунків допомагають розібратися у складному експериментальному матеріалі. Математичні моделі дають можливість отримувати кількісні значення параметрів електронної структури молекул. Оскільки існує кореляція між параметрами електронної структури і фізичними властивостями, то квантово-хімічні розрахунки є потужним інструментом для вивчення структури молекул нуклеїнових кислот [135, 201–234]. У цьому розділі для ідентифікації спектрів молекул, крім експериментальних досліджень, були використані результати розрахунків параметрів фізичної структури нуклеотидних основ при різних впливах.

3.4.1. Методики виконання напівемпіричних квантово-хімічних розрахунків

У сучасній практиці широко використовуються комплекси програм неемпіричної (GAUSSIAN і GAMESS) і напівемпіричної (MOPAC і Hyper Chem) комп'ютерної квантової хімії.

Gaussian – програмний комплекс для розрахунку структурної будови і властивостей складних молекулярних систем в газоподібному та

конденсованому станах. Програмний пакет включає в себе велике різноманіття методів обчислювальної хімії, засобів квантової хімії та молекулярного моделювання. Програмний комплекс був створений лауреатом Нобелівської премії Джоном Поплом та його дослідницькою групою [235, 236]. Пакети програм серії «Gaussian» фахівцями вважаються одними з найпотужніших в розрізі наданих можливостей і досить поширені у використанні. Комплексний метод ZINDO/S є параметризованою версією методики INDO для відтворення УФ-переходів і видимих оптичних переходів в розрахунках конфігураційних взаємодій з одночастковими збудженнями. Даний метод є корисним для прогнозування УФ та видимих спектрів, зате є непридатним для оптимізації геометрії структури чи молекулярної динаміки.

Найбільш доступним є програмний комплекс структурної хімії – HyperChem. Зазначений комплекс є пакетом високотехнологічних програм, які забезпечують можливість квантово-хімічних розрахунків частинок речовини методами напівемпіричної та неемпіричної квантової хімії [237]. Для вивчення характеристик молекул азотистих основ нуклеїнових кислот був використаний саме цей пакет програм. Його дозволяють отримати кількісну інформацію щодо параметрів електронної структури досліджуваної молекули: порядки зв'язків, величини зарядів на атомах тощо. Наявна в програмному комплексі функція оптимізації просторової структури молекули є надзвичайно важливою, оскільки у ході виконання програма знаходить таку геометрію даної молекули, яка б відповідала мінімуму енергії і, відповідно, була б найбільш ймовірною. Також є доступною можливість оптимізувати геометрію і досліджувати будову не тільки нейтральних молекул, але й катіонних та аніонних форм.

Для виконання розрахунків параметрів будови молекул слід використовувати напівемпіричний метод AM1, що добре себе зарекомендував для теоретичного вивчення молекул нуклеотидних основ [140, 155]. Основна мотивація вибору теоретично-розрахункового методу – доступність реалізації при прийнятній швидкості отримання інформації та її якості. В основі

вищенаведеного напівемпіричного квантово-хімічного методу розрахунку лежить метод молекулярних орбіталей. Зазначений метод є вдосконаленою модифікацією MNDO (Modified Neglect of Diatomic Overlap method), модифікованої методики нехтування діатомним диференціальним перекриванням, яка, в свою чергу, була розроблена з врахуванням особливостей молекул, що містять в собі атоми з масовим числом більше 14 [226, 238, 239]. Даний метод був запропонований Дж. Деваром та співробітниками з Техаського університету в Аустині, внаслідок чого і отримав назву AM1 (Austin Model 1).

База даних та моделі, які використовує HyperChem, дозволяють проводити квантово-хімічний розгляд молекулярних компонентів нуклеїнових кислот. Очевидно, найкращим способом перевірки теоретичних методів досліджень властивостей біомолекул є експеримент, наприклад, спектральні дослідження. Важливо, що сама молекула ДНК є носієм інформації, яку на сьогоднішній день не міг би зберігати, обробляти жоден комп'ютер, або навіть мозок людини, при тому, що кількість складових елементів ДНК хоч і велика, але досить обмежена. Це означає, що існує якийсь прихований код в інформаційних біомолекулах, тобто вони, можливо, не є безпосередньо носіями інформації для використання, а є носіями алгоритму (методу архівації) запису інформації. Тому моделювання при дослідженні біомолекул і є одним з найбільш перспективних методів знаходження хоча б частково цього алгоритму, знання якого дало б можливість розв'язати безліч актуальних на сьогоднішній день проблем біології, хімії, медицини, техніки та навіть інформатики.

З аналізу літературних джерел випливає, що теоретичні методи досліджень генетичних біомолекул та їх складових на сьогоднішній час надзвичайно розвинуті [136, 203, 207, 209, 210, 212, 217, 218, 220–224, 229, 230]. Найбільше значення з теоретичних методів мають квантова хімія та молекулярна динаміка. Прикладом використання квантово-хімічних розрахунків для уточнення інтерпретації експериментальних результатів є моделювання взаємодії молекул дезоксирибози з повільними електронами [188]. Аналіз параметрів електронної

структури нейтральної та аніонної форм даної молекули дозволив уточнити механізм електронного захоплення та передбачити найбільш імовірні канали розпаду аніонів дезоксирибози, що утворюються внаслідок електронного захоплення. У дослідженнях [134–136] було продемонстровано застосування методу квантово-хімічних розрахунків для отримання ефективних перерізів іонізації і збудження нуклеотидних основ в результаті зіткнень з електронами. Також була оцінена спорідненість до електронів молекул цитозину, був оцінений розподіл електронної густини як в основному, так і в збудженому стані, з наданою можливістю уточнення механізмів розсіяння електронів вказаними молекулами. В роботі [216] вивчалась модифікація параметрів Уотсон-Криківських пар в результаті електронного захоплення. Також відмічено [134–136], що електронне захоплення (аніоноутворення) послаблює внутрішньомолекулярні зв'язки у компонентах НК, що може стати причиною їх руйнування.

Квантово-хімічні розрахунки також застосовувались і для вивчення молекулярних механізмів генотоксичного впливу ультрафіолетового випромінювання базуючись на дослідженнях збуджених станів молекул компонентів нуклеїнових кислот [63, 212, 213, 215]. Висновки авторів робіт є одноставними: в результаті процесів збудження під впливом випромінювання в УФ-діапазоні, збурюються виключно всі параметри електронної та просторової структури молекул компонентів НК, відбувається зсув таутомерної рівноваги.

Отже застосування апарату квантово-хімічних розрахунків надає можливість поглиблення і якісного висвітлення інтерпретації експериментальних результатів та усунення неоднозначностей при її трактуванні.

Однак, слід враховувати, що, поскільки точний квантово-механічний розрахунок для структури, складнішої за атом гелію, неможливий, то і комплекс програм структурної хімії HyperChem є лише наближенням.

Алгоритм програми можна умовно поділити на кілька основних етапів: 1) вибір досліджуваної молекули – її хімічної формули, визначення вихідних параметрів; 2) побудова її просторової моделі - молекулярної структури, тобто визначення віддалей та кутів між атомами у просторі; 3) вибір наближення квантово-хімічного розрахунку, 4) вибір методу квантово-хімічного розрахунку та встановлення необхідних параметрів, 5) вибір режиму квантово-хімічного розрахунку. Визначаються такі енергетичні характеристики вибраної молекули: повна енергія, енергії іонізації, енергія ізольованих атомів, які входять до складу хімічної частинки, електронна енергія - розраховується електронно-орбітальна характеристика сполуки (визначаються заповнені - основні та збуджені електронні енергетичні стани), енергія взаємодії атомних орбіталей, стандартна енергія. Розрахунки опираються на ітераційну збіжність застосованих квантово-механічних наближень та супроводжуються візуалізацією молекулярної структури у просторі та розрахунком енергетичних електронних станів.

Під електронною структурою молекул у різних електронних станах розуміється розподіл електронної густини по атомах молекули; величини, що характеризують міцність зв'язків між атомами, і зміни цих величин при переході молекули у збуджений стан [240–242]. Для молекул пуринів та піримідинів, якщо нехтувати їхньою непланарністю, важливими характеристиками є π -електронні заряди на атомах і π -електронні порядки зв'язків між ними, які якісно характеризують їхню міцність. Якщо π -електронний порядок зв'язку $R_{\pi v}$ менший 0,4, то зв'язок можна вважати одинарним, а при $R_{\pi v} \geq 0,8$ – подвійним. Незважаючи на умовність, такий поділ є корисним для оцінки міцності внутрішньомолекулярних зв'язків, наприклад, для оцінки найбільш імовірних каналів дисоціації сполуки. Для всіх форм нуклеотидних основ молекулярні орбіталі є орбіталями π -типу. При збудженні піримідинових основ, як правило, має місце приток заряду до атомів C4 та C6 і відтік – від атомів C5 і O2.

Для побудови аніонних форм молекулярних об'єктів дослідження, необхідним є врахування нижченаведених параметрів. Насамперед, треба задати

величину повного заряду молекули (total charge), яка є різницею між абсолютною кількістю електронів у системі та сумарним зарядом ядер. Заряд молекул в основному та збудженому станах буде нульовим, для катіонів – додатнім, для аніонів, відповідно, від'ємним. Також необхідно задати значення мультиплетності по спіну (spin multiplicity), що розраховується із співвідношення $2S+1$, де S – абсолютний спін досліджуваної системи. Кожний неспарений електрон має спін, що дорівнює значенню $\frac{1}{2}$. З огляду вищеприведеного молекулярні системи із закритою оболонкою в основних та збуджених станах мають значення мультиплетності – 1. У системах, де існує один неспарений електрон (одноразово заряджені аніонні і катіонні форми молекул), величина мультиплетності є рівною 2. В системах з двома неспареними електронами, з триплетними станами або дворазово зарядженими аніонними і катіонними формами молекул значення мультиплетності дорівнює 3.

Процедура оптимізації геометрії молекулярної системи в режимі покращення всіх структурних параметрів проводиться для нейтральних та аніонних форм досліджуваних сполук. Для пошуку кон'югованого градієнта застосовується метод Флетчера-Рівса з точністю 0,0001 ккал/моль. Також розраховується порядок зв'язків, що відображає ступінь перекривання електронних хмар сусідніх атомів та служить показником енергетичної міцності даного зв'язку. Програмний комплекс дозволяє таким же чином розраховувати площинні та просторові кути у молекулі. До прикладу, просторовий кут ABCD окреслює просторову структуру молекули, в склад якої входять відповідні атоми A, B, C та D. Іншими словами, просторовий кут ABCD являється кутом між площинами ABC і BCD.

Основою для всіх напівемпіричних розрахунків є адіабатичне наближення. Зазначений квантовомеханічний підхід застосовується в теорії радіаційних та нерадіаційних переходів в молекулярних системах [240–242]. Стан вказаних систем описується наступним хвильовим рівнянням:

$$\hat{H}\Psi(r,R)=\left[-\sum_i\frac{\hbar^2}{2m}\Delta_i-\sum_I\frac{\hbar^2}{2M_I}\Delta_I-\sum_{i,I}\frac{e^2Z_I}{|\vec{r}-\vec{R}_I|}+\right. \\ \left.+\sum_{i<j}\frac{e^2}{|\vec{r}_i-\vec{r}_j|}+\sum_{I<J}\frac{e^2Z_I Z_J}{|\vec{R}_I-\vec{R}_J|}\right]\Psi(r,R)=E\Psi(r,R)$$

в якому перші дві складові є операторами кінетичної енергії електронів і ядер, а наступні три являють собою потенціальні енергії притягування електронів до ядер, відштовхування між собою електронів і відштовхування між ядрами.

З врахуванням того, що хвильове рівняння містить в собі залежність від сукупності координат $\{r\}$ і $\{R\}$ всіх електронів та ядер, то розв'язання вищеприведеного рівняння значно ускладнюється порівняно із атомним рівнянням. Для розділення рухів електронів та ядер, як правило, застосовують адіабатичне наближення Борна-Оппенгеймера [240–242], відправним пунктом якого є припущення, що ядерні маси є дуже великими в порівнянні з масою електрона.

Для оцінки реакційної здатності біомолекул та їхніх фрагментів основними важливими характеристиками (параметрами структури) молекул є такі: розподіл електронних густин, кути між зв'язками, довжини та порядки зв'язків (між останніми існує обернено пропорційна залежність). Енергія дисоціації прямо пропорційна порядку зв'язку, тобто чим менший порядок зв'язку, тим менша енергія дисоціації молекули, а значить більша хімічна активність.

$$\text{Порядок зв'язку} = \frac{\text{Кількість зв'язуючих електронів} - \text{Кількість антизв'язуючих електронів}}{2}$$

Слід відмітити, що для реакційної здатності особливе значення має випадок іонізації молекул, так як саме іонізовані молекули найбільш хімічно

активні. Тому, поряд із зарядово нейтральними молекулами, слід досліджувати і випадки як додатньо, так і від'ємно заряджених іонів молекул.

3.4.2. Результати розрахунків структурних параметрів нуклеотидних основ

Інформація про особливості фізичної структури біомолекул важлива для розуміння наслідків впливу випромінювання (повільні електрони, ультрафіолет) на живі клітини. Розрахунки структурних параметрів (довжин і порядків зв'язків, розподілу зарядів, електростатичних потенціалів тощо) проводились для молекул нуклеотидних основ: цитозину, тиміну, урацилу, аденіну і гуаніну та їхніх позитивних і негативних іонів.

Цитозин є однією з п'яти нуклеотидних основ, складовою частиною нуклеїнових кислот (ДНК і РНК), що використовується для зберігання та транспортування генетичної інформації у межах клітини. Дана азотиста основа має молекулярну формулу $C_4H_5N_3O$ та є похідною піримідину. У нуклеїнових кислотах цитозин створює три водневі зв'язки з гуаніном.

На рис. 3.31 – 3.41 наведені результати розрахунків у вигляді схем з вказаними розрахованими величинами.

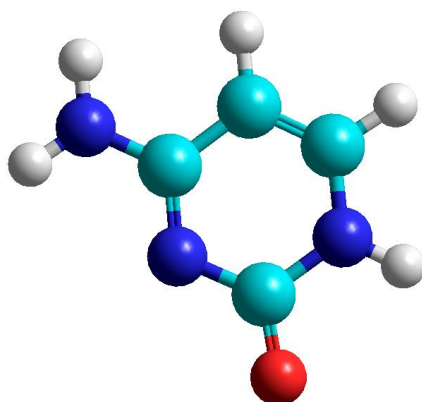


Рис. 3.31. Нейтральна молекула цитозину.

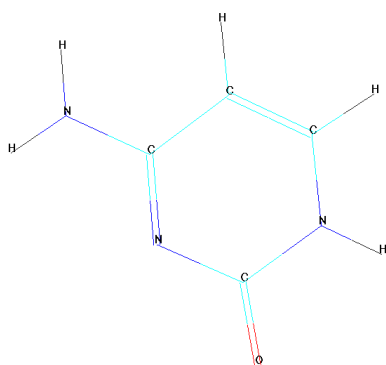


Рис. 3.32. Схема нейтральної молекули цитозину

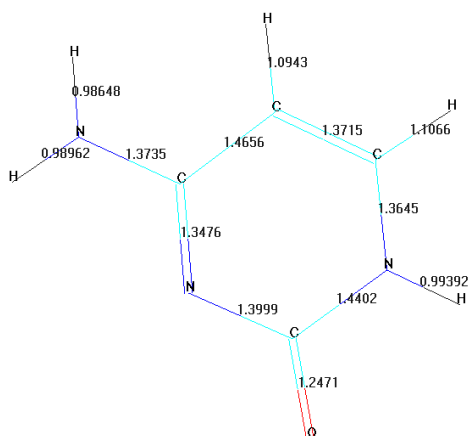


Рис. 3.33. Довжини зв'язків молекули цитозину.

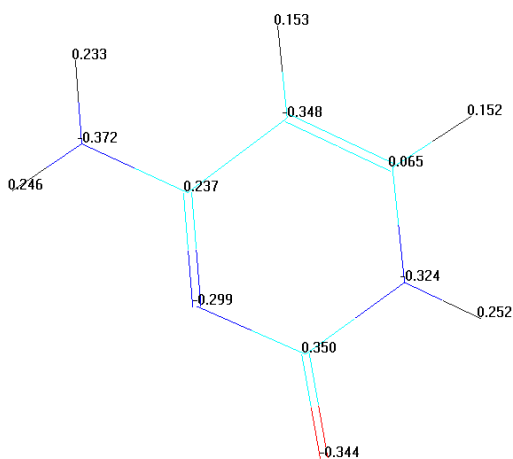


Рис. 3.34. Розподіл зарядів молекули цитозину.

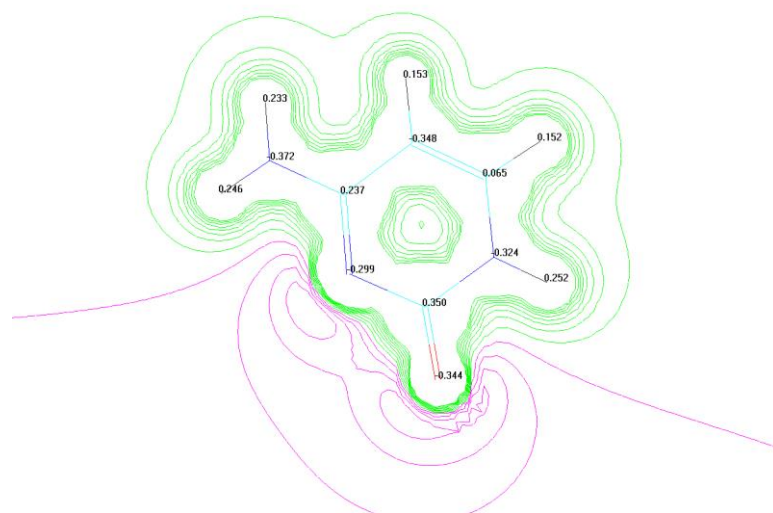


Рис. 3.35. Електростатичний потенціал молекули цитозину.

Позитивні іони цитозину можуть утворитись внаслідок відриву π - електрона. Це може статись, коли молекули опромінюються електронами чи фотонами з певною енергією.

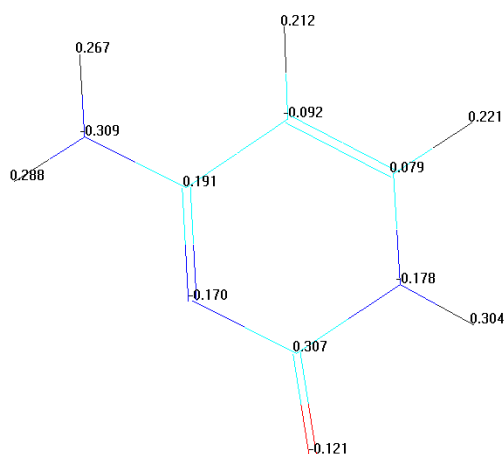


Рис. 3.36. Розподіл зарядів позитивного іона цитозину.

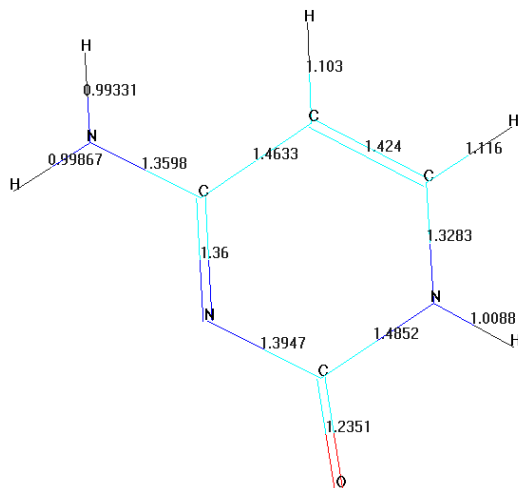


Рис. 3.37. Довжини зв'язків позитивного іона цитозину.

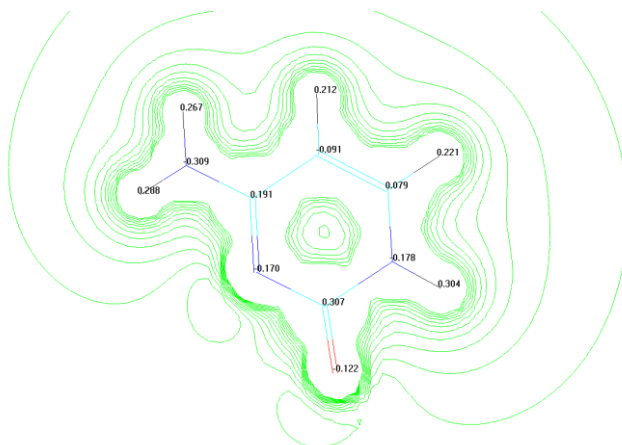


Рис. 3.38. Електростатичний потенціал позитивного іона цитозину

Негативні іони цитозину можуть утворитись за рахунок захоплення вільних електронів піримідиновим кільцем. Такі електрони у середовищі завжди присутні завдяки іонізації його зарядженими частинками вторинного космічного випромінювання.

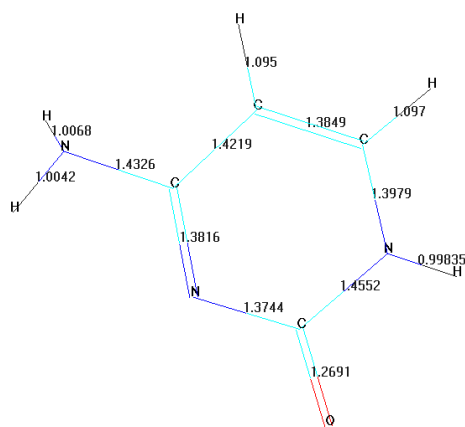


Рис. 3.39. Довжина зв'язків негативного іона цитозину

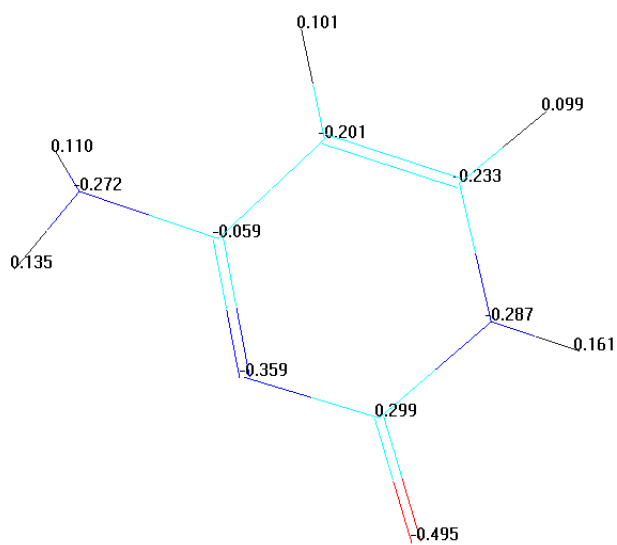


Рис. 3.40. Розподіл зарядів негативного іона цитозину.

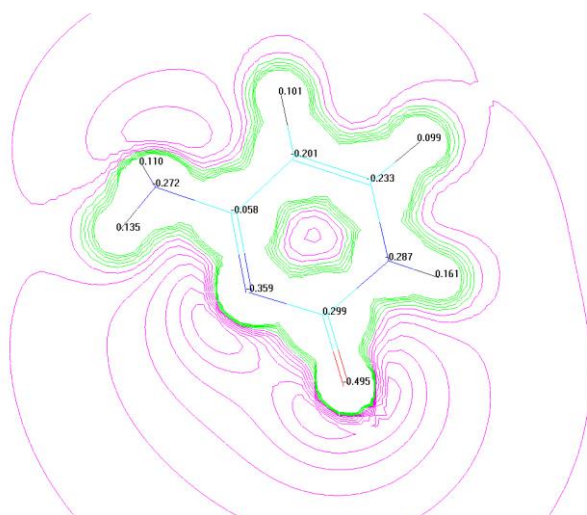


Рис. 3.41. Електростатичний потенціал негативного іона цитозину.

Тимін (5-метилурацил) є піримідиною азотистою основою (рис. 3.42 та може бути отриманим шляхом метилювання п'ятого атома вуглецю урацилу. Формула тиміну $C_5H_6N_2O_2$. На рис. 3.43 – 3.46 наведені результати розрахунків у вигляді схем із вказаними розрахованими величинами.

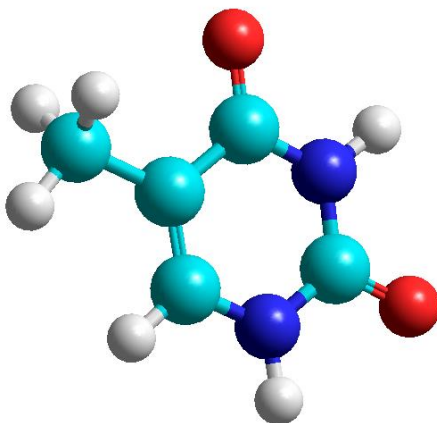


Рис. 3.42. Молекула тиміну.

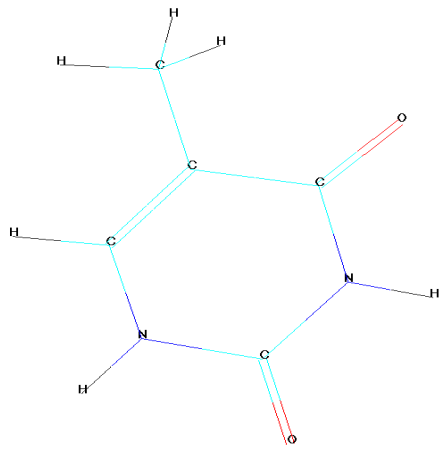


Рис. 3.43. Схема молекули тиміну.

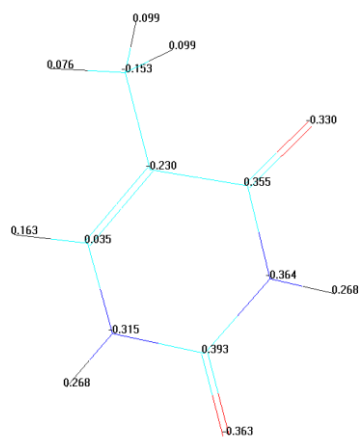


Рис. 3.44. Розподіл зарядів у молекулі тиміну.

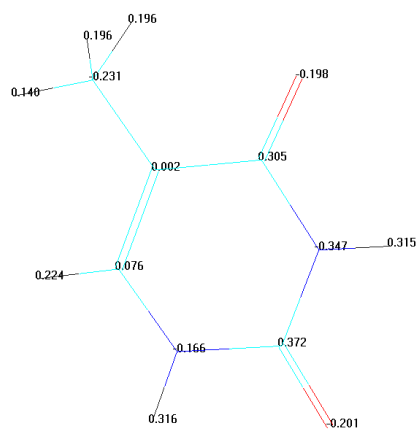


Рис. 3.45. Розподіл зарядів у позитивному іоні тиміну.

Позитивні іони тиміну можуть утворитись внаслідок відриву π -електрона від молекули. Це може статись коли молекули опромінюються електронами чи фотонами з певною енергією.

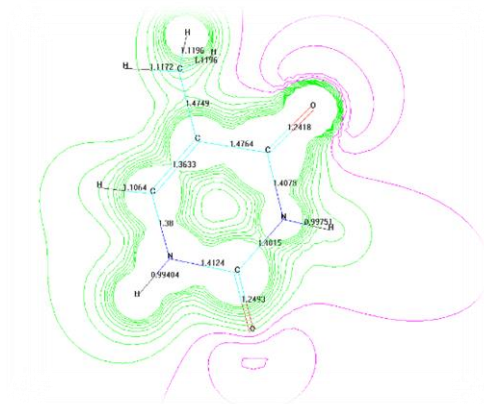


Рис. 3.46. Електростатичний потенціал позитивного іона тиміну.

Негативні іони тиміну можуть утворитись за рахунок захоплення вільних електронів піримідиновим кільцем. Такі електрони у середовищі завжди присутні завдяки іонізації його зарядженими частинками вторинного космічного випромінювання.

На рис. 3.47 – 3.49 наведено дані розрахунків для негативного іону тиміну.

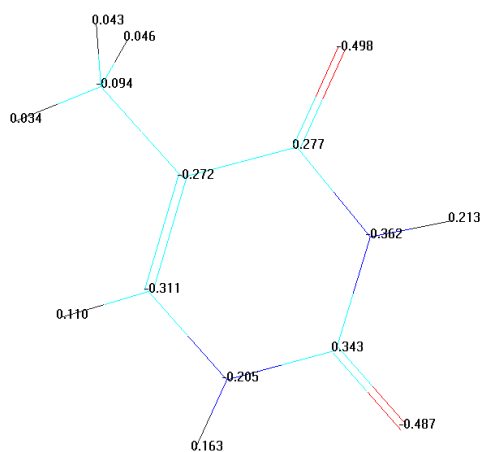


Рис. 3.47. Розподіл зарядів негативного іона тиміну.

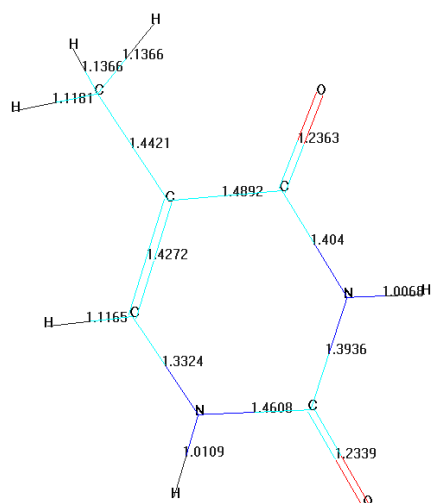


Рис. 3.48. Довжини зв'язків негативного іона тиміну.

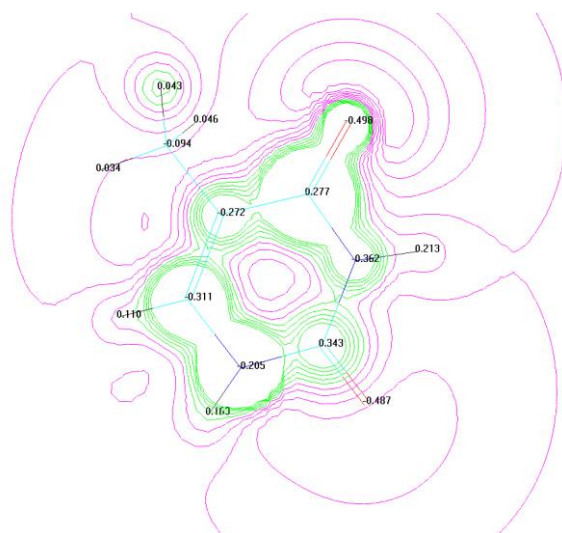


Рис. 3.49. Електростатичний потенціал негативного іона тиміну.

Аденін є однією з двох пуринових основ, що утворюють нуклеїнові кислоти ДНК і РНК. У дезоксирибонуклеїновій кислоті приведена азотиста основа утворює комплементарну пару з тиміном через два водневі зв'язки а в рибонуклеїновій зв'язується з урацилом. Формує дезоксиаденозин у зв'язку з

дезоксирибозою та аденозин, у випадку, коли зв'язується з рибозою. Також формує нуклеотид аденозин-трифосфат (АТФ), який має додані до аденозину трифосфатні групи. АТФ використовується у клітинному метаболізмі як метод передачі хімічної енергії при проходженні хімічних реакцій. Припускається, що перша молекула аденіну була утворена полімеризацією 5 молекул ціаніду водню (HCN) при зародженні життя на планеті Земля. Формула аденіну $C_5H_5N_5$.

На рис. 3.51 – 3.53 наведені результати розрахунків у вигляді схем з вказаними розрахованими величинами. Нейтральна молекула аденіну (рис. 3.50).

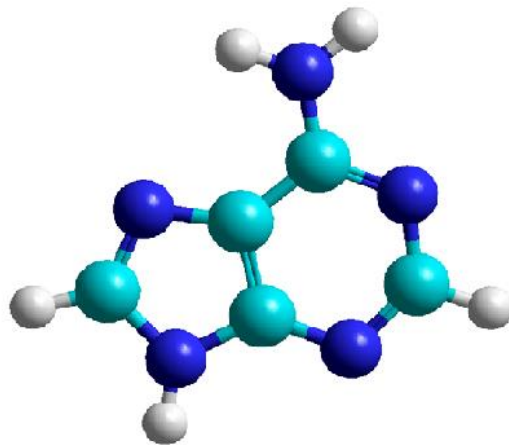


Рис. 3.50. Молекула аденіну.

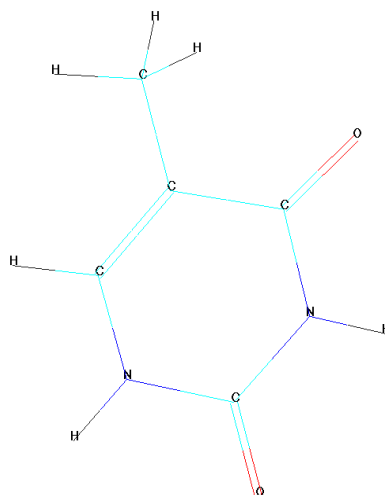


Рис. 3.51. Схема нейтральної молекули аденіну.

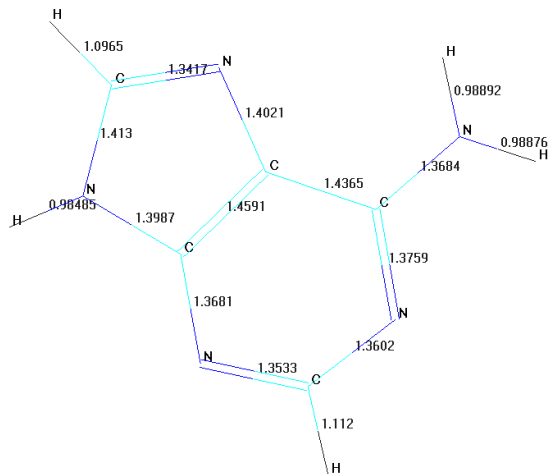


Рис. 3.52. Довжини зв'язків молекули аденіну.

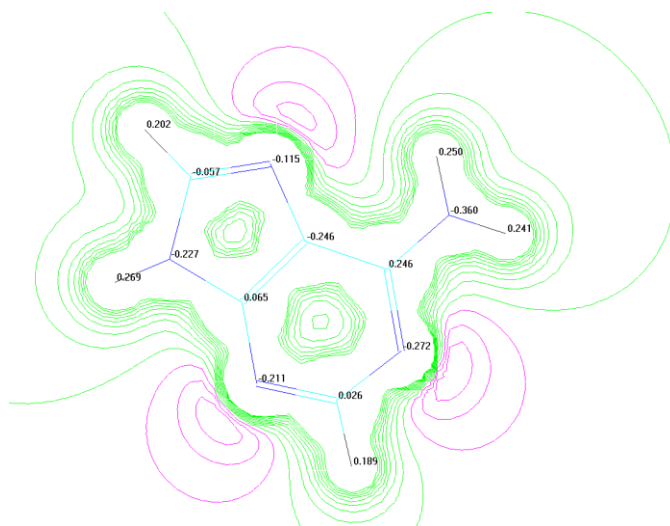


Рис. 3.53. Електростатичний потенціал молекули аденіну.

Позитивні іони аденіну можуть утворитись внаслідок відриву π -електрона. Це може статись коли молекули опромінюються електронами чи фотонами з певною енергією.

На рис. 3.54 – 3.56 наведено дані розрахунків для позитивного іона аденіну.

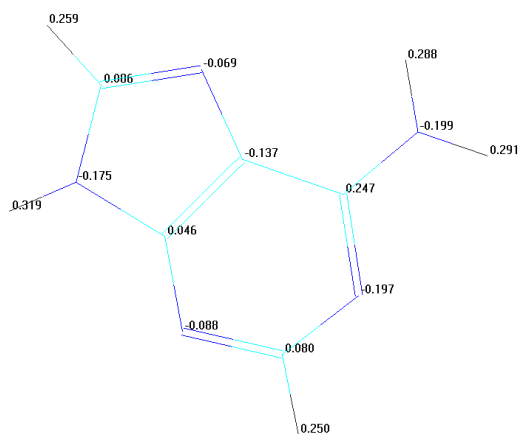


Рис. 3.54. Розподіл зарядів позитивного іона аденіну.

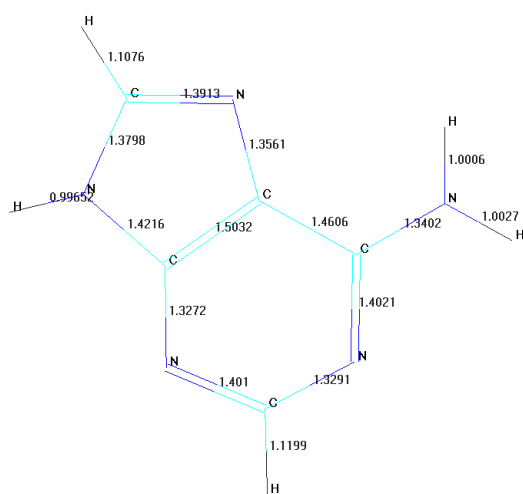


Рис. 3.55. Довжини зв'язків позитивного іона аденіну.

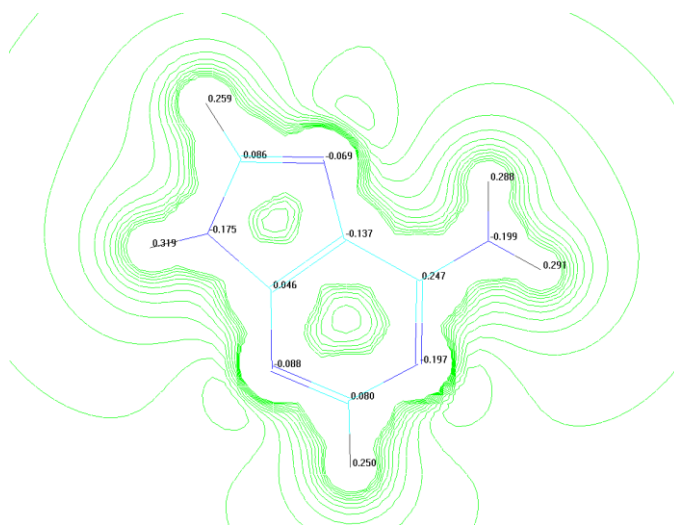


Рис. 3.56. Електростатичний потенціал позитивного іона аденіну.

Негативні іони аденіну можуть утворитись за рахунок захоплення вільних електронів пуриновим кільцем. Такі електрони у середовищі завжди присутні завдяки іонізації його зарядженими частинками вторинного космічного випромінювання. На рис. 3.54 – 3.56 наведено дані розрахунків для позитивного іону аденіну, на 3.57 – 3.59 – для негативного.

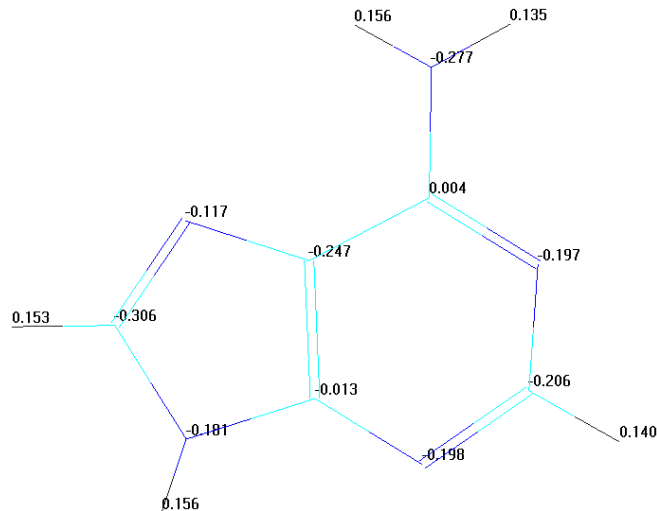


Рис. 3.57. Розподіл зарядів негативного іона аденіну.

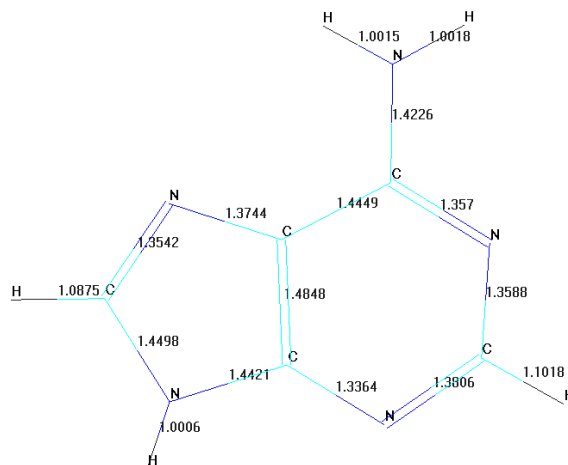


Рис. 3.58. Довжина зв'язків негативного іона аденіну.

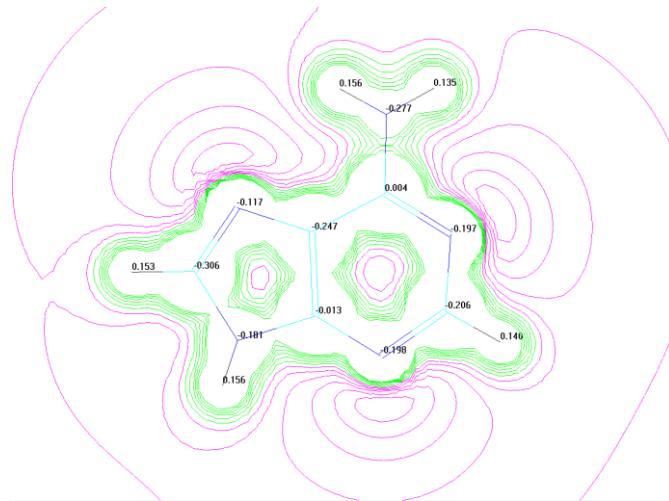


Рис. 3.59. Електростатичний потенціал негативного іону аденіну.

Гуанін – одна з п'яти азотистих основ, яка входить до складу нуклеїнових кислот ДНК та РНК. Має хімічну формулу $C_5H_5N_5O$ і є похідною пурину. Формує нуклеозид – гуанозин. На рис. 3.60 – 3.64 наведені результати розрахунків у вигляді схем з вказаними розрахованими величинами.

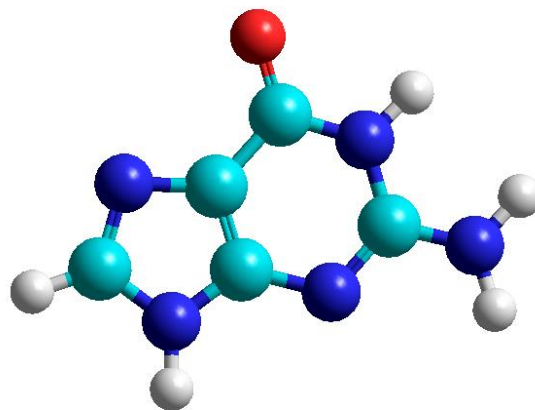


Рис. 3.60. Молекула гуаніну.

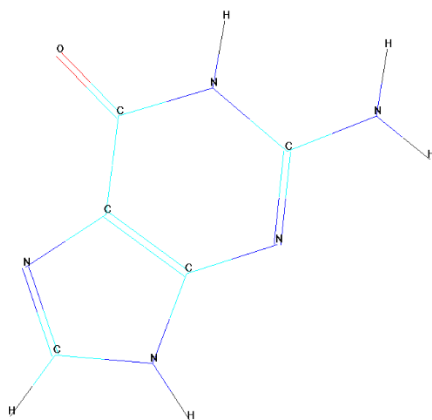


Рис. 3.61. Схема нейтральної молекули гуаніну

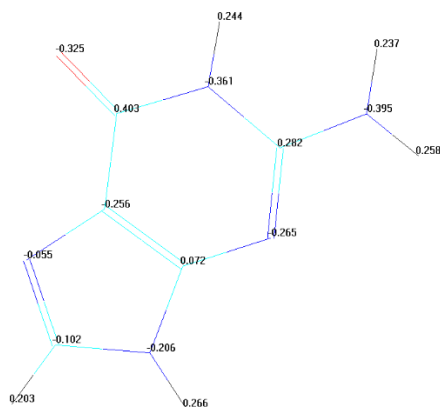


Рис. 3.62. Розподіл зарядів нейтральної молекули гуаніну

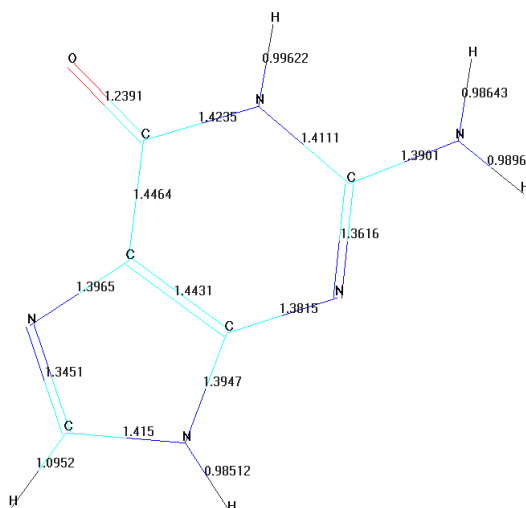


Рис. 3.63. Довжина зв'язків нейтральної молекули гуаніну

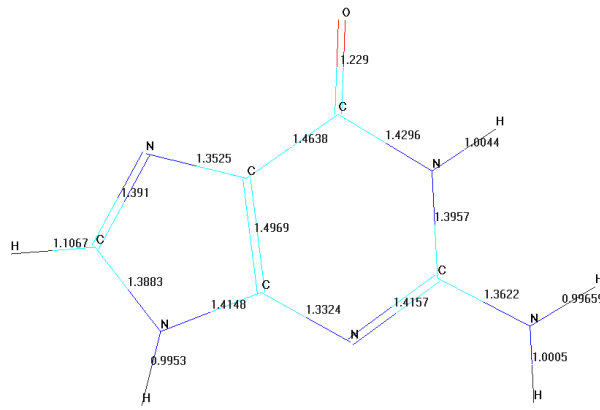


Рис. 3.66. Довжини зв'язків позитивного іона гуаніну

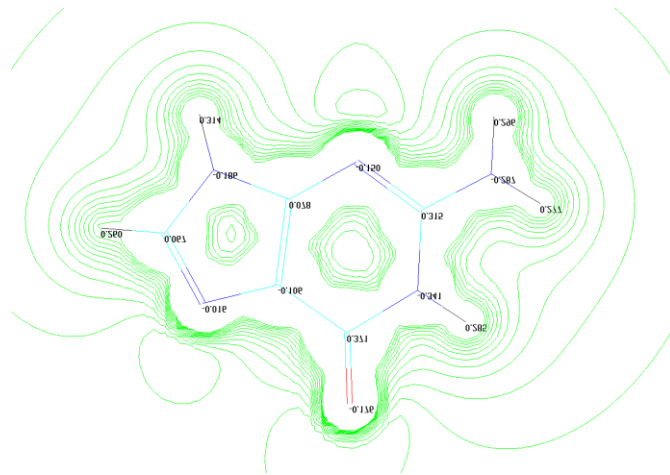


Рис. 3.67. Електростатичний потенціал для позитивного іона гуаніну

Негативні іони гуаніну можуть утворитись за рахунок захоплення вільних електронів (рис. 3.68 – 3.70). Такі електрони у середовищі завжди присутні завдяки іонізації його зарядженими частинками вторинного космічного випромінювання.

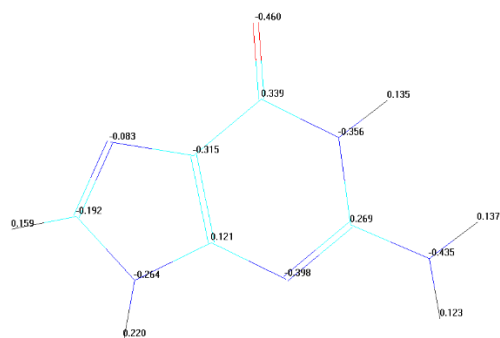


Рис. 3.68. Схема розподілу зарядів для від'ємного іона гуаніну

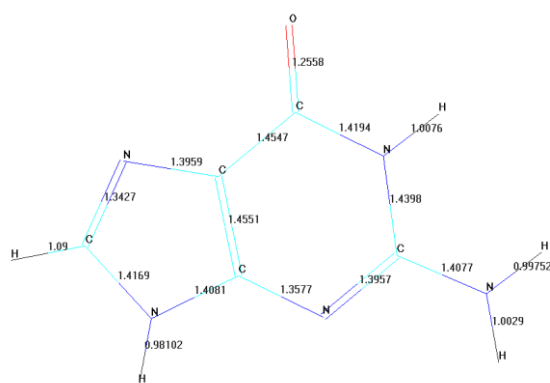


Рис. 3.69. Довжини зв'язків для від'ємного іона гуаніну.

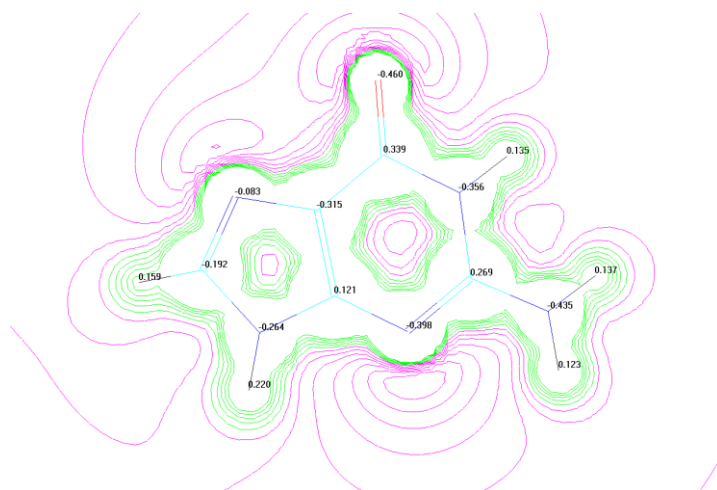


Рис. 3.70. Електростатичний потенціал для від'ємного іона гуаніну

За даними розрахунків густини зарядів на кожному з атомів молекули тиміну (рис. 3.43), максимальна густина позитивного заряду локалізована на атомах водню та вуглецю, безпосередньо максимальна густина знаходиться на атомі C5 (0,485 eV). Максимальна густина негативного заряду локалізована на атомі азоту N4 із зарядом -0,407 eV. Атоми з позитивним зарядом є ймовірними об'єктами атаки електронів, що призведе при вищій енергії електронів до розриву зв'язків молекули.

Провівши розрахунки густини зарядів молекули аденіну (рис. 3.53), можна стверджувати, що максимальна густина негативного заряду знаходиться на атомах азоту та вуглецю, а саме на атомі N6 з густиною заряду -0,381 eV. Максимальна густина ж позитивного заряду локалізована на атомі C5 із зарядом 0,344 eV.

На рис. 3.34 зображені розрахунки густини заряду для азотистої основи цитозину. Як видно, максимальна густина позитивного заряду розташована на атомі вуглецю C4 = 0,437 eV. Максимальна густина негативного заряду – атом азоту N5 = -0,392 eV.

Відповідно до проведених розрахунків, максимальна густина позитивного заряду для молекули гуаніну (рис. 3.64) локалізована на атомі водню H13 (0,852 eV). Максимальна густина негативного заряду - на атомі азоту N10 (-0,351 eV).

Відповідно до Таблиці 3.5 для молекули тиміну, максимальна довжина припадає на зв'язок C1-C2 із значенням довжини 1,4548 Ангстрем, а найбільше значення кута молекули тиміну є між атомами C1-C5 – 125,46°. Для молекули цитозину максимальна довжина також припадає на зв'язок C1-C2 = 1,4564 А, а максимальний кут – C4-C8 = 121,51°.

Таблиця 3.5.

Величини кутів піримідинових азотистих основ тиміну та цитозину

Номер атомів		Кут, °	
Тимін	Цитозин	Тимін	Цитозин
C1-H12	H12-H11	119,898	120
O7-N6	N6-C2	118,527	120,77
H11-C5	H11-C1	117,272	120
N6-O8	C1-H9	121,895	120,43
O8-N4	H9-C8	120,067	120,43
C5-H12	C2-H13	117,503	119,68
C5-H11	H13-N3	118,17	119,68
N4-H10	C2-N3	115,615	120,63
H15-C2	C8-H10	122,272	119,24
N4-C2	H10-C4	122,112	119,24
C3-H11	N3-O7	123,152	119,54
C2-H14	O7-N5	111,274	119,54
H10-C2	C4-C1	109,955	119,36
C9-C1	N5-N6	117,199	120,77
C2-N6	C1-H12	116,498	120
C2-O7	C2-N5	124,975	118,44
O7-N6	C1-C8	118,527	119,12
C1-C5	C4-C8	125,46	121,51
C1-C3	N3-N5	119,4	120,91
C3-C9	-	121,93	-
H14-H13	-	107,24	-
H15-H13	-	108,18	-
C3-C5	-	123,62	

Таблиця 3.6.

Величини кутів пуринових азотистих основ аденіну та гуаніну

Номер атомів		Кут, °	
Аденін	Гуанін	Аденін	Гуанін
H12-C9	O11-C3	126,70	121,79
H12-C4	O11-N2	126,56	121,79
C4-C9	C1-H12	106,73	118,98
N8-H13	C1-C4	121,94	120,21
N8-N7	C1-C5	112,20	122,04
H13-N7	N2-N6	125,84	122,64
C9-C5	N2-N10	105,64	118,67
N7-C4	H12-C5	109,83	118,98
C5-N8	C5-H14	105,58	120,00
N7-C6	C5-C4	133,80	117,67
C5-N10	C5-H15	124,60	120,00
C6-H14	N10-N6	121,21	118,67
C6-H15	H14-H15	121,85	120,00
H14-H15	N6-C3	116,92	121,01
N1-N10	N6-N8	116,99	129,32
C6-C2	C4-C9	119,55	104,78
N1-H11	C4-N7	115,80	110,52
N1-N3	N8-N7	127,34	108,64
C2-C4	N8-H13	112,88	125,67
H11-N3	N8-C3	116,85	109,66
N8-N3	C9-C3	128,96	106,38
N3-C5	H13-N7	125,45	125,67
C4-C6	N7-C1	116,36	129,26
-	C3-N2	-	116,41

За даними Таблиці 3.6 для молекули аденіну максимальний кут між атомами припадає на зв'язок N7-C6 із значенням $133,80^{\circ}$, а максимальна довжина зв'язку – $1,432 \text{ \AA}$ на зв'язок C4-C5. Максимальний кут між атомами N6- N8 в молекулі гуаніну – $129,32^{\circ}$, максимальна довжина зв'язку – $C3-C1=1,44 \text{ \AA}$.

Урацил – одна з піримідинових основ, яка використовується в утворенні нуклеотидів РНК.

На рис. 3.71 – 3.72 показані молекули урацилу та довжини зв'язків у катіоні урацилу. Для молекул урацилу з допомогою програми HyperChem обчислені розподіли електронних густин, порядки зв'язків, довжин зв'язків а також кути (таблиці 3.7 – 3.9).

Для порівняння розглянуто як нейтральну молекулу, так й іон цієї молекули.

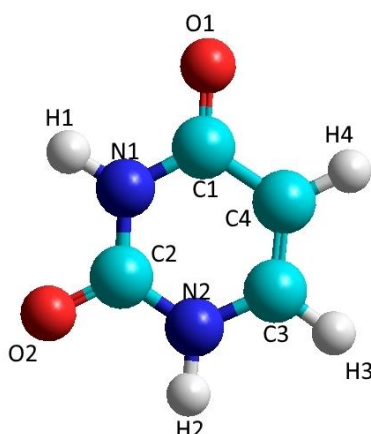


Рис. 3.71. Молекула урацилу

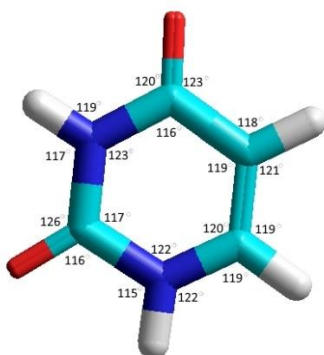


Рис. 3.72. Кути у молекулі урацилу

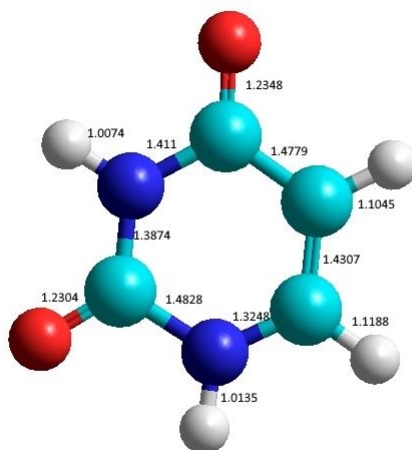


Рис. 3.73. Довжини зв'язків у катіоні урацилу

Таблиця 3.7

Довжини зв'язків у катіоні урацилу

Зв'язок	Довжина зв'язку, Å
O1-C1	1.23
C1-N1	1.41
N1-H1	1.0074
N1-C2	1.38
C2-O2	1.23
C2-N2	1.48
N2-H2	1.01
N2-C3	1.32
C3-H3	1.11
C3-C4	1.43
C4-H4	1.1
C1-C4	1.47

Таблиця 3.8

Порядки зв'язків та їх сума в урацилі

Зв'язок	Порядок зв'язку в урацилі		
	аніон	нейтральний	катіон
O1-C1	1.6069	1.7899	1.8668
C1-N1	1.0805	0.9803	0.9579
N1-H1	0.8858	0.8742	0.8476
N1-C2	0.8857	1.0415	1.0768
C2-O2	1.6682	1.7133	1.8783

C2-N2	0.6128	0.9986	0.8015
N2-H2	0.8355	0.8783	0.8496
N2-C3	1.2658	1.102	1.5285
C3-H3	0.94	0.9317	0.9052
C3-C4	1.5095	1.7445	1.1845
C4-H4	0.951	0.9340	0.9098
C1-C4	1.0563	0.9886	0.9584
Σ	13.298	13.9769	13.7649

Таблиця 3.9

Розподіл густин зарядів в урацилі

Зв'язок	Розподіл густин зарядів в урацилі		
	аніон	нейтральний	катіон
O1	-0.502	-0.330	-0.153
N1	-0.380	-0.365	-0.349
H1	0.173	0.268	0.318
C2	0.265	0.394	0.375
O2	-0.502	-0.361	-0.185
N2	-0.264	-0.319	-0.129
H2	0.078	0.268	0.320
C3	0.02	0.048	0.106
H3	0.067	0.163	0.235
C4	0.421	-0.3	-0.075
H4	0.113	0.181	0.239
C1	0.353	0.353	0.298
Σ	-0,158	0	1

Аналізуючи таблиці розподілу електронних густин можна визначити найбільш додатньо заряджені області молекули (або іона), тобто найбільш вразливі для низькоенергетичних (одиниці-десятки eV) електронів. Очевидно, що найбільш вразливими мішенями для потоку низькоенергетичних електронів є області атомів (таблиця 3.9): C1, C2, C4 у аніоні урацилу; C1, C2, H1, H2 у нейтральному урацилі; області C1, C2, H1, H2 у катіоні урацилу. Цю інформацію можна використати на практиці, наприклад, в молекулярній електроніці, в біоінженерії та при конструюванні біосенсорів.

При іонізації молекули змінюються такі характеристики: розподіл електронних густин, довжини зв'язків, просторові кути між зв'язками та порядки зв'язків. Однак, найбільш інформативні, з погляду визначення хімічної активності, є порядки зв'язків (обернено пропорційні довжинам зв'язків) та розподіл електронних густин. Аналіз розподілу електронних густин та порядків зв'язків показує (таблиці 3.8, 3.9), що при іонізації ці параметри локально змінюються. Хоча, як видно з розподілу порядків зв'язків (табл. 3.8), при іонізації домінує зменшення порядків зв'язків, що свідчить про просторово локальне зростання хімічної активності молекули. Тому, можливо, найбільш глобальним параметром, що відображає хімічну активність молекули може бути сумарний порядок зв'язку молекули (таблиця 3.8), який буде адекватно відображати її енергію дисоціації.

Аналізуючи у таблиці 3.8 сумарний порядок зв'язку у нейтральній та іонізованих молекулах азотистих основ, можна відмітити наступне: як і можна було сподіватися, у випадку іонізованих молекул сумарний порядок зв'язків менший, ніж у нейтральній молекулі, що свідчить про їх більшу хімічну активність. Причому найбільша хімічна активність спостерігається у катіонів.

Отримані результати показують значимість іонізуючого впливу зовнішніх факторів, таких як електромагнітне (гамма, рентгенівське, ультрафіолетове) та корпускулярне (альфа, бета, протони) опромінення, на хіміко-біологічні властивості азотистих основ. Аналогічного впливу можна сподіватися і у випадку макромолекул ДНК та РНК. Цей вплив може призводити до різного роду мутагенних змін, що іноді має як позитивний (еволюція, яка за своєю суттю є мутацією), так і негативний наслідок (різного роду новоутворення - пухлини, а також шкідливі мутації).

Висновки до розділу 3

1. Вперше досліджено збудження молекул азотистих основ нуклеїнових кислот у газовій фазі повільними монокінетичними електронами, енергія яких регулювалась у діапазоні від 0 до 100 еВ. Експериментально отримані спектри фотоемісії (люмінесценції) цитозину, тиміну, урацилу, гуаніну і аденіну під дією електронів в діапазоні довжин хвиль 200 – 500 нм для різних енергій бомбардуючих електронів. Виявлено, що емісійні спектри мають складну структуру. У спектрах чітко проявляється низка молекулярних смуг, кількість та інтенсивність яких залежить від енергії налітаючих електронів.
2. У діапазоні 0 – 100 еВ досліджені функції збудження (енергетичні залежності перерізів збудження) молекулярних смуг у максимумі і проаналізовані їхні особливості: положення максимумів, форма функцій, значення енергетичних порогів. Аналіз функцій збудження показав присутність інтеркомбінаційних переходів з подальшим утворенням триплетних метастабільних станів біомолекул.
3. Здійснені квантово-хімічні розрахунки основних параметрів фізичної структури нуклеотидних основ.

РОЗДІЛ 4

ІОНІЗАЦІЯ МОЛЕКУЛЯРНИХ СКЛАДОВИХ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ ЕЛЕКТРОННИМ УДАРОМ

Вступ до розділу 4

У результаті виконаних досліджень, вперше експериментальним шляхом, в умовах молекулярного та електронного пучків, що перетинаються, визначені такі важливі характеристики процесів іонізації:

1) абсолютні значення величин повних і парціальних перерізів формування позитивних іонів молекул нуклеотидних основ нуклеїнових кислот – аденіну та гуаніну;

2) детальні мас-спектри молекул аденіну, гуаніну та схеми їх фрагментації;

3) абсолютні величини повних перерізів формування негативних іонів молекул аденіну, гуаніну та їх функції іонізації (енергетичні залежності перерізів) в діапазоні електронної енергії від величини порогу до 5 еВ.

Отримані результати опубліковані у статтях [101,102,127,131–136,145, 361] і в матеріалах конференцій [176–178,225,397–403].

4.1. Визначення ефективних перерізів утворення іонів молекул

Для визначення абсолютних величин повних перерізів утворення позитивних та негативних іонів молекул було використане, відповідно до викладеного у п. 1.4, наступне співвідношення:

$$\sigma = i^{\pm} / i_e n l, \quad (4.1)$$

де σ – повний переріз утворення іонів, що підлягає встановленню;

i^{\pm} – сила струму іонів відповідних знаків;

i_e – сила струму електронів у пучку;

n – концентрація молекул у місці перетинання пучків;

l – шлях електронів у пучку молекул.

У випадку позитивних іонів величина абсолютного перерізу визначалася при енергії 100 еВ, а для негативних іонів – при енергії 4,5 еВ.

Процедура визначення абсолютного значення повного перерізу утворення іонів полягала в наступному. При закритих засувках пучка молекул температура контейнера з препаратами піднімалася до робочої та усталювалася з точністю ± 2 К. Після цього на заданий час відкривався шибер 7 (рис. 2.12) і при відповідній енергії електронів (100 еВ для позитивних і 4,5 еВ для негативних іонів) вимірювалися сили струми іонів (i^{\pm}) і сила струм електронів (i_e). Час, протягом якого засувка (шибер) 7 була відкрита (час формування конденсату в колекторі пучка молекул), у п'яти вимірах змінювався у межах $(1 - 3) \cdot 10^3$ с.

Опісля завершення експерименту визначалася маса конденсату – M (див. рис. 4.1). Для визначення маси конденсату була використана абсорбційна методика. Для досягнення цієї мети конденсат розчинювався у дистильованій воді, були досліджені спектри поглинання розчину в УФ-області (220-300 нм) і вимірювалася оптична густина цього розчину. Згідно співвідношення (4.2) оптична густина розчину D є рівною:

$$D = \lg \frac{I}{I_0} = \varepsilon c d, \quad (4.2)$$

де I_0 – інтенсивність світла, що падає на розчин (іншими словами, густина потоку світлової енергії);

I – інтенсивність світла в результаті проходження через кювету з розчином;

c – концентрація даного розчину;

d – шлях, що проходить потік світла у розчині;

ε – абсорбанс на сантиметр довжини перебігу при концентрації компонента, що поглинає світло, 1 М (себто молярний коефіцієнт поглинання) [4].

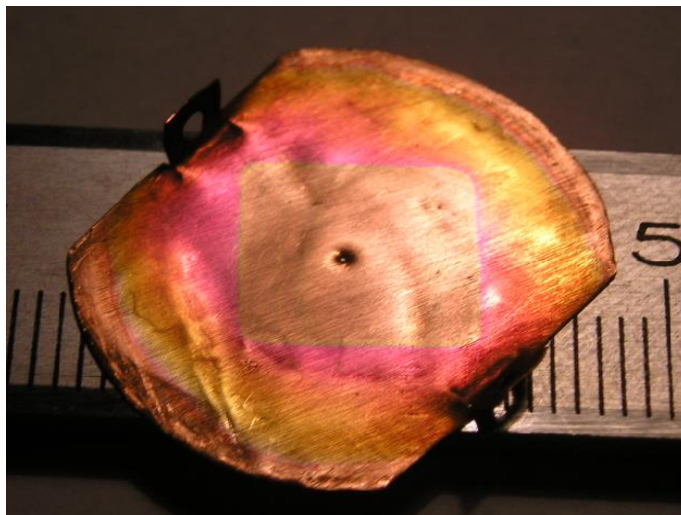


Рис. 4.1. Конденсат молекулярного пучка.

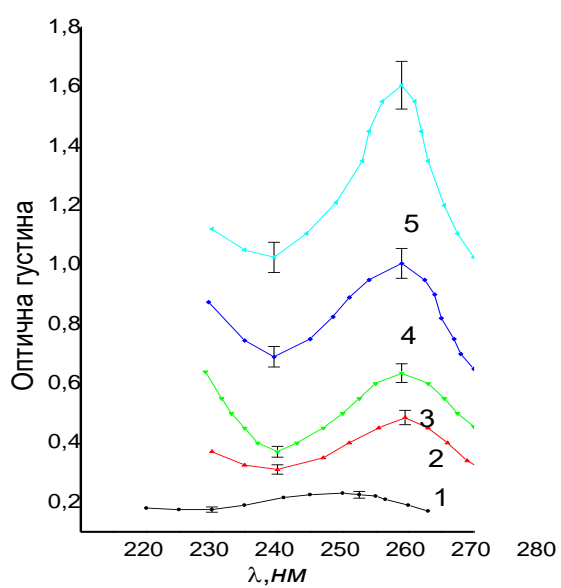


Рис. 4.2. Спектри поглинання

розчинів цитозину різних концентрацій:

- 1) $4 \cdot 10^{-6} \text{ г} \cdot \text{см}^{-3}$;
- 2) $8 \cdot 10^{-6} \text{ г} \cdot \text{см}^{-3}$;
- 3) конденсат;
- 4) $1.1 \cdot 10^{-5} \text{ г} \cdot \text{см}^{-3}$;
- 5) $5 - 3 \cdot 10^{-5} \text{ г} \cdot \text{см}^{-3}$.

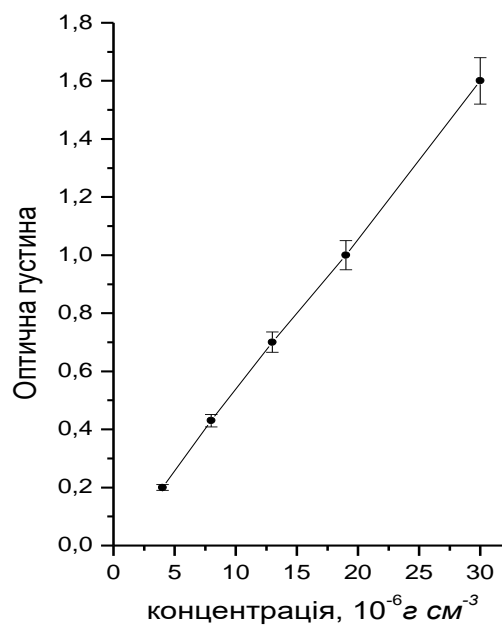


Рис. 4.3. Залежність оптичної

густини розчину цитозину від концентрації.

Вказані вимірювання (приклад для цитозину на рис. 4.2 і 4.3) проводилися на спектрофотометрі СФ-46, що вимірює оптичну густину зразка по відношенню до еталону (пропускання останнього приймається за 100%). За експериментально визначеними значеннями оптичної густини D була знайдена відповідна йому концентрація c (рис. 4.3), яка пов'язана як з масою конденсату M , так із об'ємом розчинника V , або інакше, $M = cV$. Похибка у знаходженні оптичної густини становила 5%.

Від параметрів експерименту, у свою чергу, M залежить наступним чином:

$$M = n S m v \tau, \quad (4.3)$$

де n – концентрація молекул в місці перетинання пучків, що підлягає встановленню;

S – площа перетину електронного та молекулярного пучків;

m – маса однієї молекули;

v – швидкість руху молекул в пучку;

τ – проміжок часу, під час якого засувка була відкритою [4].

Значення величин S та d були визначені з геометрії молекулярного пучка. Величина відносної похибки у визначенні концентрації n не перевищувала 17%. Виміри проводилися при значенні $n \sim 8 \cdot 10^{10} \text{ см}^{-3}$.

Зауважимо, що за наявності поздовжнього магнітного поля електрони рухатимуться за трохойдальними траєкторіями, довжини яких узагальнено є більшими від геометричної величини l . Проведені розрахунки показали, що внаслідок зазначеного ефекту в умовах наших досліджень (величина індукції магнітного поля становила $1,2 \cdot 10^{-2}$ Тл, розмір діафрагм електронної гармати був рівний 1 мм) максимальна довжина шляху деяких окремих електронів за їх енергії 100 еВ збільшувалася в 1,01 раз, а за енергії електронів 4,5 еВ – у 1,25 раз.

Відносні похибки вимірів становили: 9% – для енергетичних залежностей перерізів іонізації; 21% – для абсолютних величин перерізів іонізації.

4.2. Процеси утворення позитивних іонів азотистих основ нуклеїнових кислот

4.2.1. Мас спектри та функції іонізації утворення позитивних іонів молекул пуринових основ

Мас-спектри аденіну та гуаніну за енергії бомбардуючих електронів 95 еВ представлені відповідно на рис. 4.1 та 4.2 (по осі ординат відкладено струм утворених іонів у умовних одиницях, а по осі абсцис відношення маси іона до його заряду). За загальними рисами отримані спектри подібні до представлених у роботах [120,156,253,280,281], але є деякі відмінності. Вони стосуються розподілу інтенсивностей у спектральних лініях, а також в кількості ліній. Перш за все, вказані розбіжності визначаються відмінностями в процесах утворення іонів у збуджених станах. Наприклад, у роботах [156,280], такі іони утворюються електронним ударом, у дослідженні [253] – шляхом фотоіонізації, а у повідомленні [282] мас-спектр аденіну був отриманий з використанням іонного пучка. Також необхідно враховувати такий важливий фактор, як температура нагрівання вихідної речовини.

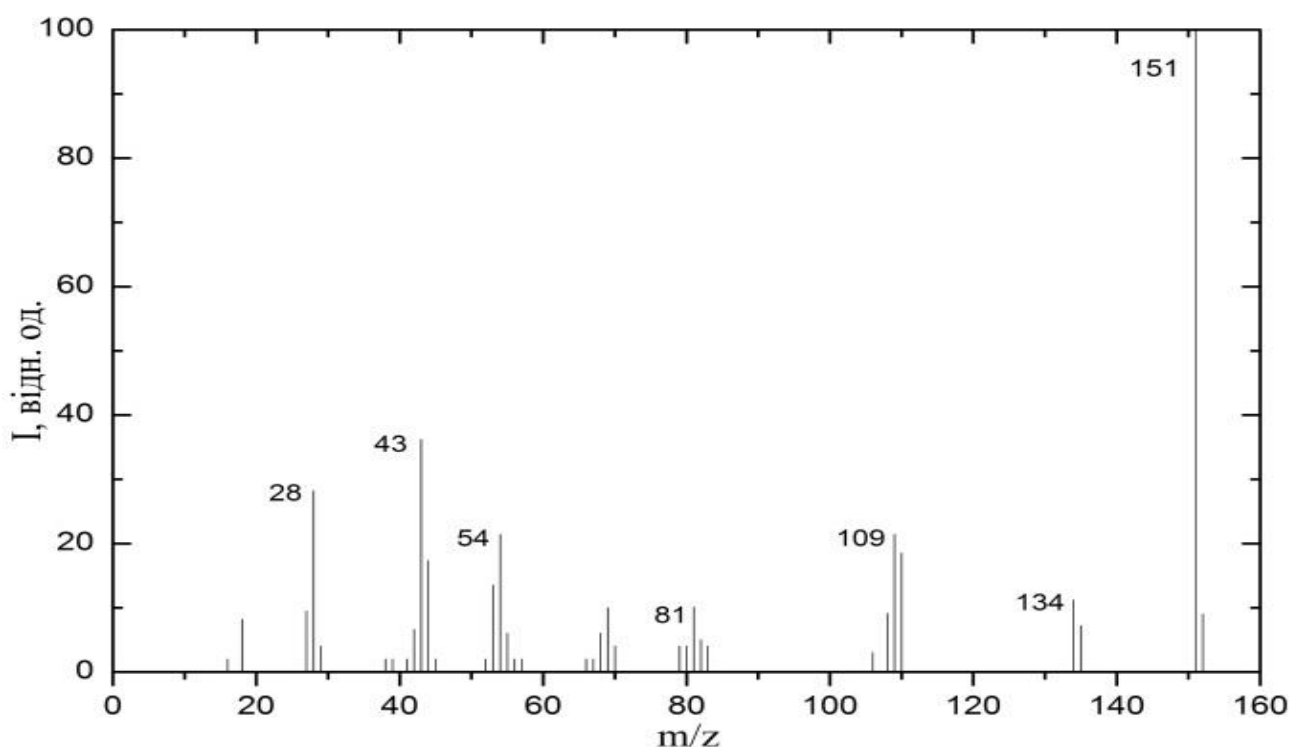


Рис. 4.1. Мас-спектр аденіну за енергії електронів 95 еВ

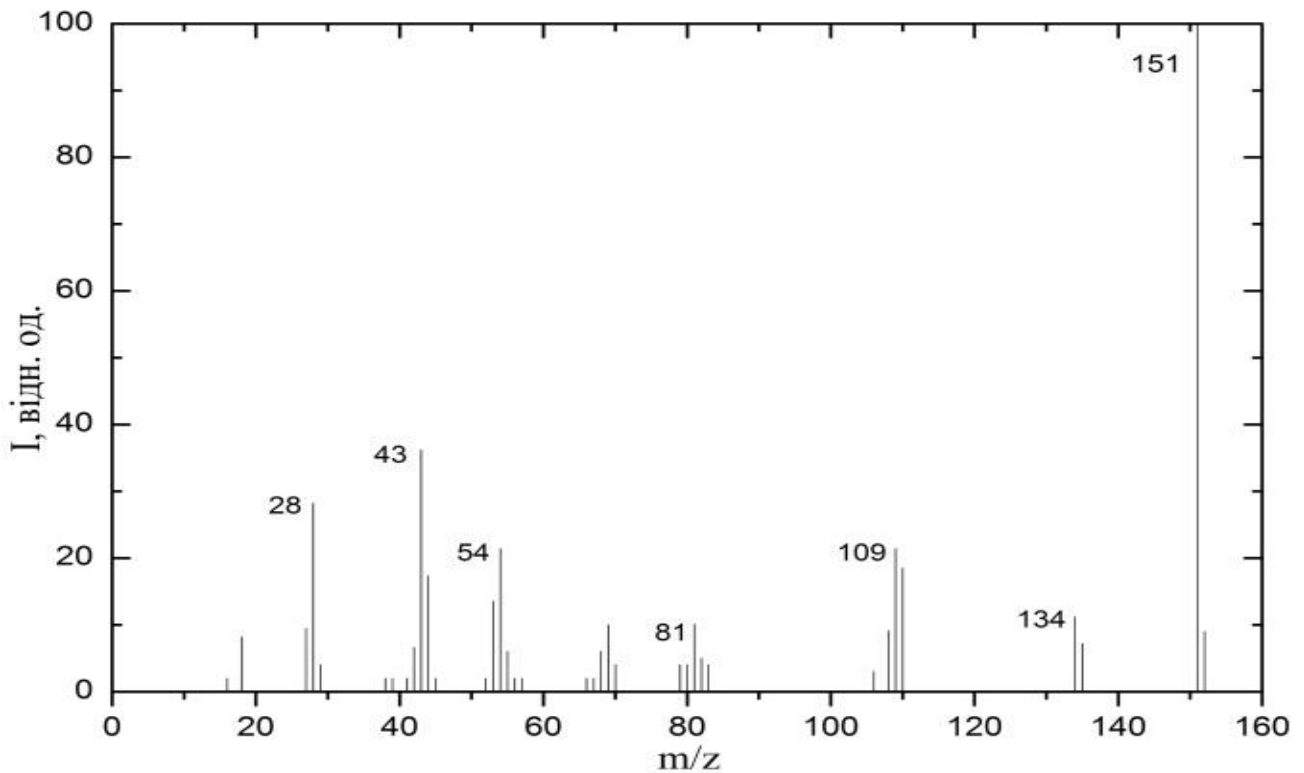


Рис. 4.2. Мас-спектр гуаніну за енергії електронів 95 еВ

Ідентифікація мас-спектрів представлена в таблиці 4.1. (аденін) і таблиці 4.2. (гуанін). Спільними рисами наведених мас-спектрів є: (1) наявність найбільш інтенсивних ліній, що відповідають однозарядним молекулярним іонам (лінія $m/z = 135$ для аденіну та лінія $m/z = 151$ для гуаніну); 2) поява великої кількості ліній різної інтенсивності, які відповідають новонародженим іонним фрагментам; (3) відсутність ліній двозарядних молекулярних іонів і димерних форм.

Таблиця 4.1.

Абсолютні величини перерізів формування позитивних іонів аденіну та фрагментів за енергії електронів 95 еВ

m/z, а.о.м.	σ , 10^{-15} см ²	Позитивні іони аденіну
27	0,07	CHN ⁺
28	0,15	CH ₂ N ⁺
29	0,06	CH ₃ N ⁺
38	0,08	C ₂ N ⁺
39	0,07	C ₂ HN ⁺
40	0,07	C ₂ H ₂ N ⁺ , CN ₂ ⁺
41	0,02	CHN ₂ ⁺
42	0,035	CH ₂ N ₂ ⁺
43	0,07	CH ₃ N ₂ ⁺
52	0,05	C ₂ N ₂ ⁺
53	0,18	C ₂ HN ₂ ⁺
54	0,23	C ₂ H ₂ N ₂ ⁺
55	0,08	C ₂ H ₃ N ₂ ⁺
64	0,035	C ₃ N ₂ ⁺
65	0,05	C ₃ HN ₂ ⁺
66	0,14	C ₃ H ₂ N ₂ ⁺
67	0,07	C ₃ H ₃ N ₂ ⁺
70	0,035	C ₂ H ₄ N ₃ ⁺
80	0,07	C ₃ H ₂ N ₃ ⁺
81	0,16	C ₃ H ₃ N ₃ ⁺
106	0,04	C ₄ H ₂ N ₄ ⁺
107	0,035	C ₄ H ₃ N ₄ ⁺
108	0,25	C ₄ H ₄ N ₄ ⁺
134	0,02	C ₅ H ₄ N ₅ ⁺
135	0,7	C ₅ H ₅ N ₅ ⁺
136	0,03	—

Таблиця 4.2.

Абсолютні величини перерізів формування позитивних іонів гуаніну та фрагментів за енергії електронів 95 еВ

m/z, а.о.м.	σ , 10^{-15} см ²	Позитивні іони гуаніну
27	0,08	CHN ⁺
28	0,23	CO ⁺ , CH ₂ N ⁺
42	0,08	CNO ⁺
43	0,33	CH ₃ N ₂ ⁺ , CHNO ⁺
44	0,17	CH ₄ N ₂ ⁺ , CH ₂ NO ⁺
53	0,12	C ₂ HN ₂ ⁺
54	0,2	C ₂ H ₂ N ₂ ⁺
55	0,05	C ₂ HNO ⁺
68	0,04	C ₂ H ₂ N ₃ ⁺
69	0,08	C ₂ H ₃ N ₃ ⁺
81	0,08	C ₃ H ₃ N ₃ ⁺
82	0,07	C ₃ H ₂ N ₂ O ⁺
108	0,07	C ₄ H ₂ N ₃ O ⁺
109	0,21	C ₄ H ₃ N ₃ O ⁺
110	0,16	C ₄ H ₄ N ₃ O ⁺
134	0,09	C ₅ H ₄ N ₅ ⁺
135	0,06	C ₅ H ₅ N ₅ ⁺
151	1,01	C ₅ H ₅ N ₅ O ⁺
152	0,07	C ₅ H ₅ N ₅ O ⁺

Для визначення ефективних перерізів утворення іонних фрагментів необхідно визначити абсолютне значення повного перерізу іонізації молекул аденіну та гуаніну. Результати таких вимірювань наведені на рис. 4.3 та 4.4 де зображені абсолютні значення повних ефективних перерізів іонізації та їх енергетичні залежності (функції іонізації) відповідно для молекул аденіну та

гуаніну в енергетичному інтервалі від порогу до 200 еВ енергії бомбардуючих електронів. Як слідує з цих рисунків, після швидкого росту біля порогу, функції іонізації демонструють пологі спади зі слабо вираженими особливостями та показують широкі максимуми в області 85 – 95 еВ.

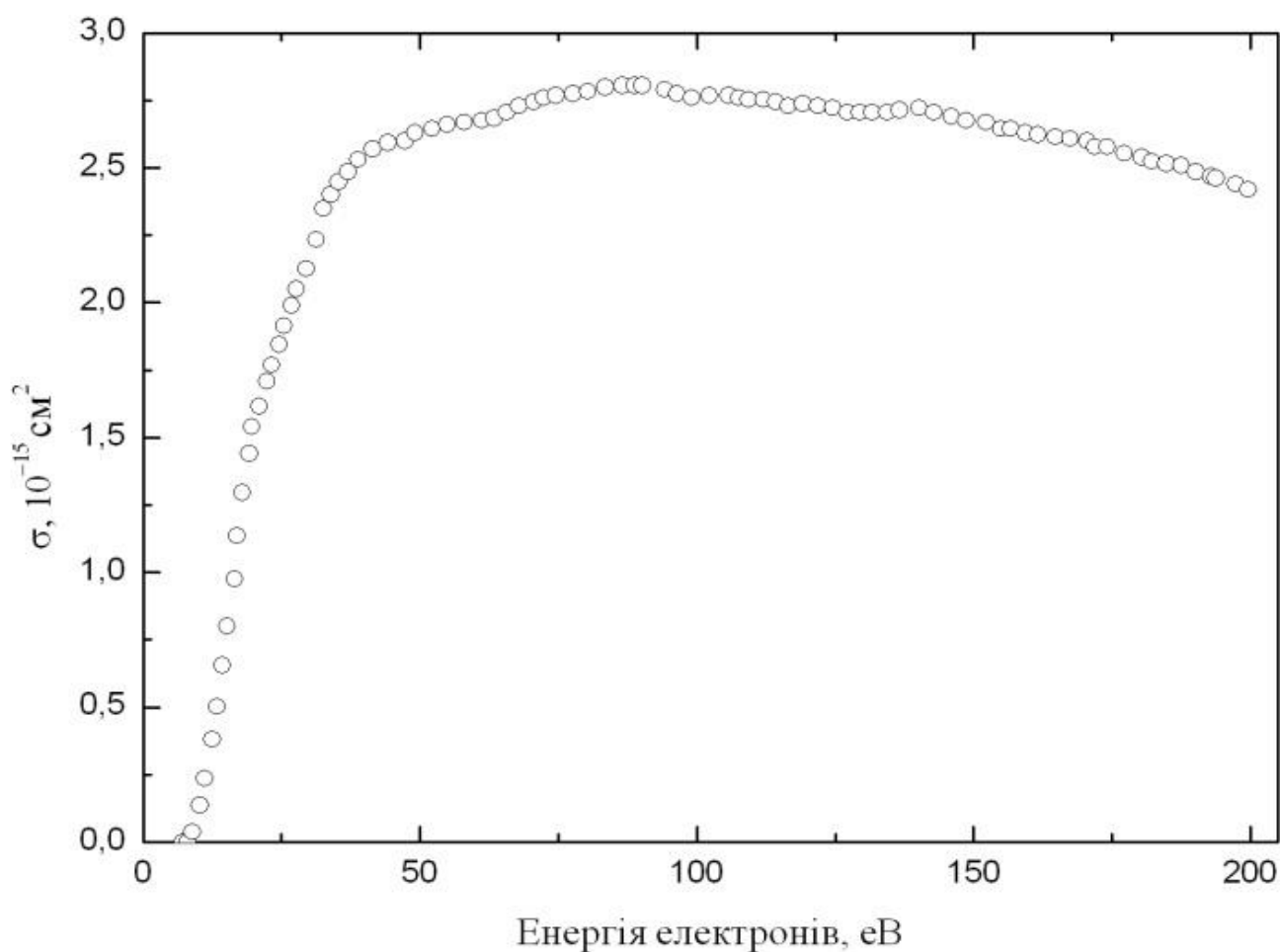


Рис. 4.3. Енергетична залежність повного перерізу формування позитивних іонів аденіну.

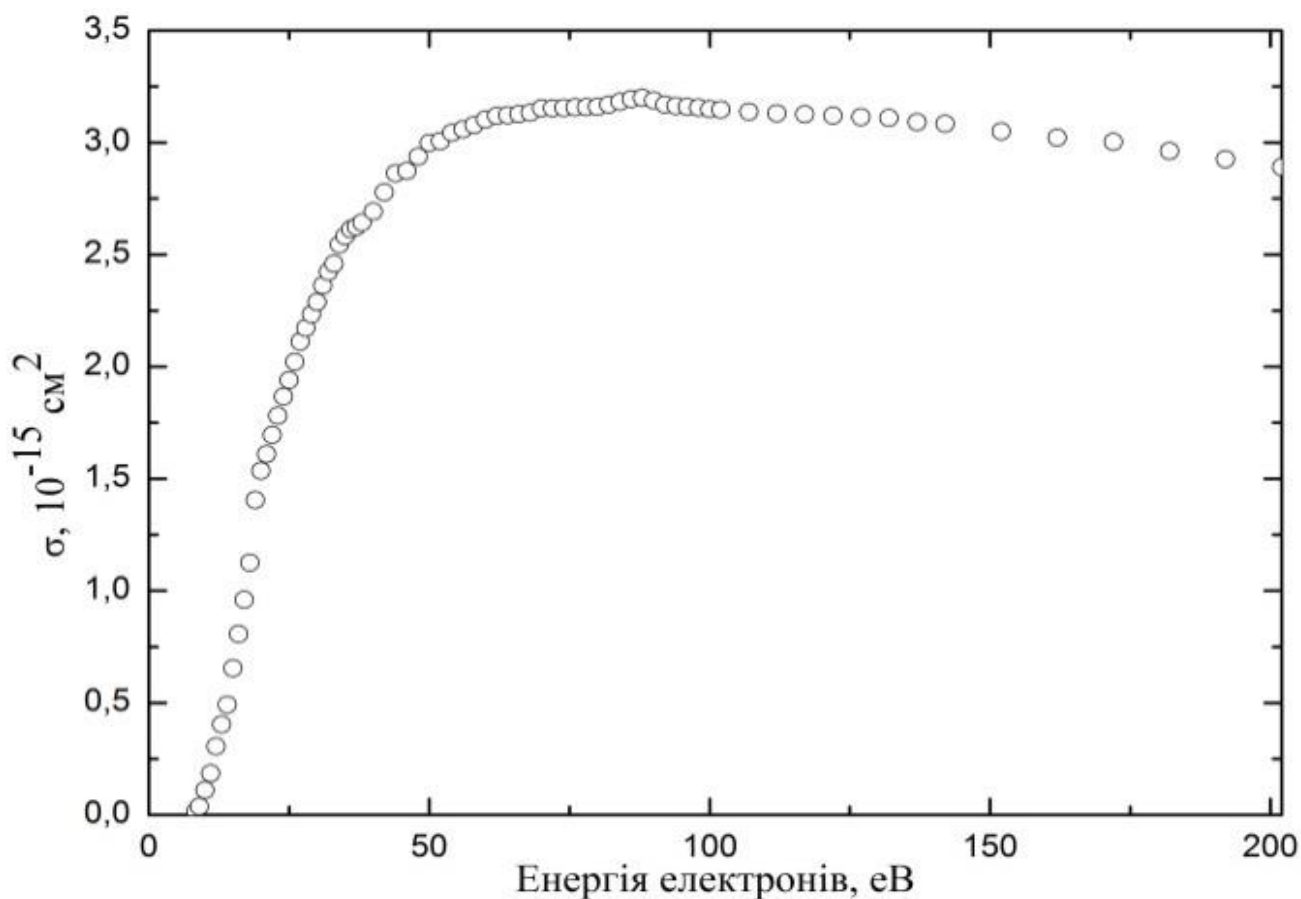


Рис. 4.4. Енергетична залежність повного перерізу формування позитивних іонів гуаніну.

Максимальне значення повного перерізу іонізації молекули аденіну досягається при 90 eV енергії електронного пучка і дорівнює $(2,8 \pm 0,15) \times 10^{-15} \text{ см}^2$ (рис. 4.3). Для гуаніну максимальне значення перерізу іонізації дорівнює $(3,2 \pm 0,15) \times 10^{-15} \text{ см}^2$ і спостерігається при 88 eV (рис. 4.4). Слід зазначити, що абсолютні значення повного ефективного перерізу іонізації молекул аденіну та гуаніну досить близькі. Дещо вище значення ефективного перерізу у випадку гуаніну корелює з його нижчим потенціалом іонізації.

Виміряні пороги утворення позитивних молекулярних іонів для аденіну і гуаніну дорівнюють $8,8 \pm 0,2 \text{ eV}$ і $8,3 \pm 0,2 \text{ eV}$ відповідно. Ці значення непогано узгоджуються з результатами робіт [120,276,280,281,282,377,378], які представлені в таблицях 4.3 і 4.4. До того слід додати розраховані адіабатичні потенціали іонізації (PI), засновані на повній оптимізації геометрії молекул і

іонів методом DFT B3LYP, представлені разом з різними експериментальними результатами.

Таблиця 4.3.

Пороги утворення позитивних молекулярних іонів аденіну

Величина порогу , eV	Застосований метод	Літературне джерело
$8,8 \pm 0,2$	Метод електронного удару	Дані роботи
$8,0 \pm 0,2$	Метод електронного удару	[120]
8,48	ФЕС	[377]
$8,44 \pm 0,03$	Фотоіонізація	[281]
7,98	B3LYP/6-31G (adiabatic)	Дані роботи
8,44	Розрахунок RHF/3-21G	[276]

Таблиця 4.4.

Пороги утворення позитивних молекулярних іонів гуаніну

Величина порогу , eV	Застосований метод	Літературне джерело
$8,3 \pm 0,2$	Метод електронного удару	Дані роботи
$8,3 \pm 0,2$	Метод електронного удару	[120]
$8,24 \pm 0,03$	Фотоіонізація	[281]
$8,1 \pm 0,2$	Метод електронного удару	[280]
7,52	B3LYP/6-31G (adiabatic)	Дані роботи
8,24	Розрахунок RHF/3-21G	[276]

Зазначимо, що абсолютні значення перерізів іонізації для пуринових основ нуклеїнових кислот аденіну і гуаніну є досить близькими за величиною. Ступінь узгодженості одержаних у представленій роботі величин повних перерізів іонізації нуклеотидних основ аденіну і гуаніну із результатами відомих досліджень, приведених в літературних джерелах, зображений на рис. 4.25, де наведені абсолютні значення повних перерізів утворення позитивних іонів та їх функції іонізації для молекул аденіну і гуаніну, що були отримані під час різних досліджень.

Всі результати, окрім роботи [265], які приведені на рис. 4.5, були одержані теоретичними методами. Тільки в роботі [265] були проведені дослідження експериментального характеру, але і в даному випадку абсолютне значення величини повного перерізу іонізації отримувалося шляхом нормування експериментальних даних на теоретичний розрахунок. Детальний аналіз функцій іонізації показує, що представлені у роботі експериментальні дані не суперечать теоретичним розрахункам та мають змогу сприяти подальшому удосконаленню методик теоретичних розрахунків величин перерізів іонізації.

Як слідує з цих рисунків, теоретично розраховані енергетичні залежності перерізів іонізації непогано узгоджуються з результатами наших експериментів. При цьому слід зауважити, що теоретичні розрахунки характеризують ефективні перерізи утворення молекулярних іонів. В той час як експериментальні результати характеризують суцільний переріз утворення як молекулярних іонів, так і заряджених фрагментів

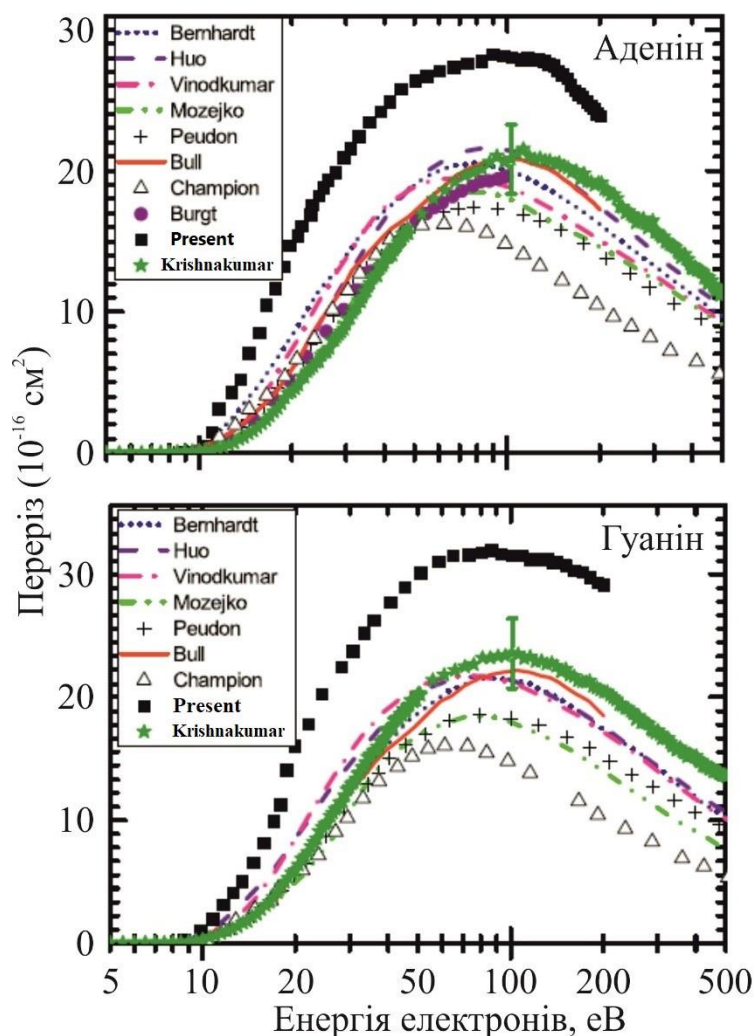


Рис. 4.5. Сумарні перерізи іонізації молекул пуринових основ аденіну та гуаніну [271]

- | | |
|---------------------------------------|-------------------------------------|
| ····· – теоретичний розрахунок [230]; | – · – теоретичний розрахунок [275]; |
| – · · – теоретичний розрахунок [221]; | Δ – теоретичний розрахунок [276]; |
| ++ – теоретичний розрахунок [272]; | ■ – експеримент. визначення [136]; |
| — – теоретичний розрахунок [273]; | ● – експеримент. визначення [265] |
| – – – теоретичний розрахунок [274] | ★ – експеримент. визначення [271] |

Дещо детальніше розглянемо теоретичні розрахунки потенціалів іонізації. Теорема Купмана в наближенні AM1 передбачає зачення порогів іонізації 8,77 eV та 8,40 eV для молекул аденіну та гуаніну відповідно, що досить добре узгоджується з нашими експериментальними даними. Поряд з цим ця ж теорема

в наближенні DFT дає гіршу узгодженість розрахункових PI з даними експерименту. Менший потенціал іонізації для гуаніну можна пояснити тим фактом, що карбонільна група забезпечує особливий внесок у найвищу зайняту молекулярну орбіталь (НОМО) у гуаніні (див. рис. S1(b) з додаткового матеріалу [385]). Довжини зв'язків (ланцюг) у молекулі аденіну N9–C4–C5–C6–N1, (див. рис. S1(a) з додаткового матеріалу [385]) забезпечують більшу стабілізацію НЗМО аденіну, тоді як у НЗМО гуаніну цей ланцюг розщеплюється при атомі С6 карбонільної групи (рис. S1(b) додаткового матеріалу [385]).

Виміряні ефективні перерізи іонізації мають значення повних перерізів іонізації, оскільки вони включають переріз утворення вихідних молекулярних іонів і їх фрагментів (парціальних перерізів). На кривих іонізації (рис. 4.3 і 4.4) можна побачити особливості у вигляді зломів і згинів, які можна інтерпретувати як процеси дисоціативної іонізації із збудженням.

Отримані дані про повні перерізи іонізації молекул аденіну та гуаніну та їх мас-спектри дозволяють визначити парціальні перерізи утворення найбільш ймовірних фрагментів іонів при енергії бомбардуючих електронів 95 еВ (табл. 4.1 та 4.2, де σ – парціальний переріз). Абсолютні значення парціальних перерізів іонізації визначають шляхом їх нормування до абсолютних значень повного перерізу іонізації за наступною методикою. Очевидно, що сумарний струм утворених іонів дорівнює $i_{\Sigma} = i_1 + i_2 + \dots + i_n$, де i_n – іонний струм окремого фрагмента. З іншого боку: $i_{\Sigma} = i_e n \sigma_{\Sigma} l$ та $i_n = i_e n \sigma_n l$, де i_e – струм бомбардуючих електронів, n – концентрація молекул в області перетину пучків, l – довжина шляху електронів у молекулярному пучку, σ_{Σ} і σ_n – повний і парціальний перерізи іонізації відповідно. З цього аналізу випливає, що $\sigma_n = \sigma_{\Sigma} i_n / i_{\Sigma}$. Враховуючи, що іонний струм пропорційний інтенсивності мас-спектрального піку, ми отримуємо наступний вираз для визначення парціального перерізу: $\sigma_n = \sigma_{\Sigma} S_n / \sum S_i$, де S_n – інтенсивність n -го піку; у знаменнику – сума всіх піків інтенсивностей у мас-спектрі.

Аналіз таблиць 4.1 та 4.2 показує, що домінуючими процесами є утворення молекулярних іонів аденіну та гуаніну (порядок перерізів $\sim 10^{-15}$ см²), як і у випадку піримідинових основ, а саме для молекул цитозину, тиміну та урацилу. Це є дуже важлива властивість, яка свідчить про достатньо високу стійкість досліджуваних нуклеотидних основ до електронних ударів. Багато складних молекули не мають стабільних молекулярних іонів. Для багатьох органічних складних молекул подібний феномен не спостерігається.

Таблиця 4.5.

Порівняння методів AM1 і DFT для нейтральної молекули та молекулярного іона аденіну в розрізі довжин зв'язків (ΔR – різниця довжин зв'язків молекулярного іона (M^+) та нейтральної (M) молекули аденіну).

Зв'язок	C ₅ H ₅ N ₅ (M)		C ₅ H ₅ N ₅ ⁺ (M ⁺)		ΔR (M ⁺ – M)	
	AM1	DFT	AM1	DFT	AM1	DFT
N10–C6	1,368	1,355	1,340	1,328	– 0,028	– 0,027
C6–C5	1,437	1,411	1,461	1,429	0,024	0,018
C5–N7	1,402	1,400	1,356	1,356	– 0,046	– 0,044
N7–C8	1,342	1,326	1,391	1,365	0,049	0,039
C8–N9	1,413	1,393	1,380	1,364	– 0,033	– 0,029
N9–C4	1,399	1,384	1,422	1,395	0,023	0,011
C4–C5	1,459	1,404	1,503	1,433	0,044	0,029
C4–N3	1,368	1,350	1,327	1,317	– 0,041	– 0,033
N3–C2	1,353	1,351	1,401	1,400	0,048	0,049
C2–N1	1,360	1,355	1,329	1,327	– 0,031	– 0,028
N1–C6	1,376	1,360	1,402	1,379	0,026	0,019

Таблиця 4.6.

Порівняння методів AM1 і DFT для нейтральної молекули та молекулярного іону гуаніну в розрізі довжин зв'язків (ΔR – різниця довжин зв'язків молекулярного іона (M^+) та нейтральної (M) молекули гуаніну)

Зв'язок	$C_5H_5N_5O$ (M)		$C_5H_5N_5O^+$ (M^+)		ΔR ($M^+ - M$)	
	AM1	DFT	AM1	DFT	AM1	DFT
O11–C6	1,239	1,243	1,229	1,232	– 0,010	– 0,011
C6–C5	1,448	1,433	1,464	1,447	0,016	0,014
C5–N7	1,396	1,397	1,353	1,352	– 0,043	– 0,045
N7–C8	1,346	1,322	1,391	1,358	0,045	0,036
C8–N9	1,414	1,398	1,388	1,379	– 0,026	– 0,019
N9–C4	1,395	1,376	1,415	1,382	0,020	0,006
C4–N3	1,383	1,365	1,333	1,322	– 0,050	– 0,043
N3–C2	1,356	1,327	1,416	1,377	0,060	0,050
C2–N10	1,412	1,365	1,362	1,333	– 0,050	– 0,032
C2–N1	1,409	1,382	1,396	1,366	– 0,013	– 0,016
N1–C6	1,423	1,444	1,429	1,445	0,006	0,001

Для пошуку найбільш ймовірної схеми фрагментації при електронному ударі аналізуються результати квантово-хімічних розрахунків молекул аденіну та гуаніну та їх молекулярних іонів методами DFT та AM1 (Таблиці 4.5 і 4.6). Стандартна нумерація атомів представлена на рис. 4.6. Порівнюються оптимізовані довжини зв'язки молекули та молекулярного іона. Ті хімічні зв'язки, які подовжуються і, відповідно, стають слабшими в процесі іонізації, повинні вказувати на найбільш ймовірні шляхи фрагментації. Ми припускаємо, що найбільш вірогідні розриви мають бути навколо тих атомних положень в іоні, де суми змін довжин двох хімічних зв'язків є найбільшими внаслідок іонізації.

Спочатку ми припустили, що в іоні можуть бути розірваними одночасно лише два зв'язки. Аналіз усіх можливих шляхів дисоціації підтвердив це припущення.

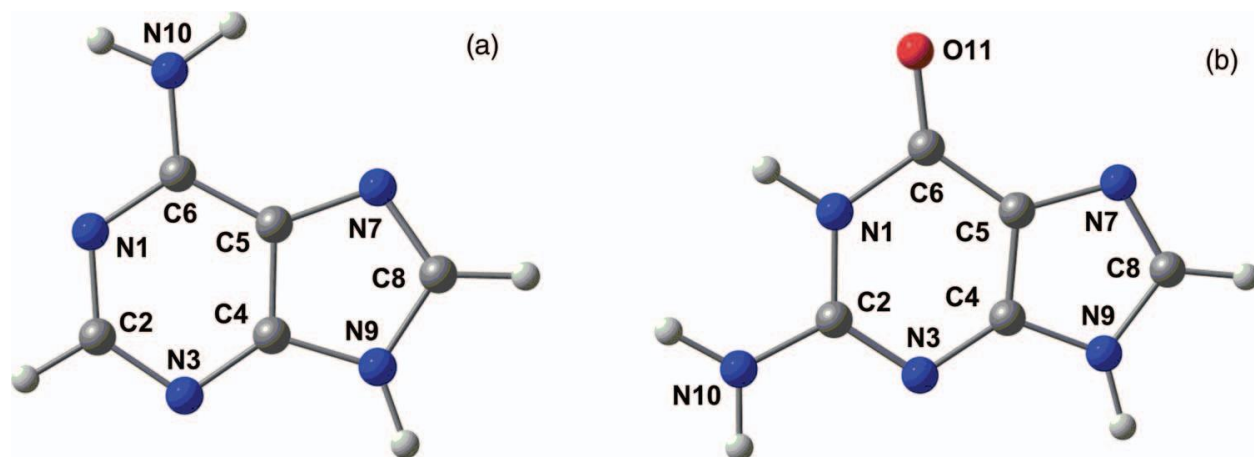


Рис. 4.6. Оптимізована структура і нумерація атомів для молекул аденіну (а) та гуаніну (б)

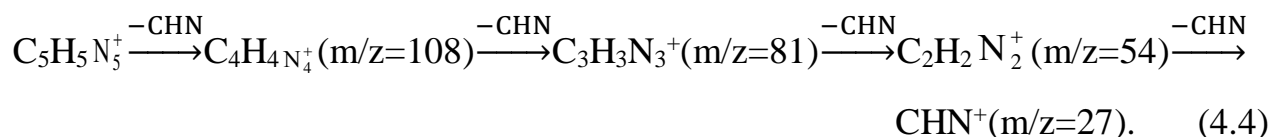
4.2.2. Схеми фрагментації молекул пуринових основ

Аденін. Аналізуючи схеми фрагментацій молекули аденіну, насамперед, доцільно звернути увагу на ті іонні фрагменти, які мають найбільші перерізи утворення. Для аденіну це наступні фрагменти: $C_4H_4N_4^+$, $C_3H_3N_3^+$, $C_2H_2N_2^+$, $C_3H_2N_2^+$, $C_2HN_2^+$, CH_2N^+ , CHN^+ ; для гуаніну – $CHNO$, CO^+ , $CH_4N_2^+$, CH_2NO^+ , $C_2H_2N_2^+$, $C_4H_5N_4^+$, $C_4H_3N_3O^+$, $C_4H_4N_3O^+$. Інші фрагменти характеризуються значно меншими перерізами утворення $\sim (10^{-17} - 10^{-18}) \text{ см}^2$. Як випливає з таблиці 4.5, для молекулярного іона аденіну, найвірогіднішими шляхами дисоціації є розрив таких пар зв'язків: 1. C6–C5, N1–C6; 2. C6–C5, N3–C2; 3. N7–C8, N9–C4; 4. C6–N1, N3–C2. Ймовірності розриву цих пар хімічних зв'язків вважаються незалежними, а породжені фрагменти можуть бути джерелом подальшої дисоціації. Таким чином, існують незалежні паралельно-послідовні схеми (канали) фрагментації (рис. 4.7). Розглянемо їх детальніше.

Канал 1 (розрив зв'язків C6–C5, N1–C6) і канал 3 (розрив зв'язків N7–C8, N9–C4) можна вважати майже рівноймовірними. У цих випадках молекулярний іон $C_5H_5N_5^+$ втрачає нейтральний фрагмент $C_4H_3N_4$ і утворює заряджений фрагмент CH_2N^+ ($m/z = 28$). Цей іон добре видно в мас-спектрі (рис. 4.1).

Канал 2 (розрив зв'язків C6–C5, N3–C2). Молекулярний іон C₅H₅N₅⁺ втрачає нейтральний фрагмент C₂H₃N₂ і утворює заряджений фрагмент C₃H₂N₃⁺ (m/z = 80). Сума цих двох різниць змін пар довжин зв'язків під час іонізації є однією з найбільших для каналу 2 (0,067). Відносно низьку інтенсивність лінії m/z = 80 (рис. 4.1) можна пояснити високою метастабільністю цього іона. Наші розрахунки показують, що фрагмент C₃H₂N₃⁺ є нестабільним щодо розриву, що в кінцевому підсумку призводить до нової фрагментації при електронному ударі в області перетину молекулярного та електронного пучків.

Канал 4 (розрив зв'язків N1–C6, N3–C2). Це основний шлях первинної дисоціації молекулярного іону аденіну C₅H₅N₅⁺, оскільки він характеризується найбільшою сумою змін (0,068) двох довжин зв'язків (N1–C6 і N3–C2). Одночасний розрив цих двох зв'язків ініціює основний шлях фрагментації, що пояснює появу значної частини інтенсивних ліній у мас-спектрі аденіну:



Цей шлях включає послідовне відокремлення груп HCN або CNH (ми не будемо зосереджувати увагу на відмінностях цих двох ізомерів, хоча ми можемо легко розрізнити їх у нашому теоретичному моделюванні; ми просто називаємо їх CHN для простоти). До подібних висновків дійшли автори робіт [156,253]. Новонароджені «дочірні» іони не дуже стабільні і зазнають подальшої дисоціації. Зокрема, перший заряджений фрагмент C₄H₄N₄⁺ (m/z = 108), утворений каналом ропаду 4 (рис. 4.8(a)), внаслідок переносу одного та двох атомів Н, утворює ізомери (b) та (c), показані на рис. 4.28. Іони (a) і (c) на 4.8 були розглянуті раніше [253]. Подібні два ізомери іона C₄H₄N₄⁺ позначені як (IIa) і (IIb) у роботі [253], але їх структура та розподіл зарядів у нашому розрахунку значно відрізняються від канонічних формул, запропонованих дослідниками (рис. 4.9) [253].

DFT-оптимізована структура первинного іона $C_4H_4N_4^+$ (рис. 4.8(a)) відрізняється від гіпотетичної структури (IIa) [253] на рис. 4.26, де група NH_2 має транс-орієнтацію відносно подвійного зв'язку $C4 = C5$ (рис. 4.9). Останній зв'язок не є подвійним зв'язком, але є дуже слабким одинарним зв'язком (1,53 Å) у прогнозі DFT (рис. 4.28(a)); група NH_2 майже нейтральна (заряд N дорівнює -0,63, два атоми H мають +0,42 і +0,38), але атом C6 несе найбільший позитивний заряд +0,46. Структура іона сильно поляризована, включаючи фрагмент водневого зв'язку.

Наш розрахунок DFT узгоджується з гіпотезою [253] щодо концентрації спінової густини (ρ) позитивно зарядженого фрагмента $C_4H_4N_4^+$ переважно на атомі C6 ($\rho = 0,63$); решта неспареної спінової густини припадає на атом N3 (рис. 4.28(a)). Розрив двох зв'язків N1–C6 і N3–C2 при процесі іонізації аденіну за каналом розпаду 4 (рис. 4.7) однозначно призведе до такого виду, який є більш стабільним. Проміжний вид (рис. 4.8(b)) відсутній у основній схемі фрагментації [253], але він безумовно повинен сприяти великій інтенсивності лінії ($m/z = 108$) у мас-спектрі аденіну (рис. 4.1), оскільки він на 58,5 ккал моль⁻¹ менший за енергією, ніж первинний фрагмент $C_4H_4N_4^+$ (рис. 4.8(a)). Висока екзотермічність перенесення атома H (a) \rightarrow (б) призводить до створення коливально-збудженого іона $C_4H_4N_4^+$ (рис. 4.8(b)), який може дисоціювати вздовж хімічного зв'язку C5–C6. Втрата частинки CNH із проміжного виду (рис. 4.8(b)) призведе до термічно нестабільного іона $C_3H_3N_3^+$ (рис. 4.8(d)), ($m/z = 81$), який далі дисоціює до $C_2H_2N_2^+$ ($m/z = 54$), знову втрачаючи фрагмент CNH.

Заряджений фрагмент, який приведений на (рис. 4.8(d)) ($m/z = 81$) є подібним до проміжного (IIIa) з роботи [253]; його найбільша густина негативного заряду (ρ) локалізована біля атома C5 ($\rho = 0,65$), яка добре узгоджується з гіпотезою [253]; але інші структурні особливості дуже відрізняються: хімічний зв'язок C4–C5 дуже слабкий (1,504 Å) і не може бути подвійним зв'язком, як це показано на рис. 5 дослідження [253].

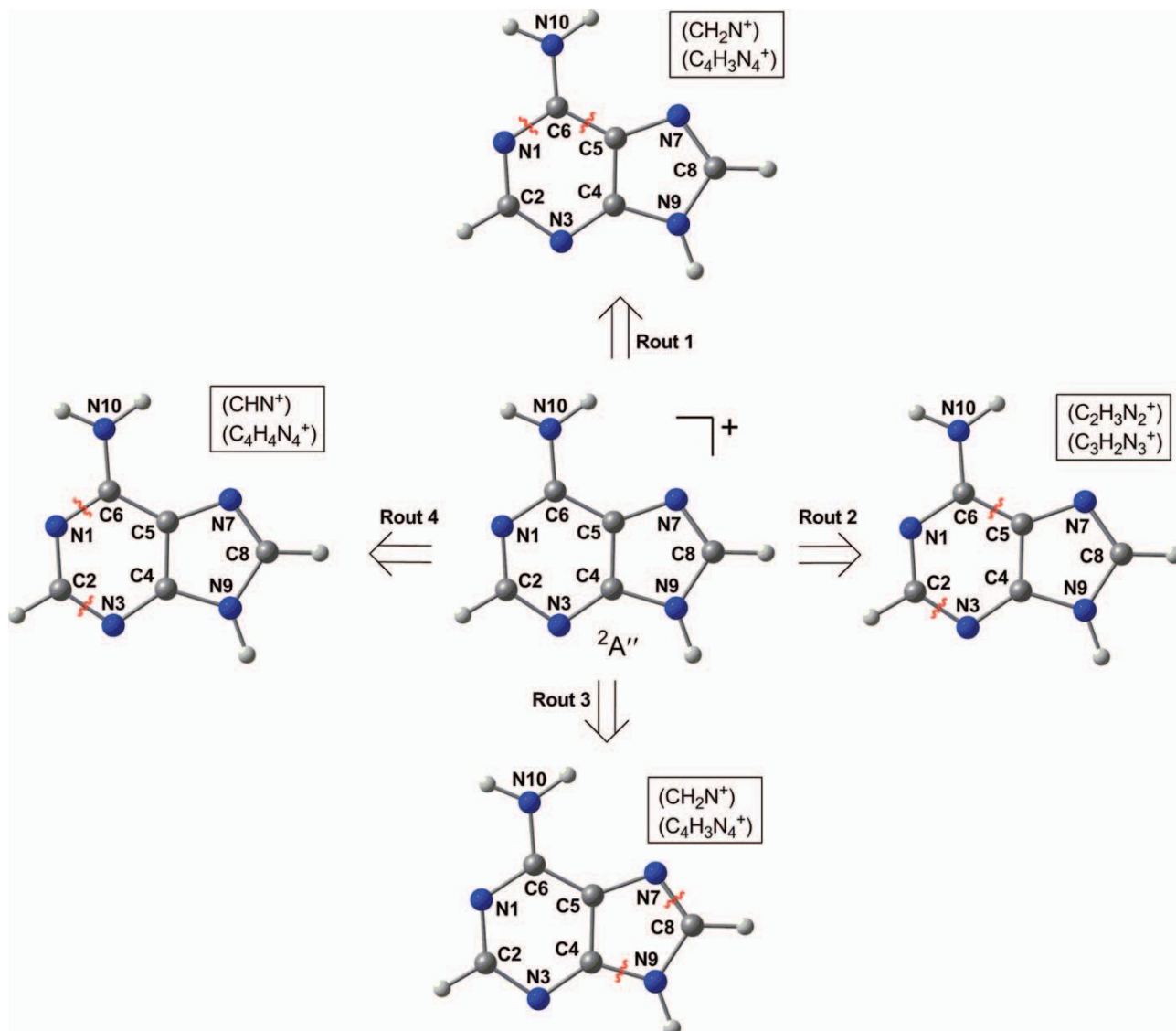


Рис. 4.7. Найбільш ймовірні шляхи фрагментації позитивно зарядженого аденіну.

Згідно з розрахунком DFT, короткими зв'язками є C5–N7 і C8–N9, тому вони розглядаються як подвійні зв'язки в іоні $C_3H_3N_3^+$ (рис. 4.8(d)). Найбільш ймовірним процесом дисоціації термічно нестабільного іона є розрив двох інших зв'язків C4–C5 і C4–N9 (1,47 Å), які є досить слабкими (рис. 4.8(d)). Це призводить до фрагментації на молекулу CNH та іон $C_2H_2N_2^+$ ($m/z = 54$), як показано в рівнянні (4.4).

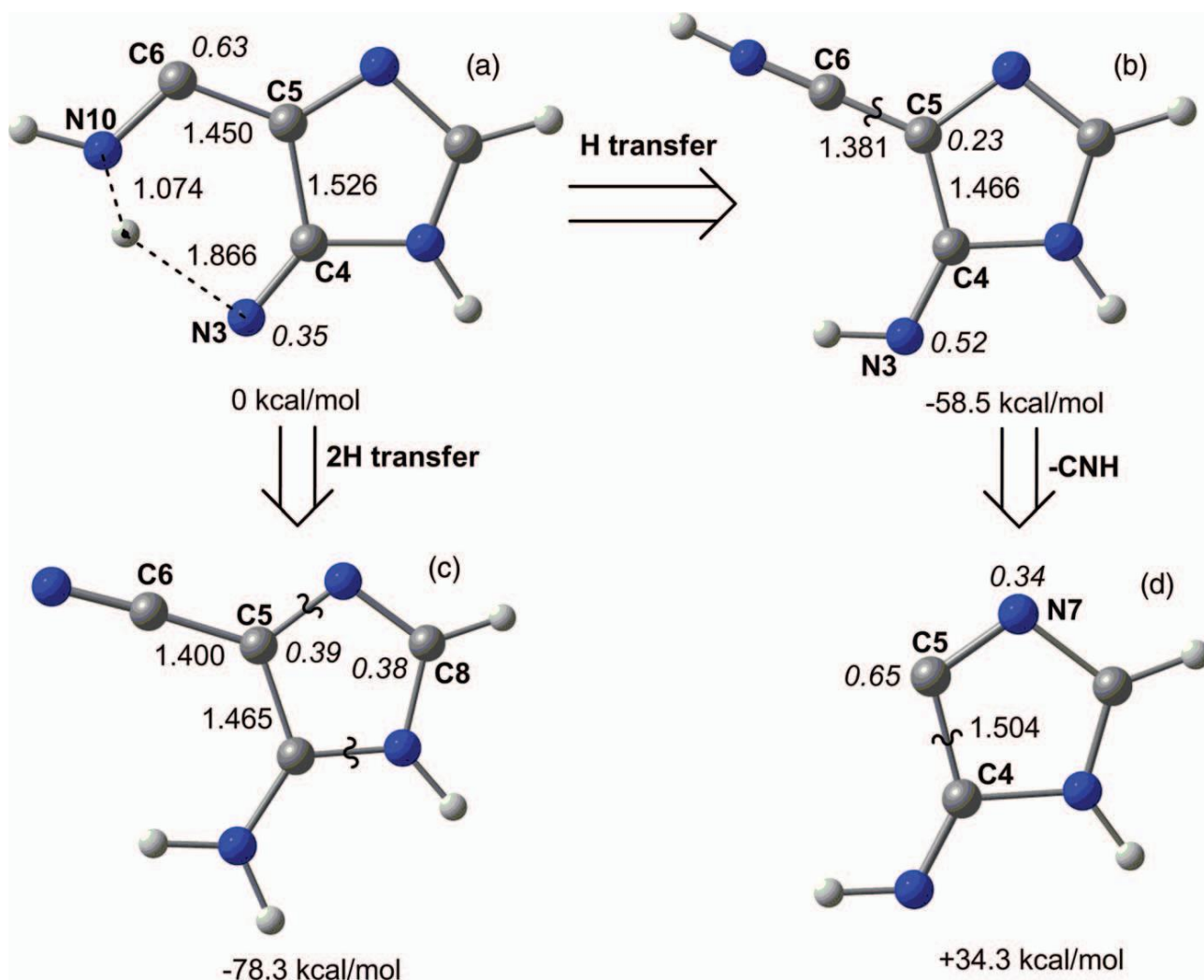


Рис. 4.8. Результати розрахунків DFT/B3LYP/6-31G для ізомеризації та фрагментації проміжного зарядженого фрагмента $C_4H_4N_4^+$.

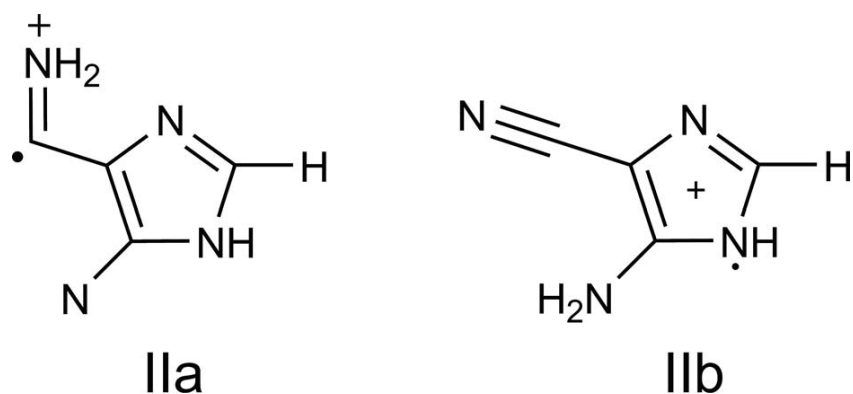


Рис. 4.9. Гіпотетичні структури зарядженого фрагмента $C_4H_4N_4^+$, запропоновані в роботі [253].

У дослідженні [253] розглядається додаткова можливість у вигляді іона 1,3,5-триазину ($m/z = 81$), яка на нашу думку є малоймовірною. Зазначений фрагмент може бути тупиковим продуктом у мас-спектрі аденіну (рис. 4.1), що і пояснює відносно велика інтенсивність лінії ($m/z = 81$).

Фрагмент $C_4H_4N_4^+$ ($m/z = 108$) як результат переносу двох атомів Н (рис. 4.8(c)) є найбільш стабільним серед усіх іонів. Це є π -радикалом із розподілом густини негативного заряду у циклі та в аміногрупі. На відміну від гіпотетичної структури Ів на рис. 4.9, цей π -радикал має незначну густину заряду біля атома N9 і найслабший хімічний зв'язок C4–C5 (1,465 Å). Розрахунки DFT показують, що його розрив призведе до лінійного фрагмента N10 = C6–C5 = N7–CH з концентрацією позитивного заряду з подальшим розривом слабкого хімічного зв'язку C8–N9. Руйнація тького зв'язку може бути ініційована електронним ударом. Такий процес фрагментації призводить до утворення частинок NH_2CNH та утворення іонів $C_3HN_2^+$ ($m/z = 65$), як це слідує з спектра (рис. 4.1). Розрив хімічного зв'язку C8–N9 може супроводжуватися одночасним переносом атома Н від кінцевого атома N9 до групи СН. Таким чином, можуть утворюватися фрагменти NH_2CN та іон $C_3H_2N_2^+$ ($m/z = 66$). Такий сценарій фрагментації іонів $C_4H_4N_4^+$, який показаний на рис. 4.8(c) і передбачений квантово-хімічними розрахунками, добре узгоджується з спостережуваним мас-спектром (рис. 4.1). Перенос двох атомів водню від N10 до N1 забезпечує дуже екзотермічний процес (рис. 4.8), але ми не зможемо знайти проміжковий стан і енергію активації. Також не можемо виключити двостадійний процес (a) \rightarrow (b) \rightarrow (c) на рис. 4.8(a), а також реакцію (a) \rightarrow (c). Обидві ці реакції є дуже екзотермічними відповідно до наших розрахунків DFT з теплою реакції 58 і 78 ккал моль⁻¹ відповідно.

Наші розрахунки пояснюють і інші можливі шляхи фрагментації. Зокрема, іони $C_4H_4N_4^+$ ($m/z = 108$) можуть втрачати один або два атоми Н, забезпечуючи лінії 107 і 106 у мас-спектрі (рис. 4.1). У випадку, коли іон $C_3H_3N_3^+$ (рис. 4.8(d)) втрачає водень, ми отримуємо бірадикал: іон $C_3H_2N_3^+$ ($m/z = 80$) з

втраченим зв'язком N–H на атомі N9. Синглетний і триплетний стани цього бірадикала майже вироджені (неспарені спіни локалізовані на атомах N3 і C5). Розриви інших зв'язків N–H і зв'язку C8–H також призводять до бірадикалів, але з набагато більшою енергією. Оскільки в іоні $C_3H_2N_3^+$ однаково ймовірними є синглетний і триплетний стани, то відносна інтенсивність лінії $m/z = 80$ є суттєвою (рис. 4.1). Розпад фрагмента $C_2H_2N_2^+$ ($m/z = 54$) з подальшою втратою атомів водню дає іони $C_2H_1N_2^+$ ($m/z = 53$) і $C_2N_2^+$ ($m/z = 52$). Якщо фрагмент $C_4H_4N_4^+$ (рис. 4.28(c)) втрачає групу CH_2N , як це показано вище то утворюється іон $C_3H_2N_2^+$ ($m/z = 66$). Останні можуть згодом втрачати атоми водню й утворювати фрагменти $C_3HN_2^+$ ($m/z = 65$) і $C_3N_2^+$ ($m/z = 64$). Усі відповідні лінії присутні в мас-спектрі аденіну. У роботі [253] дещо інакше пояснюється поява іонів $C_4H_3N_4^+$ ($m/z = 107$), $C_3H_2N_3^+$ ($m/z = 80$), $C_3H_2N_2^+$ ($m/z = 66$) і $C_3HN_2^+$ ($m/z = 65$), а лінія $m/z = 64$ взагалі відсутня в спектрі фотоіонізації аденіну [253].

Розпад іона (рис. 4.8(c)) також може включати альтернативну фрагментацію до NH_2CN^+ і нейтрального залишку $C_3H_3N_2$. Також можлива дисоціація до іонів NH_2CNH^+ і радикала C_3HN_2 . При цьому виникають іони з лініями $m/z = 43$, 42 і 41 . Розрахунок DFT відхиляє можливість виникнення інших іонів через розрив трьох зв'язків N1–C6; N3–C2; і N10–C6, так як зв'язок N10–C6 стає міцнішим після іонізації (табл. 4.9). Всі інші розриви трьох зв'язків, які могли б призвести до спостережуваних іонів неможливі, оскільки вони включають розрив тих хімічних зв'язків, які стають сильнішими при іонізації. Цей висновок додатково підтверджує висновок про малоїмовірність одночасних розривів трьох зв'язків.

Гуанін. Гуанін має найнижчий потенціал окислення серед азотистих основ нуклеїнових кислот; таким чином, він відіграє вирішальну роль в окисненному пошкодженні ДНК. Наявність групи C=O в гуаніні обумовлює суттєво відмінні від аденіну мас-спектр і схеми фрагментації. Зокрема, для гуаніну не існує основної схеми фрагментації, на відміну від аденіну, яка могла б пояснити появу значної частини інтенсивних ліній у його мас-спектрі. Отриманий спектр гуаніну

(рис. 4.2) за загальними рисами подібний до спектрів, наведених у роботах [156,253,280,281]. Різниця стосується розподілу інтенсивності та кількості ліній. Можливі причини таких відмінностей були згадані вище.

Найбільш інтенсивна лінія відповідає молекулярному іону гуаніну. Як і у випадку аденіну, фрагментація молекулярного іона вимагає одночасного розриву двох хімічних зв'язків. Виходячи з таблиці 4.6, можна розглядувати наступні пари зв'язків: 1. C6–C5, C6–N1; 2. C6–C5, N3–C2; 3. C6–C5, C2–N1; 4. N3–C2, C6–N1; 5. C2–N1, N3–C2; і 6. N7–C8, N9–C4. Ймовірності розривів цих зв'язків можна розглядати як незалежні, а новонароджені фрагменти можуть бути джерелами подальшої дисоціації. Таким чином слід проаналізувати наступні схеми фрагментації.

Шлях 1 (розрив зв'язків C6–C5, N1–C6). Молекулярний іон $C_5H_5N_5O^+$ втрачає нейтральний залишок $C_4H_5N_5$ і утворює заряджений фрагмент CO^+ ($m/z = 28$). Лінія 28 є третьою за інтенсивністю (рис. 4.2). Додатковий внесок в інтенсивність цієї лінії забезпечує заряджений фрагмент CH_2N^+ , який утворюється шляхами 6 і 5, хоча останній із них не може бути значним через стабілізацію зв'язку C2–N1 під час первинного процесу іонізації, тому шлях 6 є переважаючим (табл. 4.6). У свою чергу, фрагмент CH_2N^+ втрачає атом водню і перетворюється на іон CHN^+ ($m/z = 27$), який теж присутній на рис. 4.2. Слід зазначити, що лінія 28 відсутня в мас-спектрах, наведених у роботах [253,280,281], як це добре видно в спектрі [156], хоча Райз та інші дослідники [156,378] припускають, що декарбонізація не є суттєвою реакцією розпаду для молекулярного іона гуаніну.

Важливо, що ідентифікація лінії 28 з фрагментом CO^+ доводиться непрямым експериментальним підтвердженням. Так, у дослідженні [132] був проаналізований фотоемісійний спектр урацилу, ініційований електронним ударом. Молекула урацилу, подібно до молекули гуаніну, має карбонільну групу. Було показано, що кілька інтенсивних ліній у спектрі люмінесценції урацилу добре ідентифікуються з молекулярними смугами іона CO^+ (перша негативна

система $V^2\Sigma^+ \rightarrow X^2\Sigma^+$) і молекули CO. Розрахунки показують, що при іонізації канал 1 супроводжується ослабленням хімічних зв'язків як C6–C5, так і N1–C6, а також локалізацією концентрації позитивного заряду на фрагменті C=O. Ці результати отримані в обидвома методами DFT і AM1 (Таблиця 4.6) а також узгоджуються з результатами B3LYP/6-31+G** [379].

Шлях 3 (розрив зв'язків C6–C5, N1–C2). Молекулярний іон $C_5H_5N_5O^+$ втрачає нейтральний залишок $C_4H_4N_4$ і утворює заряджений фрагмент $CHNO^+$ ($m/z = 43$) з найбільш інтенсивною лінією після молекулярного іона (рис. 4.2). Водночас, цей шлях не може бути дуже ефективним, оскільки зв'язок N1–C2 скорочується (тобто посилюється) під час процесу іонізації (таблиця 4.6). Крім того, детальний розрахунок не передбачає розпад іона $CHNO^+$, на відміну від процесів, що приводять до продукування нейтральних форм $HN=C=O$ (див. рис. S2 додаткового матеріалу) [385].

У той же час шлях 4 (N3–C2, C6–N1) призводить до вищезгаданої лінії $m/z = 43$ і появи іона $CN_2H_3^+$. Райз та інші автори в роботах [156,378] розглядають саме цей, вищевказаний, іон; приєднанням атому Н до цього іону в області перетину пучків можна пояснити факт появ лінії $m/z = 44$ та утворення катіона ціанаміду ($CN_2H_4^+$). Шлях 4 цілком вірогідний, оскільки при іонізації електронним ударом відбувається подовження хімічного зв'язку N3–C2 (таблиця 4.6).

Аналіз мас-спектру гуаніну вказує на наявність ще одного додаткового шляху 7 (розрив відповідних зв'язків C4–N3, N1–C2) для випадку, коли молекулярний іон $C_5H_5N_5O^+$ втрачає нейтральний фрагмент CH_2N_2 і утворює заряджену іонну форму $C_4H_3N_3O^+$ ($m/z = 109$). Згаданий шлях 7 є досить складним: вимагає розриву двох зв'язків, які при іонізації стають міцнішими. Геометрія новонародженого іона $C_4H_3N_3O^+$ не сильно змінюється під час фрагментації (див. рис. S3 додаткового матеріалу) [385], але процес вимагає додаткової енергії $156 \text{ ккал моль}^{-1}$ згідно з наших розрахунків. Пояснення шляху 7 знаходиться в стані відкритого обговорення.

Перед зіткненням реалізуються всі можливі орієнтації обертової молекули відносно напрямку електронного пучка. У нашому аналізі можливих шляхів фрагментації ми використовуємо просте квазікласичне припущення, що бомбардуючи електрон, не змінює, швидше за все, свою траєкторію під час первинного зіткнення і проходить багатоатомну молекулу по прямій лінії. Ми розглядаємо шляхи розриву двох зв'язків у нуклеотидних основах базуючись на такій спрощеній ідеї. Завдяки цьому інтуїтивному підходу ми маємо можливість роціоналізувати спостережувані мас-спектри з урахуванням передбачених структурних змін при іонізації. Маршрут 7 задовольняє ідею лінійної траєкторії, але суперечить концепції вібронної релаксації та перерозподілу сил зв'язку.

Іон $C_4H_3N_3O^+$ ($m/z = 109$) (див. рис. S3 додаткового матеріалу) [385] є відносно стабільним щодо подальшої дисоціації. Усі частоти коливань дійсні, найменша дорівнює $49,5\text{ см}^{-1}$, що вказує на жорсткість конструкції іона $C_4H_3N_3O^+$ (див. рис. S3 додаткового матеріалу) [385]. Він не підлягає подальшій фрагментації через великі активаційні бар'єри. Наприклад, розрив зв'язку C5–C6 має енергію активації 51 ккал моль^{-1} . Однозаповнена молекулярна орбіта (МО) в цьому зарядженому іоні (див. рис. S3 додаткового матеріалу) [385] представляє собою орбіталь sp^2 в атомі N1 з невеликим внеском неподіленої пари O11. Таким чином, цей радикал більше схожий на фізично стабільну молекулу з типовим п'ятичленним кільцем.

Втрата NH_3 ($151-17 = 134$) та аміногрупи (135) від первинного іона (151) забезпечує помірні лінії в мас-спектрі гуаніну (рис. 4.2). Така картина часто відбувається під час дисоціації іонів, пов'язаних з гуаніном [379]. Процес починається з розкриття кільця шляхом розриву зв'язку C6–N1 з одночасним багаторазовим переносення водню. В такому випадку, у атомів N1 і N10 існує можливість втрати NH_3 , причому на N1 припадає лише 3% – 4% від втрати NH_3 у N10. В роботі [379] зазначено, що втрата NH_3 від молекулярного іона гуаніну схожа до втрати вищенаведеного фрагменту від протонованого гуаніну. Відповідно до наших розрахунків іона гуаніну і протонований гуанін в атомі N10

мають дуже подібну теплоту утворення (192 і 188 ккал моль⁻¹, відповідно) і форму НОМО π -орбіталі.

Ченг та інші автори в роботі [379] досліджували молекулярний іон гуаніну в газовій фазі, який утворюється іонізацією електророзпиленням (ESI) та його дисоціацію, викликану зіткненнями. П'ять механізмів дисоціації були розраховані в дослідженні [379] для ESI-індукованого іону гуаніну, включаючи усунення NH₃, HCN, H₂NCN, HNCO та N=C=NH і кілька можливих варіантів ізомеризацій.

Згідно з розрахунком DFT проведеного в роботі [31], втрата NH₃ включає багаторазові перенесення водню з подальшим розкриттям піримідинового кільця через розрив зв'язку N1–C6. Відповідний перехідний стан (TS) має енергію активації 95,3 ккал моль⁻¹, яка є вищою, ніж для інших процесів фрагментації. Вищенаведене пояснює відносно слабку лінію $m/z = 134$ у спектрі (рис. 4.2). Втрата аміногрупи забезпечує лінію низької інтенсивності ($m/z = 135$), оскільки зв'язок C2–N10 стає коротшим після іонізації (табл. 4.6) і, таким чином, концентрація енергії на цьому осциляторі менш вірогідна, а розщеплення, відповідно, утруднене.

Втрата нейтрального фрагмента HCN (27 а.о.м.) може призвести до появи радикалу (151–27 = 124). У спектрі така лінія відсутня (рис. 4.2). Поверхня потенційної енергії для такої фрагментації первинного іона включає TS з дуже високою енергією активації (115 ккал моль⁻¹) [379] і великою зміною ентропії, що пояснює відсутність лінії в нашому мас-спектрі.

Спроба пояснити появу іона CHNO⁺ ($m/z = 43$) (при розгляді шляху 3) каскадом перенесення атомів Н і розривом зв'язку N1–C2 з наступним розривом хімічного зв'язку C5–C6 (відповідно до моделі роботи [379] не вдалося). TS і продукт такого шляху показані на рис. S2 (додатковий матеріал [385]). Замість іона ми отримуємо нейтральну форму HN=C=O з квазілінійним ланцюгом NCO. Згідно з нашими розрахунками, потенціал іонізації цієї стабільної молекули дорівнює 10,2 еВ, тоді як залишковий фрагмент (решта форм C₄H₄N₄, див. рис.

S2(b) додаткового матеріалу [385]), має набагато нижчу енергію іонізації (7,3 eV) і, таким чином, ми не в змозі пояснити лінію ($m/z = 43$), що відповідає у мас-спектрі іону CHNO^+ . У перехідному стані (див. рис. S2(a) додаткового матеріалу [385]) майже весь заряд та його густина зосереджена поблизу іона $\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_4^+$ ($m/z = 108$). Іони однакової маси спостерігаються в мас-спектрах обох пуринових нуклеотидних основ, але в спектрі аденіну лінія 108 має значно більшу інтенсивність (рис. 4.1). Ця відмінність пояснюється складним багатоетапним шляхом фрагментації в іоні гуаніну. Слід нагадати, що структура іона $\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_4^+$ з прекурсорами аденіну (рис. 4.8) і гуаніну (див. рис. S2 додаткового матеріалу [385]) абсолютно різні.

З метою пояснення появи іонів із лініями $m/z = 54, 53$ необхідно припустити ступінчатий процес розриву зв'язку C5–C6, який стає слабким при іонізації (табл. 4.6) з подальшим розривом зв'язків C5–C4 і C4–N9 (усі зв'язки розтягуються під час іонізації). Це призводить до нейтральної форми $\text{C}_3\text{H}_3\text{N}_3\text{O}$ та зарядженого фрагменту $\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_2^+$ ($m/z = 54$); втрата водню із згаданого іона генерує нову лінію $m/z = 53$. Наші розрахунки DFT підтримують таку схему відповідно до зарядового розподілу та аналізу загальної енергії для нейтральних та іонізованих фрагментів. Заряд іону $\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_2^+$ ($m/z = 54$), що показаний на рис. S4 додаткового матеріалу [385] майже рівномірно розподілений між усіма атомами (за винятком N7, який має малий негативний заряд $-0,2$). Структура іона $\text{C}=\text{N}-\text{CH}-\text{NH}$ включає кут NCN ($119,8^\circ$) з типовою гібридизацією sp^2 на атомі C8, в той час як, кінцеві групи CNC і CNH є близькими до лінійних; весь заряд цього катіонного радикала σ зосереджений на атомі N9. Нейтральні форми $\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_2$ мають зігнуту групу CNH з кутом $117,9^\circ$ і, таким чином, атом N9 змінює гібридизацію sp^2 на гібридизацію sp при переході від нейтральної молекули до іона. Ця структурна зміна забезпечує додаткову стабілізацію іона $\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_2^+$, що добре видно в мас-спектрі гуаніну (рис. 4.2).

Наведені вище схеми фрагментації суттєво відрізняються від представлених у роботах [156,253,379]. Наші схеми засновані на численних

розрахунках DFT різних попередніх проміжних продуктів і фрагментів; вони видаються найбільш вірогідними, але ми не можемо виключити альтернативні пояснення мас-спектрів молекул аденіну та гуаніну, індукованих електронним ударом.

Загалом фрагментація молекул пуринової основи нуклеїнових кислот гуаніну буде мати вид, який є зображеним на рис. 4.10.

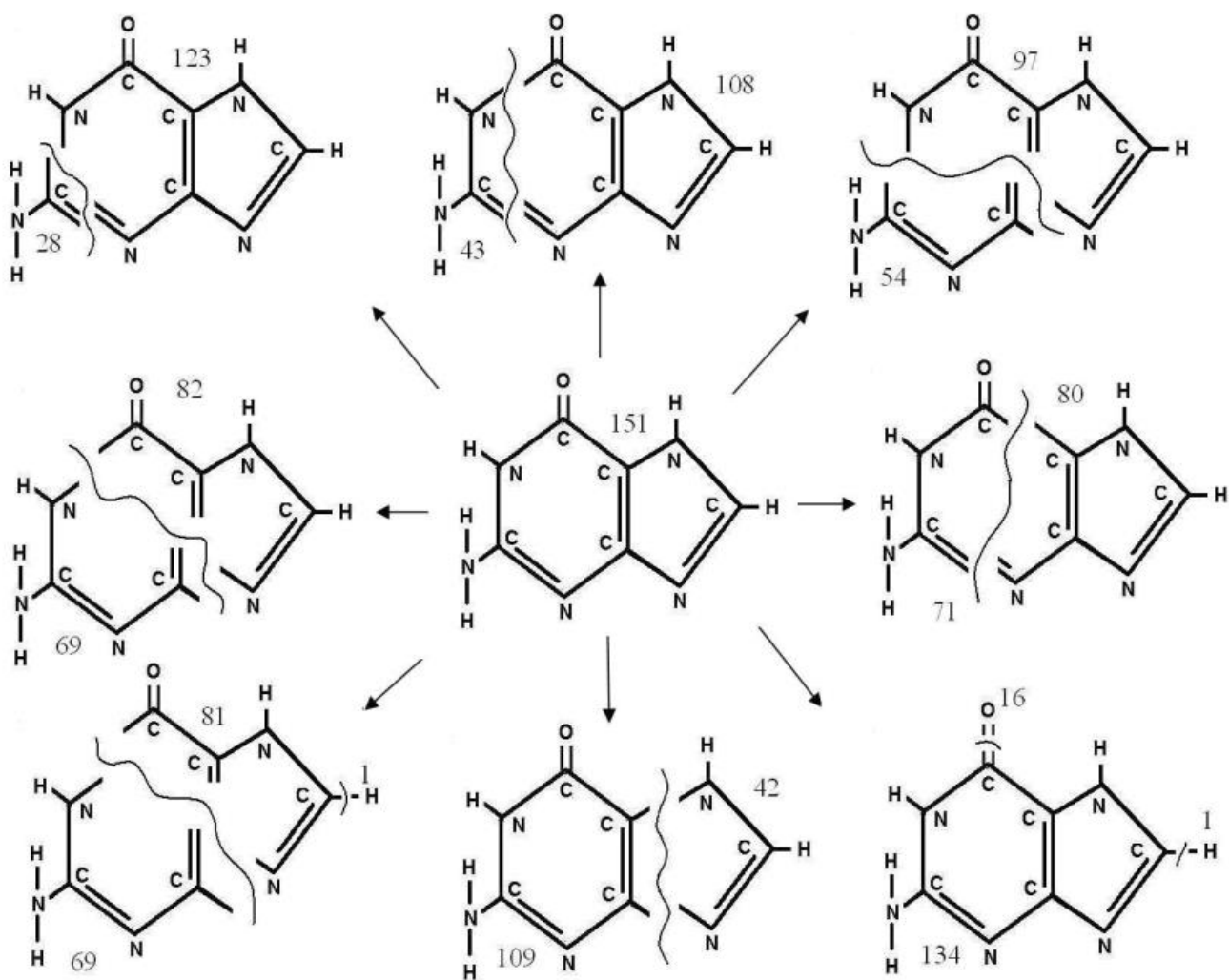


Рис. 4.10. Утворення позитивних іонів молекул гуаніну і їх фрагментів під дією електронного удару.

4.3. Процеси утворення негативних іонів азотистих основ нуклеїнових кислот

4.3.1. Функції іонізації утворення негативних іонів молекул пуринових основ

Перерізи негативної іонізації молекул аденіну та гуаніну представлені на рис. 4.11 і 4.12. Внутрішню взаємодію електронів низьких енергій з аденіном і гуаніном у газовій фазі широко вивчали протягом останнього десятиліття [255,269,295,299,379,380,382]. Губер та інші автори в роботі [43] показали, що фрагментація аденіну обмежена декількома негативно зарядженими формами. На відміну від цього, гуанін розкладається на різноманітні негативно заряджені фрагменти через низку складних одномолекулярних реакцій при зіткненнях з електронами у всьому діапазоні енергій 0 – 10 eV [269,295].

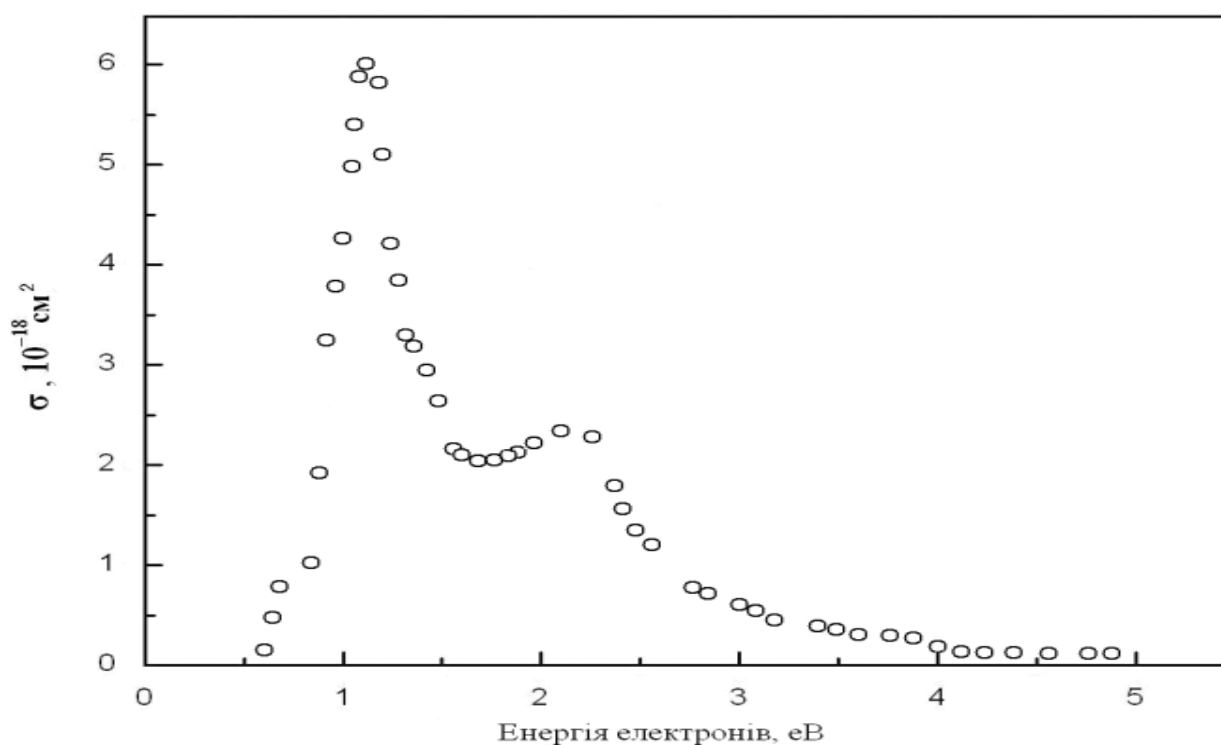


Рис. 4.11. Енергетична залежність абсолютної величини перерізу формування негативних іонів аденіну.

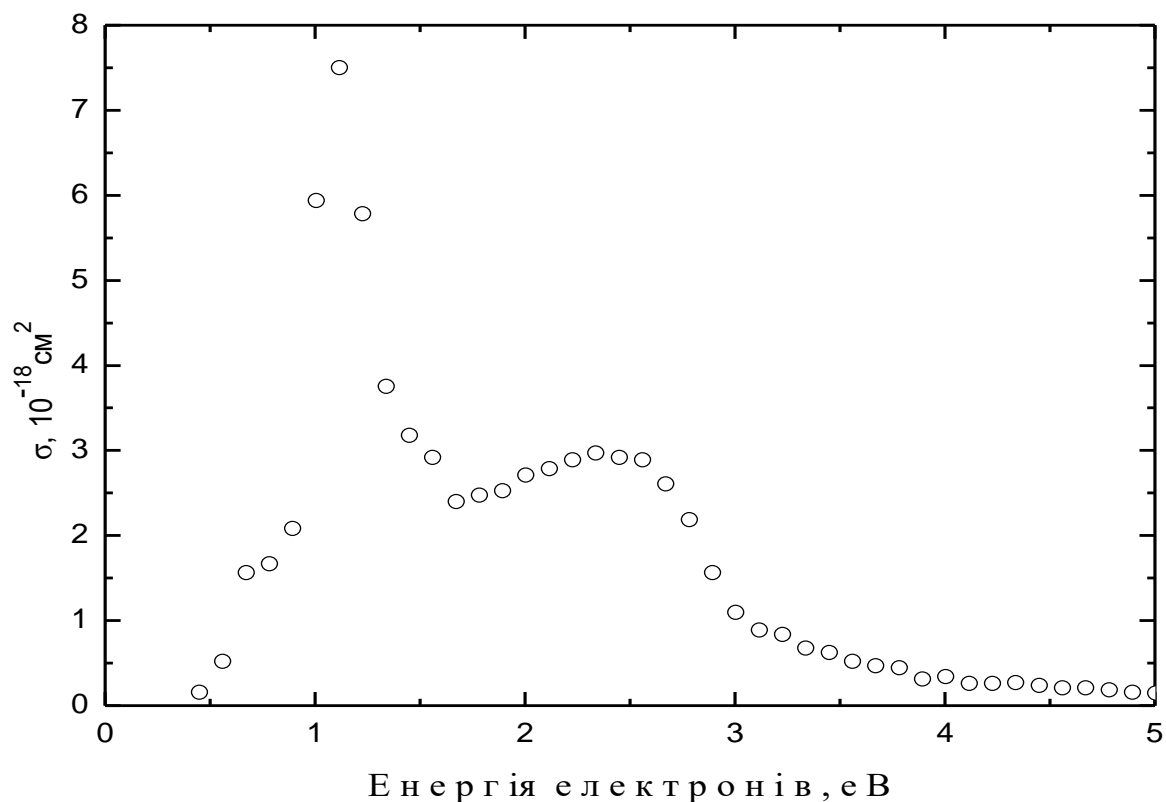


Рис. 4.12. Енергетична залежність абсолютної величини перерізу формування негативних іонів гуаніну.

4.3.2. Схеми утворення негативних іонів молекул пуринових основ

Аденін. Наш експеримент з пучками електронів та молекул, що перетинаються свідчить про те, що на відміну від позитивних іонів утворення негативних іонів аденіну відбувається в дуже вузькій області енергії бомбардуєчих електронів (рис. 4.11), тобто носить резонансний характер. Максимальне значення перерізу утворення негативних іонів молекули аденіну досягається при 1,1 еВ енергії електронів та дорівнює $(6,0 \pm 1,2) \times 10^{-18} \text{ cm}^2$ (рис. 4.11). Цей переріз є сумарним і включає утворення негативних іонів вихідної молекули та її фрагментів.

Внаслідок захоплення електрона молекула аденіну стає негативним іоном у збудженому стані. Цей аніон нестабільний і прагне позбутися додаткової енергії. Відповідно до закону збереження енергії, це є можливим шляхом дисоціації молекулярного іона. В результаті один із її фрагментів став би негативним іоном, інший – атомарним воднем. Розраховані методом DFT довжини зв'язків в негативному молекулярному іоні вказують на можливе місце розриву зв'язку. Також за допомогою даного підходу були розраховані енергетична діаграма для молекули аденіну, її аніон-радикала та можливі шляхи аніон-дисоціації (рис. 4.13).

З рис. 4.13 видно, що приєднання електрона до молекули аденіну потребує збільшення енергії на $25,6 \text{ ккал моль}^{-1}$, що відповідає від'ємній спорідненості до електрона (EA), яка дорівнює $-1,11 \text{ eV}$ і є близькою до інших експериментальних даних $-1,0 \text{ eV}$ [255,380]. Цікаво відзначити, що EA розрахована за теоремою Купманса [381] $EA = -\epsilon_{LUMO}$ (LUMO - найнижчі незайняті молекулярні орбіталі) в рамках методу PM3, є додатною ($0,45 \text{ eV}$), як і адіабатичне значення EA. Таким чином, напівемпіричний метод PM3 не є надійним для цього аніону. Теорема Купманса в підході DFT також передбачає позитивне значення EA ($0,3 \text{ eV}$), що суперечить прямому адіабатичному розрахунку з повною оптимізацією геометрії нейтральної та аніонної форм аденіну. Загальновідомо, що метод DFT не забезпечує надійних енергій MO; тому теорема Купманса не є надійною для визначення EA молекул аденіну та гуаніну, що і відображено в таблицях 4.3 і 4.4. Ми припускаємо, що особливості ефективного перерізу утворення негативних іонів нижче 1 eV на рис. 4.11 відповідають термічно активованим молекулам аденіну в пучку. Термічно збуджені коливання N-H в імідазольному кільці (3340 cm^{-1}) задовольняють невеликому зсуву вліво від головного піку приблизно $0,4 \text{ eV}$ на рис. 4.11. Розтягнення зв'язків C-N (C2-N3 і C8-N7) також відіграє дуже важливу роль під час приєднання електронів, оскільки їхні силові поля сильно послаблюються при утворенні аніонів (див. таблицю 4.5). Їх термічне збудження

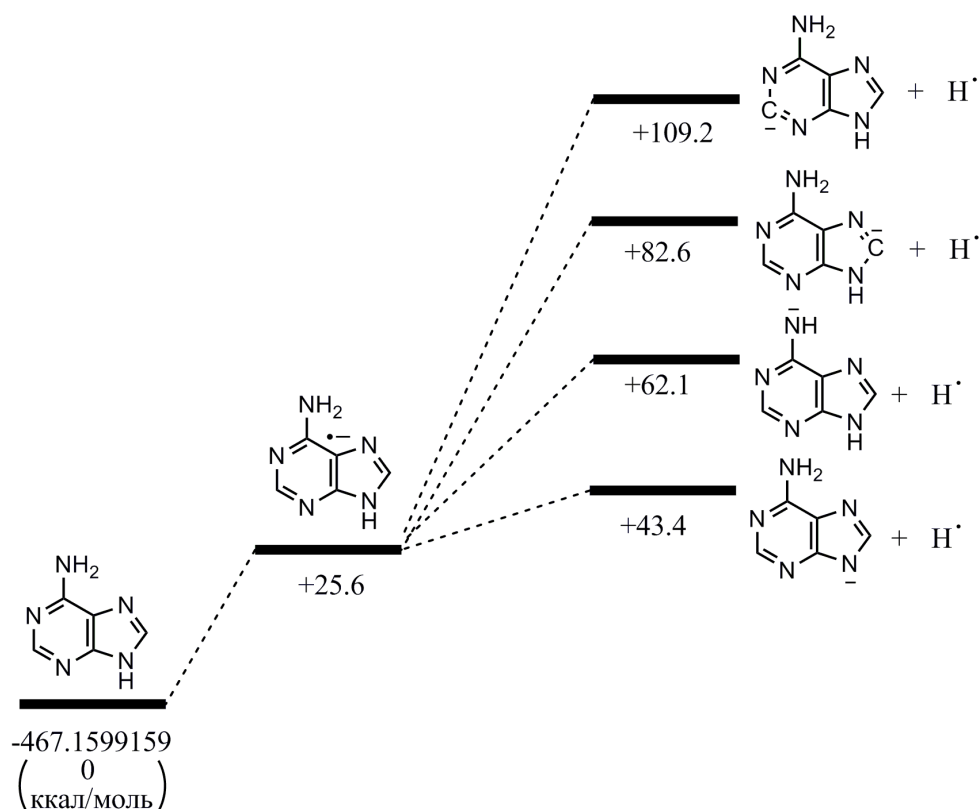


Рис. 4.13. Схема утворення негативних іонів аденіну в результаті іонізації електронним ударом.

також призводить до додаткового перерізу негативної іонізації. Ці коливання є найбільш важливими для ефективного перерізу утворення аніонів, оскільки вони дозволяють полегшити приєднання електронів за допомогою відповідних ядерних зміщень через збільшення фактора Франка-Кондона та стабілізацію аніона.

Негативний іон в основному стані, утворений резонансним приєднанням електрона, є досить стабільним через значну делокалізацію неспареного π -електрона (див. рис. S5(a) додаткового матеріалу [385]), тому електронна густина в іоні делокалізована і немає можливості виділити якийсь певний центр. З цих причин всі можливі дисоціації іона є ендотермічними процесами. Як впливає з наших DFT розрахунків (рис. 4.13), найбільш вірогідним результатом приєднання налітаючого низькоенергетичного електрона може бути формування синглетного основного негативного іону із закритою оболонкою, що

утворюється шляхом відокремлення атома водню від азоту в позиції N9 імідазольного кільця. Особливість на графіку (рис. 4.11) при 1,5 еВ, що вказує на невелике збільшення перерізу утворення негативних іонів молекули аденіну, ймовірно, пов'язане з розривом зв'язку N9–H. Високий пік при 2,2 еВ на рис. 4.11 можна пов'язати з розривом зв'язку N–H аміногрупи. Подібним чином, неявно виражені особливості при 3,8 і 4,7 еВ в енергетичній залежності поперечного перерізу (рис. 4.11) можна віднести до відповідних дисоціацій зв'язків C–H, які потребують більшої енергії. Узгодження з теоретично розрахованими значеннями енергії буде вищим, якщо будуть враховані вібраційна поправка. Таким чином, дисоціативне приєднання електронів (DEA) до молекули аденіну в газовій фазі в пучку можна якісно інтерпретувати на основі наших DFT розрахунків.

У дослідженні Абдул-Каріма та інших авторів [299] негативні іони, утворені в результаті зіткнень електронів і молекул, були вилучені з реакційного об'єму невеликим електричним полем у напрямку квадрупольного мас-аналізатора і детектувалися методом підрахунку одиничних імпульсів. В діапазоні енергій налітаючих електронів нижче 5 еВ був отриманий лише вихід іонів $(A-H)^-$ (134 а.о.м.). Два резонансні максимуми на графіку іонного виходу для цих іонів в роботі [299] з масою 134 а.о.м. відповідають характерним особливостям при 1,18 і 2,17 еВ на нашому рис. 4.11. Крива іонної ефективності для дегідрування іону аденіну через DEA, отримана Губером та іншими авторами в роботі [43], також добре збігається з нашими даними (рис. 4.11). Таким чином, наша інтерпретація DFT (рис. 4.13) ефективного перерізу DEA на рис. 4.11 добре узгоджується з результатами робіт [43] і [299]. Інші процеси, окрім дегідрування, відбуваються близько 6 – 7 еВ [299] та не стосуються нашого дослідження.

Гуанін. Дисоціативне приєднання електронів до молекули гуаніну менш зрозуміле. На відміну від інших нуклеотидних основ, гуанін поводить себе зовсім по-різному під час зіткнень з низькоенергетичними електронами [255,269,295,299,379,380,382]. Це означає, що дегідрування порівняно слабке в негативному іоні гуаніну, тоді як різноманітні подальші реакції фрагментування

спостерігаються з низькоенергетичними іонами-прекурсорами π^* . Негативний іон, утворений резонансним приєднанням електронів, також характеризується значною делокалізацією неспареного π -електрона (див. рис. S5(b) додаткового матеріалу [385]). Ці реакції призводять до утворення фрагментів іонів у формі $(G-O/NH_2)^-$, $O-/NH_2^-$, $(G-HOCN)^-$, OCN^- , CN^- , що вказує на розщеплення одинарних зв'язків, але також і на більш складні одномолекулярні розпади, які є пов'язаними із видаленням ціаноланок із циклічної структури [299]. Ефективний переріз ДЕА для дегідрування гуаніну в положенні максимуму в дослідженнях Абдула-Карима та інших авторів [299] становить $5 \times 10^{-18} \text{ см}^2$, що добре узгоджується з нашими даними $(7,8 \pm 1,6) \times 10^{-18} \text{ см}^2$.

Дослідники Ксі і Цао в роботі [295] представили профілі поверхні потенційної енергії вздовж різних дисоціацій зв'язків N–H і C–H в негативному іоні гуаніні, отримані за допомогою DFT розрахунків. Наші розрахунки (рис. 4.14), загалом, узгоджуються з результатами Ксі і Цао [295]. По-перше, можна підкреслити, що для дегідрування іону гуаніну потрібна набагато більша енергія, ніж для іону аденіну (рис. 4.12). Крім того, розриви різних зв'язків N–H і C–H майже однаково ендотермічні. Це узгоджується з дифузним другим максимумом у ефективному перерізі іонізації гуаніну порівняно з аденіном.

Барроу та інші автори в роботах [255,269] окреслили загальний діапазон енергій приєднання до найнижчих орбіталей, які спостерігаються у всіх нуклеотидних основах. Докази ядерного руху протягом часу життя негативних іонів виявлені в усіх сполуках, окрім аденіну [255]. Це демонструє, що інжекція електронів у найнижчі незайняті π^* -орбіталі гуаніну створює сильно збуджені коливальні моди [383]. Розрахунки показують, що LUMO в гуаніні є антив'язувальним щодо хімічних зв'язків C=O, N1–C2, C2–N3, C4–C5, C4–N9 і N7–C8 (див. рис. S5(b) додаткового матеріалу [385]); це означає, що приєднання електрона викликає значні зміни в силовому полі відносно нейтральної молекули.

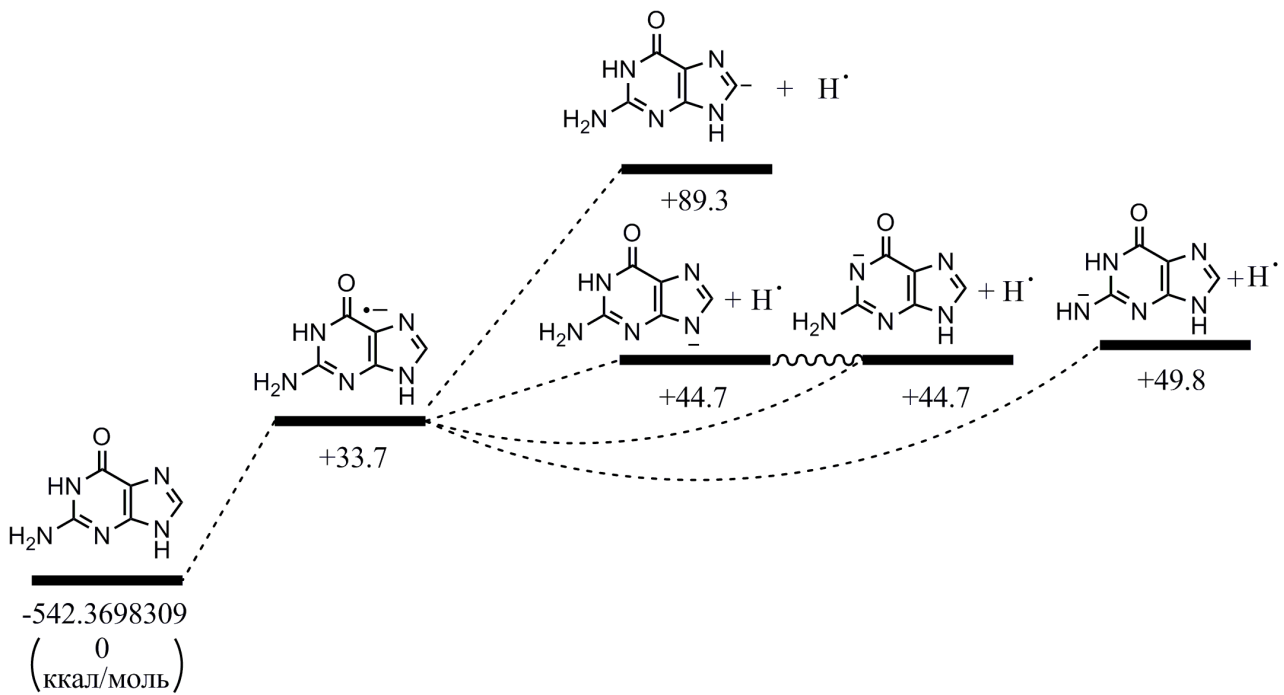


Рис. 4.14. Схема утворення негативних іонів гуаніну в результаті іонізації електронним ударом.

Віллі та інші автори [382] представили вимірювання обернених потенціалів відновлення нуклеотидних основ у розчині, з яких вони визначили адіабатичну спорідненість до електронів (ЕА) у газовій фазі через калібрування шляхом порівняння з іншими молекулами, для яких відомими є обидві величини. Їх спорідненість до аденіну і гуаніну дорівнює +0,95 і +1,51 еВ відповідно. Ці значення добре узгоджуються з нашими результатами адіабатичних розрахунків DFT (-1,11 і -1,46 еВ відповідно). Єдина відмінність стосується знака визначення спорідненості до електрона. Ми хочемо підкреслити, що приєднання електрона до цих молекул є ендотермічним процесом (рис. 4.13 і 4.14), тому ЕА є від'ємним. Згідно з теоремою Копмана, $EA = -\epsilon_{LUMO}$, отже, екзотермічне приєднання відповідає позитивному значенню ЕА. Афлатуні та інші автори в роботі [255] згадали, що енергії, необхідні для приєднання електрона до чотирьох основ ДНК в умовах розсіювання електронів, є додатними. Їхне

пояснення ґрунтується на ідеї, що іонні стани в рівноважній геометрії нейтральної молекули є тимчасовими, тобто нестійкими по відношенню до автовідриву електронів, і представляють іони у вигляді «резонансів» ефективній перерізах розсіювання електронів [255]. Точніше кажучи, усі енергії вертикального приєднання є більшими за нуль, або більш звичною мовою, вертикальне $E_A < 0$ [255]. Наші DFT розрахунки показують, що адіабатичні E_A також є негативними для аденіну (рис. 4.13) і гуаніну (рис. 4.14), що добре узгоджується з нашою інтерпретацією кривих ефективного перерізу (рис. 4.11 і 4.12).

Порівняльне дослідження взаємодії низькоенергетичних електронів з аденіном і гуаніном представляє інтерес зі структурної точки зору. Наші результати узгоджуються з нещодавніми експериментальними спостереженнями, які показують, що пуринові нуклеотидні основи аденін і гуанін можуть руйнуватися електронами з дуже низькою енергією [255,269,295]. Розпад аденіну (A) дає основні фрагменти $(A-H)^-$ (134 а.о.м.) і $(A-HCN)^-$ (108 а.о.м.), CN^- (26 а.о.м.), в яких процеси дегідрування (A-H) становлять приблизно 95% загального іонного виходу [299]. На відміну від цього, фрагментація гуаніну при дисоціативному приєднанні електронів забезпечує набагато більше різноманітних іонних фрагментів, а канал дегідрування є другорядним і становить $\sim 5\%$ від загального виходу фрагментів [255]. Фрагментація молекул гуаніну в процесі захоплення ними низькоенергетичних електронів генерує більше різних іонних фрагментів, які приписуються наступним радикалам: $(G-H)^-$ (150 а.о.м.), $(G-NH_2)^-$ (135 а.о.м.), $(G-OCNH)^-$ (108 а.о.м.), OCN^- (42 а.о.м.), CN^- (26 а.о.м.) та $(O \text{ та/або } NH_2)^-$ (16 а.о.м.). Усі вони проявляються за енергій електронів нижчих 5 еВ [299]. Ми вирішили проаналізувати появу вищезгаданих іонів з масою 16 а.о.м., оскільки вони дають незначний максимум приблизно при 2 еВ у кривій виходу іонів, який був отриманий Абдулом-Карімом та іншими авторами [299]. Детальна інтерпретація таких низькоенергетичних зіткнень електронів з подальшою елімінацією кисню з молекул гуаніну допомогла нам

прояснити походження широкої характерної особливості біля 2 eV на рис. 4.12. За допомогою оптимізації геометрії DFT ми розраховали кілька різних продуктів елімінації кисню з нейтральної молекули гуаніну та з її негативного іону (рис. 4.41).

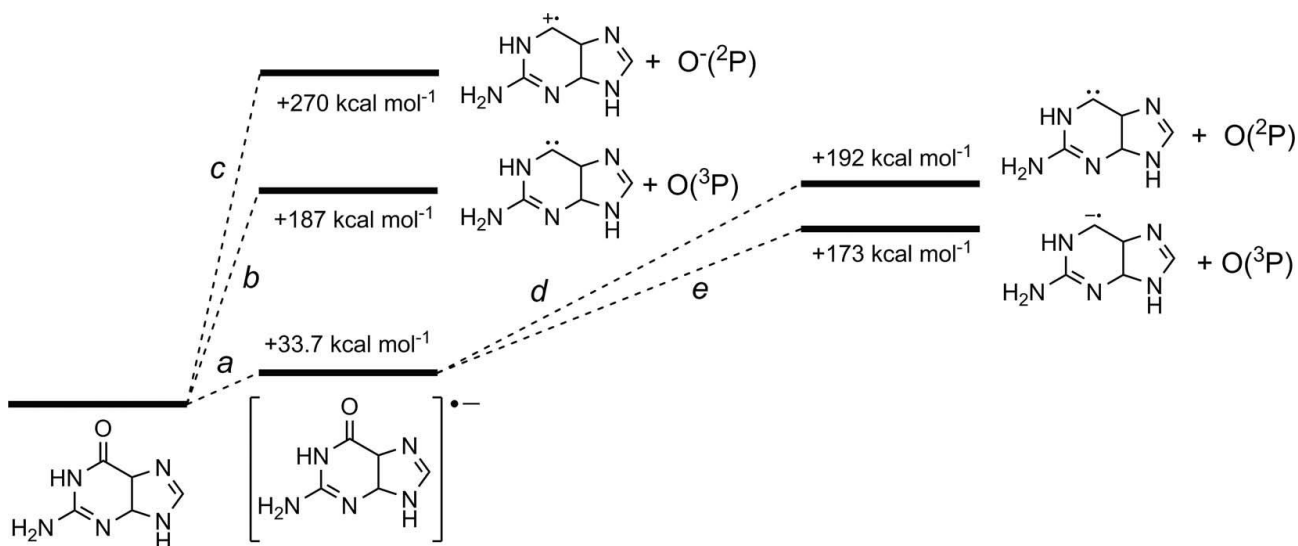


Рис. 4.15. Можливі шляхи елімінації кисню з нейтральної молекули гуаніну (b, c) та з її негативного іону (d, e).

Подвійний зв'язок C=O досить міцний і для його гомолітичного розриву від нейтральної молекули гуаніну потрібно відносно високу енергію (187 ккал моль⁻¹). Це гомолітичне розщеплення призводить до двох триплетних різновидів (загальний спін дорівнює нулю, процес з дозволеним спіном): триплетного атома оксигену O(³P) і триплетної молекули карбону (рис. 4.42(b)). Гетеролітичне розщеплення зв'язку потребує значно більшої енергії (270 ккал моль⁻¹, рис. 4.42 (c)). На противагу, відповідні процеси в негативному іоні гуаніну протікають набагато легше. Таким чином, для дисоціації на триплетний атом оксигену O(³P) та іон C₅H₄N₅⁻ (135 а.о.м.) потрібно лише 139 ккал моль⁻¹ (рис. 4.14 (e)), що на 48 ккал моль⁻¹ менше, ніж для нейтральних молекул. Це якісно узгоджується зі спостереженням негативного іона з масою 134 а.о.м. [299]. Високі значення

енергії дисоціації не корелюють з максимумами ефективного перерізу виходу іонів. Вірогідно іони виникають в результаті утворення дипольно-зв'язаного іону в коливально-збудженому стані, який з'єднується зі станом $\sigma_{C=O}^*$. Дипольно-зв'язаний іон утворюється через зв'язування захопленого електрона, який «сидить» на дифузній орбіталі за межами геометрії молекули дипольним моментом поляризованої нейтральної молекули [294]. У такому випадку резонанс Фешбаха, пов'язаний з дисоціативною вібрацією, може бути відповідальним за фрагментацію іонів, а розрив зв'язку вимагатиме меншої енергії.

Оскільки група NH_2 і негативні іони атомів кисню не розрізняються за масою, максимуми при 16 а.о.м. в спектрах іонного виходу [299] можуть відповідати обом формам. Інша можливість може бути пов'язаною з дисоціацією NH_2 . Деякі особливості на графіку функції іонізації у припорогових областях енергій [299] свідчать про утворення збуджених іонних станів [37]. Дипольно-зв'язаний резонанс Фешбаха, пов'язаний з рівнем ν валентного коливання $N10-C2$, пов'язаного зі станом σ_{N-H}^* [382], може призвести до першого максимуму на енергетичній залежності перерізу виходу негативних іонів гуаніну [255]. Дипольно-зв'язані аніони нуклеотидних основ були передбачені в роботах [284,286] та спостерігалися в експериментах у газодинамічних потоках [384]. Ми розрахували, що дипольний момент гуаніну становить 7,2 D, тоді як для аденіну прогнозується рівним 2,48 D (що добре узгоджується з даними робіт [299] і [284]). Ці значення вищі, ніж критичний дипольний момент молекули для утворення збудженого стану дипольно-зв'язаного негативного іону [299]. Проте немає очевидних причин, щоб пояснити, чому дегідрування молекули аденіну відбувається через утворення дипольно-зв'язаного стану і чому це не є таким для випадку гуаніну

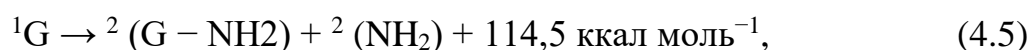
Таблиця 4.7.

Розраховані енергії вихідних реагентів і продуктів елімінації NH₂ з гуаніну.

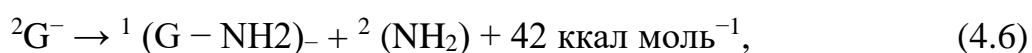
Фрагмент	Повна енергія, hartree
Гуанін ¹ G	- 542,3698309 Іон
Іон гуаніну ² G ⁻	- 542,3161845
¹ (G-NH ₂) ⁺	- 486,0777217
² (G-NH ₂)	- 486,3344614
¹ (G-NH ₂) ⁻	- 486,3963136
² (NH ₂)	- 55,8529171
¹ (NH ₂) ⁻	- 55,8231872

Беручи до уваги дані таблиці 4.7 та розраховані теплоти для гомолітичного (реакції (4.5), (4,6)) та гетеролітичного елімінування NH₂ (реакції (4.7), (4.8)) молекули гуаніну (реакції ((4.5), (4.7)) та його негативного іону (реакції (4.6), (4.8)), можна побачити, що найбільш ймовірним процесом є утворення фрагмента (G-NH₂)⁻ з масою (135 а.о.м.). Це є енергетично нижчим гомолітичного елімінування NH₂ з нейтральної молекули гуаніну на 72,5 ккал/моль. Вищезгадане є пов'язаним з подовженням хімічного зв'язку C2-N10 на 0,059 Å при приєднанні. Для гомолізу іона гуаніну потрібно лише 42 ккал моль⁻¹ або 1,82 еВ. Це відповідає дуже інтенсивному піку (маса 135 а.о.м.) негативного іона [255]:

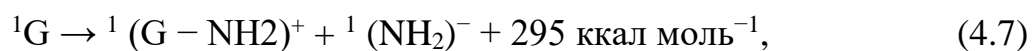
Гомоліз нейтрального гуаніну



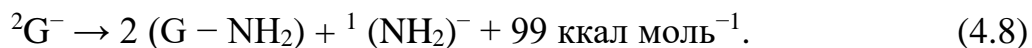
Гомоліз негативного іону гуаніну



Гетероліз нейтрального гуаніну



Гетероліз негативного іону гуаніну



Дійсно, спорідненість до електрона фрагмента ${}^2(\text{G}-\text{NH}_2)$ ($\varepsilon_{LUMO}^\beta = 3,56 \text{ eV}$) майже збігається зі значенням енергії дисоціації $\text{G}-\text{NH}_2$ ($D = 3,9 \text{ eV}$) [36]. Таким чином, це пояснює ефективний перебіг такої реакції, яка відбувається майже при енергії близькій до 0 eV.

Гетеролітичне розщеплення з утворенням $(\text{NH}_2)^-$ (16 а.о.м.) є значно енергетично вищим ендотермічним процесом (4.7). Це добре узгоджується з піком в спектрі виходу іонів для такої маси іона [299]. Порівняння з можливими шляхами видалення кисню з іону гуаніну (рис. 4.15) чітко вказує на те, що масу (16 а.о.м.) можна віднести переважно до вищевказаного іону.

Порівняльне дослідження даних про розсіювання низькоенергетичних електронів молекулами аденіну і гуаніну свідчить про те, що згадана останньою основа є менш чутливою до електронних атак. Детальне розуміння таких низькоенергетичних електронних зіткнень, їх ефективних перерізів і особливостей фрагментації молекул пуринів (аденіну і гуаніну) вимагає порівняння наших вимірювань і теоретичних даних з результатами попередніх досліджень [43, 255, 269, 295, 299, 379, 380, 382]. Порівнявши таблицю 4.7 і рис. 4.15, можна зробити висновок, що маса негативного фрагмента 135 а.о.м., утворена з гуаніну в дослідженнях [299], можна віднести до реакції (4.5). У загальному випадку цій масі можуть відповідати такі негативні іони як $(\text{G}-\text{O})^-$ чи $(\text{G}-\text{NH}_2)^-$. Утворення першої форми потребувало б набагато більшої енергії з огляду природи сильного подвійного зв'язку поляризованої хімічної властивості $\text{C}=\text{O}$. Розрахунки DFT (таблиця 4.7 і рис. 4.15) підтверджують висновок [299],

що фрагмент $(G-NH_2)^-$ вірогідніше утворюється, ніж $(G-O)^-$ при низькоенергетичному розсіюванні електронів на молекулах гуаніну. Інтерпретація визначеного нами ефективного перерізу негативних іонів (рис. 4.12) також підтверджує такий перебіг вищепрведених процесів.

Процеси в *галогензаміщених молекулярних* складових нуклеїнових кислот, що викликані електронним ударом, становлять особливий інтерес. Багаторічні спостереження показали радіосенсибілізуючу роль таких сполук, що важливо для практичного застосування у радіотерапії. У дослідженні [299] описані результати мас-спектрометричного вивчення процесів зіткнення повільних електронів з ізольованими молекулами галогензаміщеного нуклеозиду 5-бромуридину. Отримані дані аналізуються в порівнянні із канонічними нуклеозидами, складовими (азотисті основи, цукор), а також 5-бромурацилом.

В роботах [140,155] проаналізовані відмінності електронної та коливної структури молекул тимідину (dThd) та 5-бромуридину (5-BrdUrd), а також особливості їх змін внаслідок аніоноутворення, виконане порівняння отриманих розрахункових даних з експериментальними, обговорена біологічна значущість одержаних результатів.

Молекулярним механізмом, що відповідає за геномодифікуючий ефект заміщення тиміну на 5-бромурацил може бути є спровоковане зазначеним заміщенням тотальне збурення коливної структури. Також є вірогідним механізм, що був запропонований в дослідженні [220]. Внаслідок вищенаведених факторів утруднюється координація (взаємоузгодження) високодетермінованих в часі і просторі процесів молекулярного впізнавання; відбуваються збої в роботі біомолекулярних систем контролю за цілісністю спадкової інформації, і відповідно, має місце різке зростання кількості випадкових мутацій.

Порівняння з бромурацилом показує, що процес дисоціативного прилипання (захоплення) електронів зазнає суттєвих змін при переході від ізольованої нуклеотидної основи до нуклеозиду. До того ж, в останніх

публікаціях висувається припущення, що дія низькоенергетичних електронів на бромурацил, з'єднаний з аденіном в подвійній спіралі ДНК, мала б бути менш реактивною (мати менший переріз) порівняно з неспареним бромурацилом в одиничному ланцюгу ДНК. Однориткова ДНК, яка присутня, наприклад, під час реплікації або поділу клітини і містить в собі галоуридинові субодиниці піддається прямій атаці повільними електронами. Тому, дані результати можна віднести до таких, що описують фундаментальні механізми радіосенсибілізації. Поєднання цих результатів з математичними моделями є перспективним для вдосконалення стратегії радіотерапії.'

4.4. Біофізичні наслідки взаємодії повільних електронів з біомолекулярними структурами.

Визначення абсолютних величин важливих фізичних характеристик непружних електрон-молекулярних взаємодій, які, є, водночас, об'єктивними біофізичними характеристиками, дозволяє провести не лише якісні судження, але й дати об'єктивну кількісну оцінку процесам, які мають місце у біомолекулах.

Сукупність основних фізичних процесів за участі молекули M у непружних взаємодіях з електроном e схематично можна зобразити наступним чином:

$M + e \rightarrow M^+ + 2e$ (процес утворення позитивно зарядженого іону молекули);

$M + e \rightarrow M^-$ (процес утворення негативно зарядженого іону молекули);

$M + e \rightarrow M^* + e$ (збудження молекули);

$M + e \rightarrow M_1^* + M_2 + e$ (процес дисоціативного збудження);

$M + e \rightarrow M_1^+ + M_2 + 2e$ (процес дисоціації з утворенням позитивних іонів);

$M + e \rightarrow M_1^- + M_2$ (процес дисоціативної іонізації з утворенням негативних іонів);

$M + e \rightarrow M_1^+ + M_2 + e$ (процес дипольної дисоціації).

Зазначимо, що вищеприведені процеси проходять практично одночасно, з різними ймовірностями та з великими швидкостями.

У свою чергу, процеси іонізації азотистих основ нуклеїнових кислот, а особливо процес дисоціативної іонізації, під впливом вторинних повільних електронів будуть приводити до функціональних і структурних зрушень у живих клітинах. Доречно буде відмітити, що перерізи іонізації досліджуваних біологічних макромолекул у кілька разів більші від величини перерізу іонізації молекул звичайної води H_2O ($1,5 \cdot 10^{-16} \text{ см}^2$, згідно дослідження [200]), на долю яких припадає орієнтовно 70% маси живих клітин. Зважаючи на вищенаведене, можна прийти до висновку, що в умовах клітини протекуючі властивості молекул води не є достатній мірі істотно вираженими.

Залишається відкритим питання стосовно ролі негативних іонів у біоструктурах. Але, зважаючи на фундаментальні фізичні закономірності та ґрунтуючись на отриманих результатах наших досліджень, можна прогнозувати декілька основних напрямків перебігу процесів.

Відповідно до викладеного у п.3.5 тезисі, що за невеликих концентрацій взаємодіючих частинок є практично неможливим утворення помітних кількостей негативно заряджених іонів вихідних молекул (молекулярних іонів), які знаходяться у вільних станах. Така ситуація має місце в наших експериментах, в яких реалізується газовий стан молекул. Однак фізична картина суттєво змінюється, якщо в середовищі помітними стають зіткнення біомолекул з частинками третього типу, що приводить до енергетичної стабілізації негативних молекулярних іонів. Так, за великих концентрацій частинок (до прикладу, в умовах живої клітини) вірогідність виникнення і стабілізації негативно зарядженого іона вихідної молекули буде досить високою.

Резонансне походження утворення негативних іонів, і саме за невеликих енергій, без перебільшення дає підстави вважати, що згаданий механізм буде заподіювати значні порушення в нуклеотидних основах нуклеїнових кислот. Опираючись на наші дані, перерізи утворення негативно заряджених іонів цитозину, тиміну, урацилу, аденіну і гуаніну орієнтовно у 500 разів менші від величин перерізів для позитивно заряджених іонів. Тим не менш, зазначений факт не є достатнім аргументом узагальнення в контексті того, що результуючий деструктивний вплив негативно заряджених іонів буде меншим, ніж позитивно заряджених, через те що їх реакційні властивості є різними.

Наприкінці врахуємо, що внаслідок непружних взаємодій низькоенергетичних електронів з молекулами, вірогідне (на відміну від фотопроцесів) безпосереднє збудження метастабільних станів. Можна здогадатися, що саме через зазначені довгоживучі збуджені стани формуються додаткові умови для резонансного утворення негативних іонів. Яскравий доказ цьому надзвичайно великі перерізи ($\sim 10^{-14}$ см²) утворення негативних іонів в процесах зіткнень електронів із метастабільними атомами. Пряме формування метастабільних триплетних збуджених станів біомолекул та свічення збуджених позитивно заряджених молекулярних іонів приведені в наших роботах.

Іншими словами, переходячи до узагальнень конкретних експериментальних результатів, необхідно брати до врахування вклад багатьох каналів. До прикладу, крім іонізованих та збуджених продуктів, можуть утворюватися також і нейтральні фрагменти, в т.ч. атомарний водень, ідентифікація яких є достатньо складною. Всі ці фактори, зі свого боку, будуть приводити до деструктивних процесів у живих клітинах. Перш за все слід очікувати порушень стабільності порядку водневих зв'язків, що забезпечують комплементарність пар основ, генотоксичних і мутагенних змін. Зокрема, ініційовані повільними електронами перетворення азотистих основ нуклеїнових кислот можуть супроводжуватися змінами характеру взаємодії молекул. Одна піримідинова основа може замінитися іншою, також піримідиною, основою

(тимін урацилом чи навпаки) або ж одна пуринова основа – іншою пуриновою (гуанін аденіном чи навпаки). Такі мутації називаються транзиціями. Якщо ж пуринова основа замінюється піримідиною, то відбувається зміна орієнтації пари пурин-піримідин. Цей тип заміни називається трансверсією [180, 183]. Також не слід нехтувати впливом на енергетику клітини та на протонні транспортні системи.

Отже з'ясовуючи механізми виникнення позитивно і негативно заряджених іонів в біомолекулах та можливі наслідки перебігу зазначених фізичних процесів у живих організмах, необхідно враховувати цілковито весь комплекс перетворень, що запускаються низькоенергетичними електронами у речовині.

Очевидно, першочергово має місце іонізація даних молекул з участю π -електронів. Причому осколючні іони виникають не лише в основному, але і в збудженому стані [27] і, отже, ймовірна поява надзбуджених станів молекул. Не виключено, що при цьому проходять і складніші електронні процеси. Як показано авторами роботи [212–214], в таких гетероциклічних сполуках можуть відбуватися ефекти електронного спряження. Суть їх зводиться до π -спряження вільної електронної пари амінного атома азоту з π -електронною системою кільця. Ці процеси посилюються при переході молекули у збуджений стан. Наслідком даних електронних чинників є те, що нуклеотидні основи, до складу яких входить аміногрупа (цитозин, аденін, гуанін), є стереохімічно нежорсткими молекулами із складною топологією гіперповерхні потенціальної енергії. Квантово-хімічними розрахунками [216–218] показано, що при переході із основного електронного стану у перший збуджений, площини основ стають плоскими, тобто всі атоми кожної молекули знаходяться в одній площині, яка співпадає із площиною симетрії. Можливо, цим пояснюється той експериментальний факт, що при електронному ударі з близькими імовірностями утворюються різноманітні фрагменти основ, в тому числі внаслідок розриву зв'язків у взаємно перпендикулярних напрямках.

Підсумовуючи, зазначимо, що, як видно з результатів експериментів (таблиці 4.1, 4.2, 4.5, 4.6; рис. 4.3, 4.4, 4.11, 4.12), розпад молекул азотистих основ нуклеїнових кислот внаслідок зіткнень з повільними електронами в газовій фазі є мультиканальним процесом. При цьому домінуючим каналом (переріз становить за порядком величини $10^{-15} \text{ см}^2 - 10^{-16} \text{ см}^2$) є утворення молекулярного іону, що свідчить про достатню стійкість досліджуваних азотистих основ нуклеїнових кислот до електронного удару. Вказана особливість є надзвичайно значимим фактом для таких складних молекул як цитозин, тимін, урацил, аденін та гуанін, у випадку, коли найбільша величина парціального перерізу іонізації характеризує утворення саме молекулярного іона.

Отже, навіть при енергіях налітаючих електронів значно більших, ніж поріг іонізації, молекули цитозину та урацилу з високою імовірністю залишаються цілими (зберігають структуру). В умовах клітинного середовища це означатиме структурну незмінність геному але, очевидно, слід очікувати конформаційні зміни в ДНК, локалізовані в місцях утворення даних молекулярних іонів. Зрозуміло, що такі локальні конформаційні порушення утрудняють високоорганізовані в часі і просторі процеси молекулярного впізнавання.

Апроксимуючи дану ситуацію на умови клітинної ДНК, не будемо применшувати і деструктивну здатність інших продуктів, які утворюються внаслідок зіткнення з повільними електронами (рис. 4.16). Всі уламки є радикалами, які, будучи в клітинній ДНК, запускають каскад деструктивних реакцій, порушуючих структурну цілісність геному. Однак одразу ж активізується система репарації [180]. Встановлення перебігу біологічної дії низькоенергетичних випромінювань заключається у розшифруванні всієї послідовності процесів, яка розпочинається з появи в опроміненному об'єкті деякої певної кількості іонізованих та збуджених молекул.

Узагальнюючи зазначимо, що молекулярні механізми взаємодії повільних електронів з ізольованими компонентами можна поділити на дві принципово різні групи:

1) за енергій налітаючих електронів вище порогу іонізації даних молекул найбільш імовірними є іонізація та мультिकанальна дисоціація молекулярних компонентів НК;

2) за енергій налітаючих електронів нижче потенціалу іонізації і збудження біомолекул найбільш імовірним є резонансне електронне захоплення з наступною дисоціацією молекул, причому канал дисоціації визначається енергією налітаючих електронів.

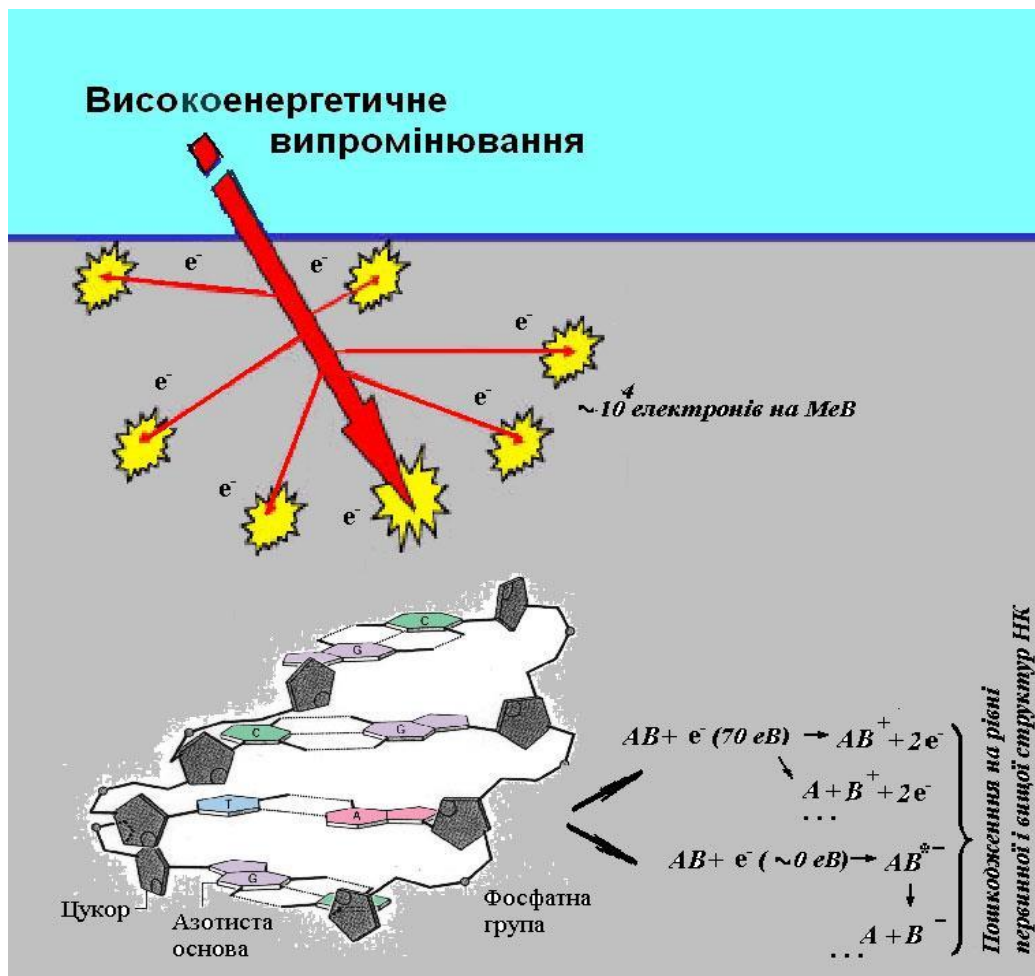


Рис 4.16. Роль повільних електронів у механізмах генодеструктивної дії радіації.

Висновки до розділу 4

1. Визначені абсолютні значення повних перерізів формування позитивних іонів пуринових: аденіну та гуаніну і їх функції іонізації (енергетичні залежності перерізів іонізації) у діапазоні енергій електронів від величини порогу до 200 еВ. Відмічено, що після припорогового росту функції іонізації також є пологими з достатньо слабо вираженими особливостями та із досить широкими максимумами у інтервалі від 85 до 95 еВ.

2. Встановлено, що максимум перерізу іонізації аденіну настає за енергії 90 еВ і рівний $(2,8 \pm 0,15) \cdot 10^{-15} \text{ см}^2$. Для гуаніну величина максимального значення перерізу іонізації становить $(3,2 \pm 0,15) \cdot 10^{-15} \text{ см}^2$ та досягається за енергії 88 еВ.

3. Визначені абсолютні значення величин повних перерізів формування негативних іонів вищеприведених молекул в діапазоні енергій електронів від величини порогу до 5 еВ.

4 Встановлено, що досліджені процеси утворення негативних іонів носять резонансний характер. Зокрема: максимальне значення перерізу процесу для аденіну становить $6,0 \cdot 10^{-18} \text{ см}^2$ та досягає за енергії 1,1 еВ, для гуаніну набуває значення $7,8 \cdot 10^{-18} \text{ см}^2$ за енергії 1,2 еВ.

5. За допомогою теоретичних розрахунків детально розглянуті механізми утворення негативних іонів пуринових основ при їх взаємодії з низькоенергетичними електронами.

6. Проаналізовані біофізичні наслідки взаємодії повільних електронів з біомолекулярними структурами.

РОЗДІЛ 5

ВПЛИВ УЛЬТРАФІОЛЕТОВОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ

Вступ до розділу 5

З огляду на необхідність розробки та впровадження принципово нових, екологічно чистих сучасних технологій увага дослідників дедалі частіше приковується до біоорганічних матеріалів природного походження. На даному проміжку часу успішно розвиваються наступні перспективні науково-технічні напрямки, такі як біомедінженерія, молекулярна електроніка (зокрема біоелектроніка), біосенсорика, що являється новим шаблоном у процесах мікромініатюризації та вдосконалення електронних пристроїв переробки інформації [301–304]. Унікальними, по своїй суті, об'єктами, що володіють властивостями квазіодновимірною органічного напівпровідника із відносно простимим переходами «впорядкованість – невпорядкованість» у структурній ґратці та можуть супроводжуватися нелінійними ефектами, являються молекули нуклеїнових кислот [205–208,305–307]. Є безперечним, що для створення вищезазначених біотехнічних пристроїв необхідно мати вичерпну інформацію щодо фізичних властивостей біополімерів і їх складових, за особливості структурної будови біомолекул та її залежність від різноманітних зовнішніх факторів (температури, випромінювання, електромагнітних полів тощо).

Як відомо, ДНК і РНК є мішенями при летальній та мутагенній дії короткохвильового ультрафіолетового (УФ) випромінювання. Основними хромофорами ДНК є молекули азотистих основ нуклеїнових кислот, причому квантові виходи фотоперетворень піримідинових компонентів приблизно на порядок вищі, ніж пуринових.

Одне із важливих завдань дослідження - вивчити вплив ультрафіолетового випромінювання енергією 3,5 – 5,2 еВ на нуклеїнові кислоти та їх компоненти *in vitro* та *in vivo*. Для вирішення такої цілі необхідно реалізувати комплексне поєднання різних методик – і експериментальних, і теоретичних. Тому з використанням методів інфрачервоної спектроскопії та діелектрометрії було здійснено вивчення дії ультрафіолетового випромінювання на молекули нуклеотидних основ у конденсованому стані. Проведені кінетичні дослідження змін структури ДНК *in vitro* та *in vivo* після опромінення ультрафіолетом різних довжин хвиль. Виконані квантово-хімічні розрахунки для встановлення закономірностей та порівняння молекулярних механізмів дії низькоенергетичних електронів та фотонів на нуклеїнові кислоти. Проведена апроксимація отриманих результатів на умови клітинної ДНК, оцінені біофізичні наслідки, приведено їх модельний опис для прикладних завдань.

5.1. Вивчення впливу низькоенергетичного випромінювання на нуклеотидні основи в конденсованій фазі

У даній частині роботи описані оптичні дослідження коливних спектрів нуклеотидних основ у конденсованому стані [308–310]. Розроблена методика формування плівок молекул азотистих основ нуклеїнових кислот, яка базується на методі вакуумної сублімації. По закінченні процесу напилення плівки вилучались з-під вакуумного ковпака і піддавались дії УФ опромінення. Джерелом ультрафіолету був азотний лазер ЛГИ-21: довжина хвилі $\lambda = 337$ нм, середня потужність випромінювання 3 мВт при частоті 100 Гц, інтенсивність $1,2 \cdot 10^2$ Вт/м². Інфрачервоні (ІЧ) спектри молекул були отримані за допомогою спектрофотометра ИКС-31 у діапазоні 3600 – 1100 см⁻¹.

У спектрах всіх досліджуваних зразків у діапазоні частот 3600 – 1100 см⁻¹ виявлено смуги, характерні для різних типів коливань (рис. 5.1 – 5.5). А саме: а)

валентні коливання зв'язків типу СН, ОН, NH, NH₂ (діапазон 3600-2000 см⁻¹); б) коливання, зумовлені змінами довжин зв'язків, утворених атомами С, О, N (діапазон 3600 – 2000 см⁻¹); в) скелетні коливання, ($\nu < 1300$ см⁻¹); г) деформаційні коливання кутів типу ССН, СNH, СОН (1600 –1100 см⁻¹). Однак, слід мати на увазі, що даний поділ є досить умовним, оскільки в багатоатомній молекулі кожне коливання, в певній мірі, є суперпозицією змін різних зв'язків і кутів [194].

Цитозин. ІЧ спектр плівки цитозину представлений на рис. 5.1. Помітно, що спектр має ряд ознак, вказуючих на наявність впорядкованої структури із системою просторових міжмолекулярних зв'язків різної природи, вірогідно і водневих теж. Про це свідчить, до прикладу, смуга з частотою $\nu \sim 3180$ см⁻¹, яка відповідає симетричним коливанням NH₂-групи. При відсутності зв'язків, згідно даних роботи [113], ця спектральна смуга знаходиться поблизу 3460 см⁻¹.



Рис. 5.1. Інфрачервоний спектр поглинання плівки цитозину: 1– контроль; 2 – підданий впливу когерентного ультрафіолетового випромінювання ($\lambda = 337$ нм, $t = 20$ хв.)

Вищезгадана інтерпретація підтверджується і положенням смуги з $\nu \sim 1670$ cm^{-1} , що відповідає деформаційним коливанням NH_2 та $\text{C}=\text{O}$ груп. За умов газового стану дана спектральна смуга має положення ~ 1640 cm^{-1} [110]. Процес поглинання при $\nu \sim 3380$ cm^{-1} вказує на наявність молекул води в плівках. Іншими словами, процес утворення міжмолекулярних зв'язків різного походження в плівках цитозину супроводжується червоним зсувом частот валентних коливань груп, що беруть участь у міжмолекулярних зв'язках і синім зсувом частот деформаційних коливань цих самих груп. Водночас можуть співіснувати декілька енергетично дозволених варіантів асоціатів. Спектральна смуга з $\nu \sim 2340$ cm^{-1} відповідає поглинанню молекул води. Вірогідно, що поверхневий шар плівки абсорбує молекули води з повітря, внаслідок чого в місцях локалізації молекул води в плівці утворюються зародки кристалічної фази. В діапазоні частот $1670 - 1500$ cm^{-1} знаходяться смуги, які ототожнюються з коливаннями $\text{C}=\text{O}$ -, $\text{C}=\text{C}$ - та $\text{C}=\text{N}$ - зв'язків. Через те, що частина характерних смуг в інтервалі $1700 - 1100$ cm^{-1} перекривається, то повністю ідентифікувати вдається за можливе лише обмежену їх кількість. Тим не менш, експериментальні дані свідчать, що плівки молекул цитозину, які були одержані внаслідок процесу сублімації у вакуумі за кімнатної температури, мають аморфну структуру із просторовою сіткою міжмолекулярних зв'язків, зокрема і водневих, що добре узгоджується з даними роботи [216]. Відносний вміст впорядкованої кристалогідратної та з низьким ступенем впорядкованості аморфної фаз у плівці однозначно визначається кількістю поглинених молекул води.

Як можна побачити з рис. 5.1, ультрафіолетове світло з довжиною хвилі $\lambda = 337$ нм спричинює певні зміни в інфрачервоному спектрі плівки цитозину. Зокрема, спостерігається розмиття смуг, які відповідають за внутрішньокільцеві коливання $\text{C}=\text{C}$ - та $\text{C}=\text{N}$ - зв'язків. Слід відмітити також зменшення пропускання плівок у широкому спектральному діапазоні. Місцерозташування та інтенсивність спектральної смуги валентних коливань NH_2 -груп практично не змінилися. Подібну поведінку демонструє і смуга валентних коливань води ($\nu \sim$

3380 cm^{-1}). Очевидно, що індуковане ультрафіолетом утворення нових зв'язків за участі згаданих груп є малоімовірним. Проте, згідно наших даних, є можливим процес утворення додаткових зв'язків з участю $\text{C}=\text{O}$ групи. Відомо, що УФ-світло, перебуваючи у взаємодії з молекулами нуклеотидних основ нуклеїнових кислот, збуджує їх π -електронну систему. Водночас, в піримідинах збудження локалізується на C5-C6 зв'язка, в основному, різко підвищуючи їх реакційну здатність [110]. За таких обставин має місце процес утворення нових C-C -зв'язків між сусідніми молекулами, що може в результаті призвести до можливого формування циклобутанових та нециклобутанових димерів. Циклобутанові димери стабілізуються C-C -зв'язками, а нециклобутанові – C-N -зв'язками відповідно. Спричинене ультрафіолетом утворення різних стереохімічних варіантів ковалентнозв'язаних димерів та асоціатів змінюватиме чутливість молекулярної структури даної плівки до впливу й інших фізико-хімічних чинників. Проте, в даній роботі, ми не спостерігали ознак, вказуючих на формування ковалентнозв'язаних цитозинових димерів.

Гуанін. Звернемося до аналізу структури плівок гуаніну, інфрачервоні спектри спектри яких зображені на рис. 5.2. Так, як і у випадку цитозину, має місце певна впорядкованість плівки за рахунок просторової системи міжмолекулярних зв'язків. Хоча константа асоціації в гуаніну менша, ніж у цитозину [121], але у даної молекули існує більше варіантів енергетично дозволених водневозв'язаних структур. Дійсно, на інфрачервоному спектрі смуги валентних коливань NH_2 - та NH -груп ($\nu \sim 3330 \text{ cm}^{-1}$ та 3100 cm^{-1}) мають положення, що відповідають наявності міжмолекулярних взаємодій.

Як і у випадку цитозину, вищезазначений висновок був зроблений при порівнянні з дослідженнями цих молекул у газовій фазі [121]. Смуга з $\nu \sim 1670 \text{ cm}^{-1}$ є результатом накладання смуг, що відповідають валентним коливанням $\text{C}=\text{O}$ -групи та деформаційним коливанням NH_2 -групи, задіяної у міжмолекулярних взаємодіях. Таким чином, структура отриманої плівки також

формується просторовою системою міжмолекулярних зв'язків різного походження, в тому числі і водневих.

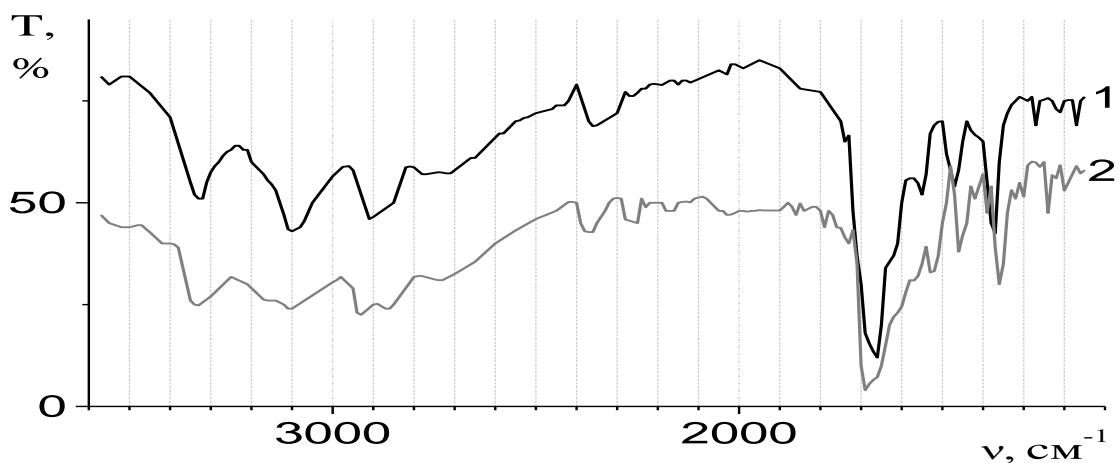


Рис. 5. 2. Інфрачервоний спектр поглинання плівки гуаніну: 1- контроль; 2 – підданий впливу когерентного ультрафіолетового випромінювання ($\lambda = 337$ нм, $t = 20$ хв.)

Звернувши увагу на рис. 5.2 бачимо, що ультрафіолетове випромінювання спричинює суттєве зменшення оптичної густини зразка в усьому досліджуваному інтервалі. До того ж спостерігаються певні зміни в інтенсивностях та частотному положенні зовнішньо- та внутрішньокільцевих коливань зв'язків. Справді, ультрафіолетове світло викликало "синій" зсув спектральної смуги, яка відповідає за валентні коливання C=O- та деформаційні коливання NH₂-груп ($\nu \sim 1670$ см⁻¹, $\Delta\nu \sim 30$ см⁻¹), що може вказувати на додаткову гідратацію за участі цих груп. Суттєво зменшилась інтенсивність смуги валентних NH-коливань ($\nu \sim 3100$ см⁻¹). Отже, УФ викликає перерозподіл коливної енергії на зв'язках даного типу. Вірогідно має місце посилення непланарності пуринового кільця, поява нових міжшарових (вертикальних) зв'язків. Також є можливим зсув протону вздовж водневих зв'язків водневозв'язаних гуанінових асоціатів. Поява нової спектральної смуги при $\nu \sim$

2250 cm^{-1} в опромінених зразках гуаніну, вірогідно свідчить про часткову деградацію молекули основи.

Комплекс цитозин-гуанін. Під час процесу наплення плівок в комірку Кнудсена поміщалася еквімолярна суміш цитозину і гуаніну. Але цитозин легка молекула і, відповідно, більш летюча, ніж гуанін. Таким чином, цілком є вірогідним факт, що плівка була отримана градієнтн: нижній шар (ближчий до підкладки) містить більше молекул цитозину, а верхній – більше молекул гуаніну, відповідно.

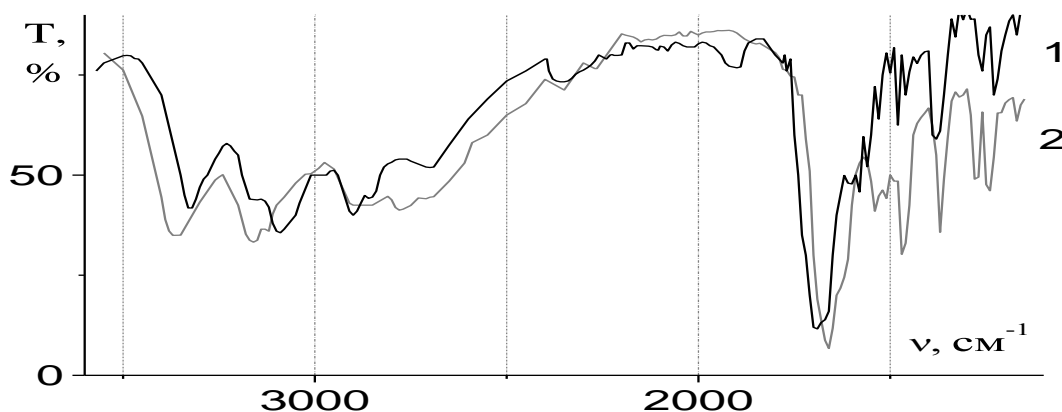


Рис. 5.3. Інфрачервоний спектр поглинання плівки комплексу цитозин-гуанін: 1- контроль; 2 – усереднений інфрачервоний спектр цитозину і гуаніну.

Як у випадку окремо взятих молекул цитозину і гуаніну, так і для їх комплексу характерною є висока ступінь впорядкованості структури плівок за рахунок просторової системи міжмолекулярних зв'язків. Але, щоправда, в спектрах комплексу спостерігаються певні особливості (рис. 5.3). До прикладу, «синій» зсув ($\Delta\nu \sim 50 \text{ cm}^{-1}$) деформаційних коливань NH-групи відносно усередненого спектру окремо взятих молекул цитозину і гуаніну свідчить, що міжмолекулярні зв'язки у плівці комплексу є сильнішими. Також присутній «червоний» зсув валентних коливань NH-групи в спектрі комплексу відносно усередненого спектру. Отже, вищезазначені особливості можуть бути

індикатором посилення міжмолекулярних взаємодій у парі комплементарних нуклеотидних основ навіть в умовах градієнтної плівки. Зіставлення спектрів, зображених на рисунках 5.3 і 5.4, дає змогу оцінити ефективність дії ультрафіолетового випромінювання на плівки комплексу гуанін-цитозин. Одержані результати вказують на те, що комплекс нуклеотидних основ є менш чутливим до впливу ультрафіолету в порівнянні з окремо взятими молекулами.

Узагальнюючи вищенаведене, можна сказати, що плівки цитозину, гуаніну та їх комплексу є аморфними, частково впорядкованими структурами, охопленими просторовою сіткою взаємозалежних міжмолекулярних зв'язків, в тому числі і водневих типу NH...N і NH...O. Водночас, поруч з традиційним стекінгом [217], існують специфічні кулонівські взаємодії вільної електронної пари аміних атомів азоту з атомами водню в молекулах сусідніх (верхніх і нижніх) шарів, які можна розцінювати як шарові (вертикальні) зв'язки, вірогідно водневі. Загальновідомо [77], що внаслідок такого процесу в асоціатах основ нуклеотидних кислот утворюються низькоенергетичні стани. Саме це призводить до безпосереднього поглинання молекулами ультрафіолетового випромінювання з $\lambda = 337$ нм, тобто забезпечує можливість прямої дії УФ з даною довжиною хвилі на нуклеїнові кислоти. Світло, що поглинуте водневозв'язаними молекулами азотистих основ, не спричинює руйнування водневих зв'язків в плівці або утворення нових, але здійснює перерозподіл енергій міжмолекулярних взаємодій і виступає як збурюючий фактор. На нашу думку, отаким є вірогідний механізм УФ індукованої модифікації досліджуваних плівок.

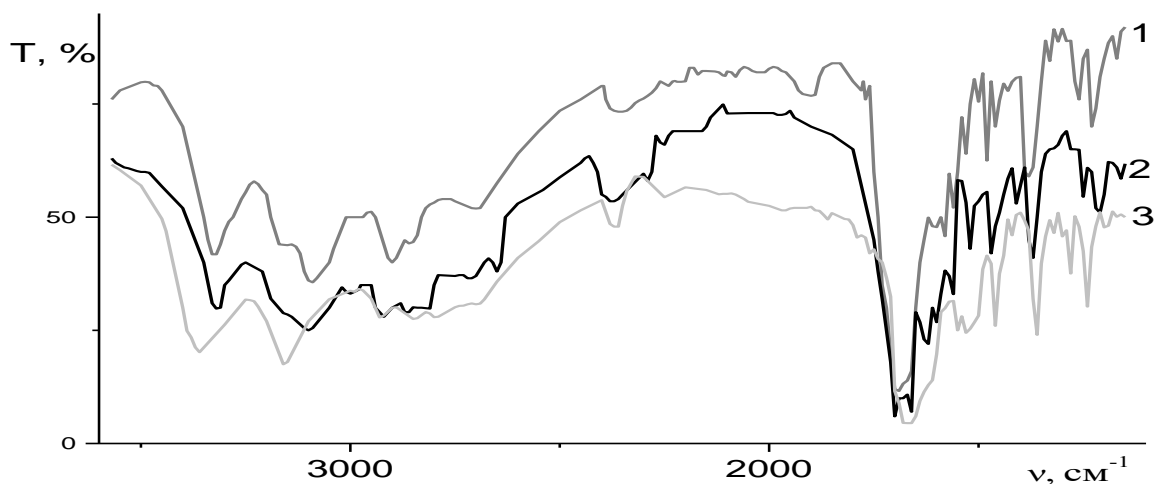


Рис. 5.4. Інфрачервоний спектр поглинання плівки комплексу цитозин-гуанін: 1- контроль; 2 – підданий впливу когерентного ультрафіолетового випромінювання ($\lambda = 337$ нм, $t = 20$ хв.) та усереднений спектр опромінених цитозину і гуаніну (3).

За нашими експериментальними даними, УФ світло збуджує коливну структуру молекул азотистих основ. Імовірно, при цьому змінюється характер міжмолекулярних взаємодій, спосіб пакування молекул в асоціатах, наприклад, зростає кількість молекул в асоціаті. Тому, доцільно дослідити тенденції змін параметрів електронної структури інфрачервоних та електронних спектрів молекул азотистих основ при зростанні кількості молекул в асоціаті. Очікується, що при зростанні кількості молекул в асоціатах, ІЧ спектри цих молекул зазнають змін, які допоможуть пояснити, чи пов'язаний вплив ультрафіолетового світла на плівки азотистих основ саме з такою зміною міжмолекулярних зв'язків.

5.2. Дослідження асоціатоутворення в молекулярних компонентах нуклеїнових кислот

Для уточнення механізмів міжмолекулярних взаємодій у плівках азотистих основ квантово-хімічним методом були досліджені різнотипні асоціати молекул цитозину [309]. Вивчення параметрів електронної структури асоціатів цитозину виконувалось з метою аналізу впливу асоціатоутворення на оптичні властивості даної сполуки, а саме на коливні та електронні спектри. Асоціатоутворення може бути адекватною моделлю слабких міжмолекулярних взаємодій у плівках даних сполук [309]. Розраховані ІЧ спектри поглинання служать для порівняння і ідентифікації ступеня асоціатоутворення в експериментально одержаних інфрачервоних спектрах плівок (див. 5.1).

Об'єктами проведеного дослідження були: молекула цитозину (Ц1) в аміноформі та цитозинові сендвічоподібні асоціати (димер (Ц2) і тетрамер (Ц4)), які складаються з двох та чотирьох молекул цитозину, відповідно. Тетрамер був сконструйований як сендвічоподібна суперпозиція двох послідовно взятих димерів (рис. 5.5).

На першій стадії, з метою пошуку кон'югованого градієнта, методом Флетчера-Рівса, за точності розрахунку 0,01 ккал/моль, була оптимізована геометрія цитозину та його асоціатів Ц2 і Ц4. Іншими словами, були проведені розрахунки довжин зв'язків та значення просторових і двогранних кутів, які відповідають мінімуму загальної енергії. На даному етапі був збережений сендвічоподібний спосіб пакування молекул в Ц4, а безпосередній процедурі оптимізації геометрії були піддані лише атоми водню бокової NH₂-групи цитозину. Отже, створюється можливість прослідкувати тенденції взаємовпливу молекул цитозину в асоціаті в залежності від їх кількості.

Водночас враховується і вплив водного оточення, який моделюється збереженням сендвічоподібного пакування в Ц4 та Ц2.

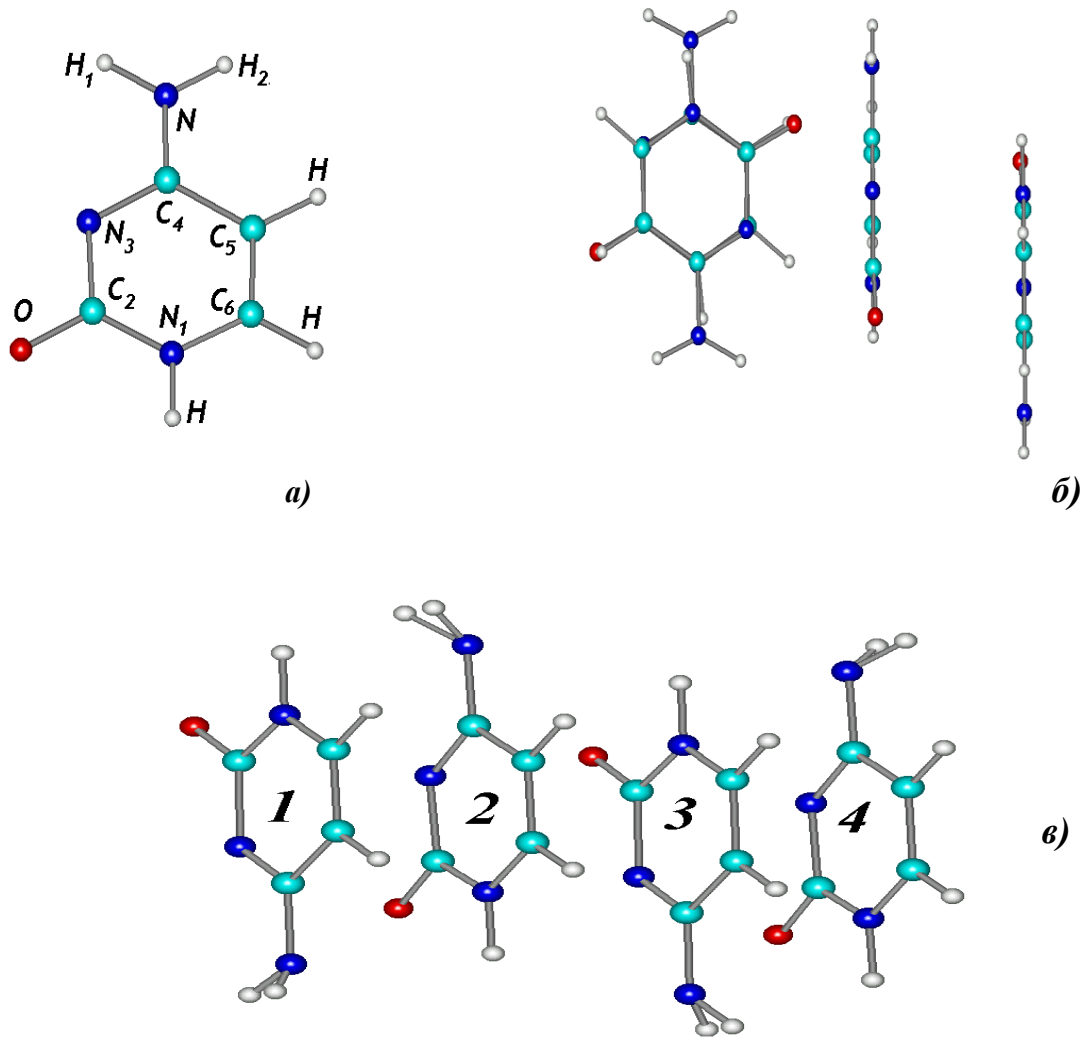


Рис. 5.5. Просторова будова асоціатів цитозину, отриманих внаслідок оптимізації геометрії аміноатомів азоту бокової NH₂-групи методом AM1: а) мономер цитозину Ц1; б) димер цитозину Ц2; в) тетрамер цитозину Ц4.

Просторова будова асоціатів Ц1, Ц2 та Ц4, що одержані в результаті виконання оптимізації геометрії за вищеописаним принципом, зображена на рис. 5.5. Параметри рівноважної структури цитозину та його асоціатів Ц2 і Ц4, а саме: оптимізовані довжини зв'язків (r), валентні (α) та двогранні (γ) кути – приведені у відповідних таблицях 5.1, 5.2 та 5.3. В таблиці 5.3 чотири значення γ^T відповідають кожній з чотирьох молекул в тетрамері (у відповідності до рис. 5.5в), те саме стосується і димеру.

Як можемо побачити з рис. 5.5, Ц1 є планарною молекулою, а Ц2 і Ц4 – сендвічоподібними асоціатами, причому для Ц4 спостерігається суттєве відхилення воднів аміногруп від плоскої структури. Слід зауважити, що параметри просторової структури окремо взятої молекули цитозину в Ц1 та Ц2 демонструють схожість, близьку до ідентичності. Також, має місце співпадіння довжин зв'язків та величин кутів для першої та другої молекул цитозину в Ц2. Проте, це твердження не стосується NH_2 -групи (див. табл. 5.4, кути C4-N-N1 та C4-N-N2), яка демонструє особливу чутливість до наявності «сусіда», що проявляється через відхилення від планарності цієї групи і забезпечується так званою стереохімічною нежорсткістю молекул нуклеотидних основ нуклеїнових кислот [215-217]. За цих обставин, посилення пірамідальності аміногрупи не перевищує 2%. Для Ц4 ця величина лежить в межах 3 – 19 %.

Цікаво, що значення як валентних, так і просторових кутів, для кожної з чотирьох молекул у даному асоціаті відрізняються (з огляду на це, молекули тетрамеру Ц4 на рис. 5.5 в) є пронумерованими). Таким чином, пірамідальність аміногрупи суттєво посилюється із збільшенням кількості молекул в асоціаті.

Таблиця 5.1.

Довжини зв'язків в асоціатах Ц4, Ц2 та Ц1 (r^T , r^D , r , відповідно).

Зв'язок	r^T , Å	r^D , Å	R , Å
N1-C2	1,324	1,437	1,440
C2-N3	1,401	1,401	1,400
N3-C4	1,317	1,347	1,348
C4-C5	1,456	1,463	1,466
C5-C6	1,340	1,372	1,372
C6-N1	1,323	1,366	1,365
N1-H	1,010	0,994	0,994
C2-O	1,220	1,248	1,247
C4-N	1,320	1,379	1,374
C5-H	1,080	1,095	1,094
C6-H	1,080	1,107	1,107
N-H1	0,709; 0,897; 0,673; 0,674	0,991	0,990
N-H2	0,605; 0,764; 0,763; 0,817	0,989	0,987

Таблиця 5.2.

Валентні кути в в асоціатах Ц4, Ц2 та Ц1 (α^T , α^D , α).

Кут	α^T , град	α^D , град	α , град
H-N1-C2	119,2	118,6	118,6
N1-C2-O	119,5	116,2	115,9
O-C2-N3	119,5	123,6	123,9
N1-C2-N3	120,9	120,2	120,2
C2-N3-C4	119,3	118,4	118,5
N3-C4-N	120,8	119,5	119,5
C4-N-H1	131,1; 129,7; 144,6; 130,8	119,7; 119,9	121,0
C4-N-H2	139,9; 138,2; 135,6; 122,4	117,6; 117,7	119,2
N-C4-C5	120,8	118,1	118,9
C4-C5-H	120,4	121,1	121,0
H-C5-C6	120,4	121,0	121,2
C5-C6-N1	120,6	121,2	121,3
C5-C6-H	119,7	121,6	121,5
H-C6-N1	119,7	121,1	117,2
C6-N1-C2	121,5	120,0	120,0
C6-N1-H	119,2	121,4	121,5

Таблиця 5.3.

Двогранні кути в асоціатах Ц4, Ц2 та Ц1 (γ^T , γ^D , γ).

Двогранний кут	γ^T , град	γ^D , град	γ , град
H-N1-C2-O	0	1,0; 0,9	0
O-C2-N3-C4	180	-179,1; 179,0	180,0
C2-N3-C4-N	180	176,6; 176,9	180,0
N3-C4-N-H1	-32,8; 45,5; 54,2; -67,7	11,2; -10,6	0
H2-N-C4-C5	54,3; -67,7; -32,7; 45,5	-15,3; 14,6	0
N-C4-C5-C6	180	-176,6; 176,9	180,0
N-C4-C5-H	0	1,7; -1,5	0
C4-C5-C6-N1	0	-1,1; 0,9	180,0
H-C5-C6-H	0	0,4 ; -0,6	0
H-C6-N1-H	0	-0,7; 0,8	0

Таблиця 5.4.

Розрахунки методом AM1 частот ν та інтенсивностей I (в дужках) нормальних коливань тетраметру (Ц4), димеру (Ц2), мономеру цитозину (Ц1).

Зв'язки	Частоти ν (см ⁻¹) та інтенсивності I (в.о.)		
	Ц4	Ц2	Ц1
N1-H str	1, 2: 3352 (24)	3472 (174)	3340 (21)
C5-H str	1, 2: 3356 (27)	3225 (42)	
C6-H str	3, 4: 3333 (48) 3, 4: 3350 (103) 3, 4: 3360 (48)	3130 (43)	

Таблиця 5.5.

Характеристики електронних переходів тетраметру (Ц4), димеру (Ц2), мономеру цитозину (Ц1).

Ц4		Ц2		Ц1	
λ_{max}	f	λ_{max}	f	λ_{max}	f
463,9	0,01	285,9	0,25	258,9	0,22
358,9	0,01	224,0	0,44	218,6	0,31
280,4	0,02	200,0	0,24	212,4	0,11
322,5	0,06	196,4	0,13	184,9	0,51
264,4	0,14	193,0	0,51		
248,3	0,09	178,8	0,19		
-	-	172,5	0,22		

У таблиці 5.5. λ_{\max} є довжинами хвиль, що відповідають максимумам смуг поглинання (нм); f – відповідні сили осциляторів (в. о.). Слід відмітити, що значення як валентних, так і просторових кутів для кожної з чотирьох молекул в даному асоціаті відрізняються (з цією метою молекули тетрамеру Ц4 на рис. 5.5 в пронумеровано). Таким чином, пірамідальність аміногрупи суттєво посилюється із збільшенням кількості молекул в асоціаті.

Як відомо [217], для мономеру цитозину у вакуумі енергетично найвигіднішою є плоска просторова конфігурація. Але, вже у випадку димеру, спостерігається відхилення від планарності – двогранні кути N3-C4-N-N1 та N2-N-C4-C5 (табл. 5.3) досягають значення десятків градусів, що є надзвичайно суттєвим. Процес утворення тетрамеру тільки посилює згаданий ефект. Базуючись на аналізі параметрів просторової структури Ц1, Ц2 та Ц4 можна припустити, що має місце наступна тенденція: із збільшенням кількості молекул цитозину в асоціаті зростає пірамідальність аміногрупи, причому вона суттєво відрізняється для різних молекул в межах асоціату. Проте при виконанні таких розрахунків слід мати на увазі, що метод AM1 до певної міри лише якісно моделює стекінг, оскільки не враховує кореляції електронів. Напевно, саме обмеженнями вищезазначеного методу зумовлені невеликі довжини зв'язків у аміногрупі Ц4. Оскільки, як показали дослідження стекінгових взаємодій в азотистих основах [215,216], між деформованими кільцями, крім дисперсійних, вірогідно виникнення і водневих зв'язків за участі вільної електронної пари амінного атома азоту. З метою уточнення вищенаведених даних, доцільно провести повторні розрахунки з використанням квантово-хімічних методів вищого рівня.

Також, за допомогою квантово-хімічного методу AM1, були визначені параметри коливальних та електронних спектрів різнотипних асоціатів молекул цитозину. Одержані результати для Ц1, Ц2, Ц4 наведені в таблицях 5.4 і 5.5. До прикладу, в таблиці 5.4 зібрано інформацію про частоти та інтенсивності

інфрачервоних спектрів цитозину. До того ж в таблицю були поміщені дані не для всіх розрахованих смуг, а лише для таких смуг, які однозначно співвідносяться між собою в Ц1, Ц2 та Ц4. Слід відмітити, що в Ц2 при даній геометрії спостерігається збіг положень коливань обох молекул. Проте, у тетрамері Ц4 кожній з молекул цитозину відповідає окреме положення на спектрі для одного й того ж коливання, тобто в даному типі асоціату відбувається спектральне розщеплення: цифри 1, 2, 3 та 4 в таблиці відповідають 1-й, 2-й, 3-й та 4-й молекулі цитозину в асоціаті (рис. 5.5в).

Звернімся до аналізу коливних спектрів Ц1, Ц2 та Ц4 (табл. 5.6), з ціллю прослідкувати тенденції в спектральних змінах при збільшенні кількості молекул в асоціаті на фоні впливу гідратного оточення. При конструюванні просторових моделей Ц2 і Ц4 враховані результати *ab initio* розрахунків роботи [228]. Безсумнівним є факт, що якщо при комплексоутворенні змінюються довжини зв'язків, то і смуги, що відповідають коливанням цих зв'язків, зазнають відповідних зсувів.

В асоціаті Ц2 смуга валентних коливань N_1H -групи також є зміщеною в короткохвильову область на 132 см^{-1} відносно мономера. Слід зауважити, що на спектрі Ц2 (на відміну від Ц1) валентні коливання C_5H -, C_6H - та N_1H -груп представлені окремими смугами, а не однією, як в Ц1 (3472 , 3225 і 3130 см^{-1} , відповідно). Водночас відбувається зростання інтенсивності смуг цих коливань. В асоціаті Ц4 смуги валентних коливань C_5H -, C_6H - та N_1H -груп не розділяються на окремі моди, як це відбувається в моримері Ц1, але має місце спектральне розщеплення – одній окремій моді відповідають у Ц4 аж чотири смуги (3333 , 3350 , 3352 та 3356 см^{-1}). Таким чином, підходимо до узагальнення, що існуюча тенденція посилення пірамідальності аміногрупи у зв'язку із збільшенням кількості молекул в асоціаті, на коливних спектрах проявляється у вигляді змін положень та інтенсивностей нормальних коливань, причому величина змін залежить від кількості молекул в асоціаті (кластері).

Результати розрахунків активних смуг електронних спектрів, тобто для електронних переходів, які мають сили осциляторів більші 0,01 приведені у таблиці 5.5 Співставлення вищезгаданих даних з експериментальними [27, 71–75, 208] демонструє певну кореляцію. Наші викладки вказують на процес виникнення Ц2 нових смуг, який може відбуватися або за рахунок ініційованої асоціацією утворення нових рівнів, або ж за рахунок збільшення сил осциляторів рівнів, які до утворення асоціатів не проявляли активності (сили осциляторів були близькими до нуля). Безсумнівно, що як і у випадку Ц2, так і для Ц4, має місце поєднання обох цих механізмів. Для асоціата Ц4 інтенсивності смуг з діапазону 280 – 470 нм зростають як відносно Ц1, так і відносно Ц2, водночас спостерігається і зменшення поглинання в короткохвильовій (ВУФ) області. З огляду на вищенаведене, можна прийти до висновку, що збільшення кількості молекул в комплексі ініціює зростання інтенсивності поглинання в діапазоні 280 – 470 нм і одночасне зменшення поглинання у ВУФ області.

Всі перераховані вище зміни фізичних властивостей цитозину, що спостерігаються при комплексоутворенні, ми трактуємо як прояв міжмолекулярних взаємодій – Н-зв'язування, Ван-дер-Ваальсівських, поляризаційних, дисперсійних сил, стекінгу. Вищезгадані сили суттєво збурюють фізичну структуру молекул цитозину. Зокрема, із збільшенням кількості молекул цитозину в асоціаті спостерігається тенденція до посилення пірамідальності аміногруп молекул, причому вона суттєво відрізняється для різних молекул в межах асоціату. Дана тенденція проявляється на електронних коливних спектрах і ініціює зростання інтенсивності поглинання в діапазоні 280 – 470 нм і одночасне зменшення поглинання в діапазоні 180 – 280 нм. Зазначена виняткова чутливість до молекулярного оточення і забезпечує можливість реалізації високоспецифічних реакцій молекулярного впізнавання за винятково низьких енергетичних затрат і, навіть, за рахунок кооперативних ефектів.

Загальновідомо, що просторова будова біомолекул, до яких належить і цитозин, є винятково чутливою до найменших змін оточення. До прикладу,

вказана структура є особливо сприйнятливою до відносного таутомерного вмісту молекул в асоціаті, до найменших варіацій температури, до наявності слабких зовнішніх електромагнітних полів, до стану гідратного оточення тощо. Це вказує на те, що в умовах клітинного середовища реалізовується значна кількість варіантів просторової конфігурації асоціатів, причому кожен з ймовірних варіантів несе інформаційне навантаження, забезпечуючи ту чи іншу молекулярну взаємодію при мінімальних енергетичних затратах, зокрема і за рахунок кооперативних ефектів. Така просторова варіабельність, зі свого боку, забезпечується стереохімічною нежорсткістю молекул азотистих основ нуклеїнових кислот [181, 217].

Одержані дані вказують на те, що молекули цитозину в асоціатах виступають як взаємний збурюючий фактор, що призводить до змін їхньої фізичної структури. Наслідки оптимізації геометрії показують, що молекула цитозину не зберігає планарність при асоціатоутворенні. За умови збільшення кількості молекул в сендвічоподібному асоціаті спостерігається тенденція до посилення пірамідальності аміногруп. Процес самоасоціації молекул супроводжується також перерозподілом інтенсивностей спектральних смуг і в ультрафіолетовому, і у вакуумному УФ діапазонах.

Конформаційні ізькоенергетичні перебудови за участі асоціатоутворення можуть забезпечувати тонкоорганізовані високоспецифічні процеси білково-нуклеїнового впізнавання [205] та реалізацію таких кооперативних ефектів, як солітони в ДНК, перехід спіраль-клубок тощо. Допускається гіпотеза, що одним із механізмів появи мутацій є перерозподіл коливань між різними частинами макромолекули ДНК за рахунок кооперативних ефектів спряження.

5.3. Діелектрометричне вивчення впливу ультрафіолету на нуклеотидні основи у водних розчинах

Надійним та чутливим способом дослідження динаміки і структури біологічних об'єктів є діелектричні виміри, які виконуються у широкому частотному інтервалі. Вони дозволяють одержати дані про величини розмірів, ступінь гідратації молекул, впорядкованість їхньої внутрішньої структури, міжмолекулярні взаємодії, цілісність мембран, конформаційні перетворення, життєздатність клітин і біотканин [247, 248, 307, 311]. Прикладне використання електромагнітних полів у галузі медицині (до прикладу, для імпедансної томографії, магнітнорезонансної терапії, проблеми захисту від випромінювань [312–315]) теж вимагають розуміння перебігу взаємодії електромагнітних полів з живими організмами, аналізу електричних властивостей біооб'єктів і їх залежності від факторів навколишнього середовища.

У даному розділі приведені результати досліджень електричних параметрів нуклеотидних основ нуклеїнових кислот та їх можливих змін при дії як когерентного, так і некогерентного ультрафіолетового випромінювання [316–319].

Під час проведення експериментів були використані препарати нуклеотидних основ нуклеїнових кислот фірми-виробника «Reanal» (Угорщина). Для проведення досліджень проводилася підготовка розчинів біомолекул на базі бідистильованої води, 50 – 100 мкг/мл, рН: 6,9 – 7,1. З метою співставлення були також досліджені препарати основ, сублімованих у вакуумній камері за температур 370 – 400 К і значення тиску 1,1 мПа. Спектрофотометричним і діелектричним методами був здійснений контроль однорідності препаратів. Джерелами УФ випромінювання були азотний лазер типу ЛГИ-21 і спектральна воднева лампа ДВС-25. Характеристиками азотного лазера були: довжина хвилі $\lambda = 337$ нм, частота 100 Гц, середня і імпульсна потужність 3 мВт та 1,6 кВт,

тривалість імпульсу $7 \cdot 10^{-9}$ с. Діапазон роботи лампи ДВС-25 в ультрафіолетовій області становив 200 – 300 нм. Інтенсивність випромінювання азотного лазера складала $1,2 \cdot 10^2$ Вт/м², водневої лампи – $0,2 \cdot 10^2$ Вт/м². Протягом 10 – 30 хв опромінювали досліджувані розчини у кварцевих кюветах.

Установка, на якій були проведені діелектричні виміри, складалася з генератора синусоїдальних електричних коливань, моста змінного струму та нуль-індикатора. Діапазон частот становив 10^2 – 10^6 Гц. Розчини азотистих основ знаходилися у спеціально спроектованій і побудованій електродній камері з екрануванням. Остання містила пластини з оргскла, які плоско-паралельно рухалися одна по відношенню до іншої з одночасним фіксуванням віддалі. У нижній пластині присутнім було сферичне заглиблення для розташування досліджуваного об'єкта, до іншої пластини були підведені, виготовлені з платини, електроди діаметром 100 мкм. Відстань між електродами складала 3 мм. У зазначеному частотному діапазоні були визначені електричні характеристики для неопромінених (тобто контрольних) і опромінених розчинів азотистих основ. Паралельно такі ж параметри були виміряні для розчинника (води).

У дослідженнях вивчалися дисперсійні залежності базових електричних характеристик водних розчинів нуклеотидних основ нуклеїнових кислот, оцінювалися розміри релаксуючих надмолекулярних утворень, були проаналізовані зміни структури молекул під впливом як когерентного (лазер, $\lambda = 337$ нм), так і некогерентного (лампа, $\lambda = 260$ нм, $\lambda = 337$ нм) ультрафіолетового випромінювання.

Експериментальним шляхом були виміряні ємність C та електропровідність G досліджуваних розчинів. За відомими співвідношеннями (до прикладу, робота [321]) були визначені імпеданс Z , діелектрична проникність ϵ і тангенс кута $\text{tg } \delta$ діелектричних втрат об'єктів вичення.

Імпеданс (комплексний опір системи) був визначений наступним чином [4]:

$$Z = 1/G + iX, \quad (5.1)$$

де X – реактивний опір: $X = 1/\omega C$, $i = \sqrt{-1}$

У загальному діелектрична проникність являється комплексною величиною та визначається наступним виразом [322]:

$$\varepsilon = \varepsilon' + i\varepsilon'' = \varepsilon_\infty + (\varepsilon_\delta - \varepsilon_\infty)/(1 + i\omega\tau), \quad (5.2)$$

де ε' – є дійсною частиною діелектричної проникності; ε'' — є коефіцієнтом діелектричних втрат; величини ε' і ε'' залежать від частоти ω . В постійному полі значення $\omega = 0$, відповідно $\varepsilon'' = 0$, а значення величини ε' рівне статичній діелектричній проникності ε_δ . Значення тангенса кута діелектричних втрат визначається наступним чином: $\text{tg } \delta = \varepsilon''/\varepsilon'$.

На рис. 5.6 і 5.7 зображена дисперсія тангенса кута діелектричних втрат у випадку розчину цитозину (а) та у випадку гуаніну (б). Із графічних залежностей добре видно, в інтервалі 10^2 - 10^6 Гц є присутніми певні частоти, за яких спостерігається максимальне поглинання молекулами енергії електромагнітного поля. Для контрольних зразків молекул цитозину і гуаніну цією частотою є ~ 5 кГц. Водночас, при УФ опроміненні, положення максимуму тангенса діелектричних втрат для цитозину змінюється. Аналогічна залежність спостерігалась також для 3-метилурацилу. В загальному обсязі, зазначений ефект більше виражений в піримідинових основах, ніж в пуринових. У всіх досліджуваних зразків нелінійно зменшуються діелектрична проникність, ємність та імпеданс з ростом частоти змінного струму. На рис. 5.8. зображений приклад частотної залежності величини ємності C розчину 3-метилурацилу. З графіка видно, що плавний перехід між різними типами дисперсії (від α -дисперсії до β -дисперсії) спостерігається в діапазоні частот 10^3 – 10^4 Гц. Зменшення ефекту поверхневої поляризації та поява об'ємної поляризації з дещо меншим часом релаксації в загальному випадку, спричинили вищенаведений перехід [321].

Побудувавши, згідно даних експерименту, функціональні залежності уявної складової комплексної діелектричної проникності від значень дійсної $\epsilon'' = f(\epsilon')$ (діаграми Коул-Коула) можна одержати додаткову відомості про області дисперсії. На рисунках 5.9 і 5.10. приведені відповідні графіки для цитозину і гуаніну. Відхилення форми діаграм Коул-Коула від ідеального кола з центральним положенням на осі абсцис (ефект «скошеної дуги») вказують на присутність декількох простих областей дисперсії, що характеризуються різними релаксаційними параметрами. Водночас кожній простій області дисперсії у відповідність ставиться певна нормальна реакція, яка є активною в діелектричному спектрі, а саме сприяє дипольній поляризації системи за умови накладання зовнішнього поля. Діаграми Коул-Коула у приведеному випадку наближено описуються за допомогою емпіричного рівняння Девідсона-Коула [322]:

$$\frac{\epsilon_s - \epsilon_\infty}{\epsilon_s - \epsilon_\infty} = \frac{1}{(1 + i\omega\tau)^b}, \quad (5.3)$$

де $\epsilon_s - \epsilon_\infty = R$ – релаксаційна сила, τ - час релаксації, b - емпіричний параметр, що не залежить від частоти. Величина R визначається будовою рідини та характеризує вплив процесу релаксації на діелектричну проникність рідини. Приведені на рисунках асиметричні діаграми комплексної діелектричної проникності, зокрема, вказують на те, що у зазначеному частотному інтервалі реалізуються одночасно області дисперсії, з часами релаксації близькими за порядком величин, але, водночас, з різними релаксаційними силами.

Таблиця 5.6.

Відносні розміри релаксуючих кластерів нуклеотидних основ нуклеїнових

кислот

Нуклеотидна основа	Ультрафіолетове опромінення		Контроль
	$\lambda = 260$ нм	$\lambda = 337$ нм	
Гуанін	$0,90 \pm 0,04$	$1,98 \pm 0,04$	$1,00 \pm 0,03$
Метилурацил	$0,75 \pm 0,03$	$1,33 \pm 0,05$	$1,00 \pm 0,03$
Цитозин	$0,63 \pm 0,02$	$1,71 \pm 0,07$	$1,00 \pm 0,02$

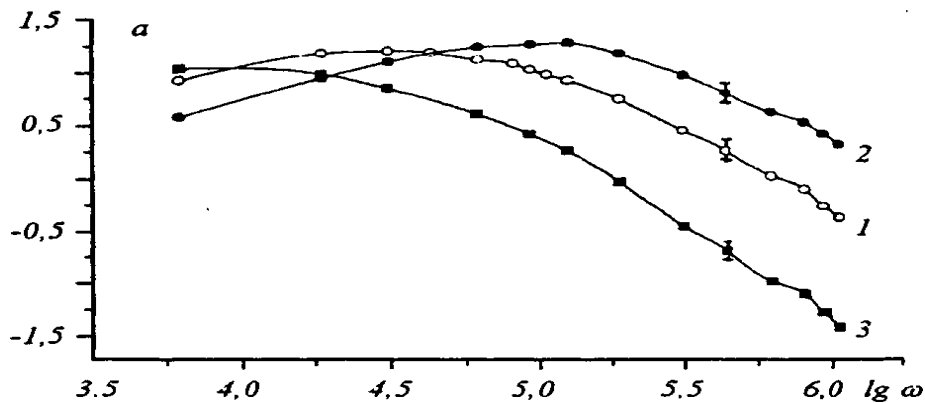


Рис. 5.6. Дисперсія тангенса кута величин діелектричних втрат цитозину: 1 - контроль; 2 - УФ-опромінення, $\lambda = 260$ нм; 3 - УФ-опромінення, $\lambda = 337$ нм.

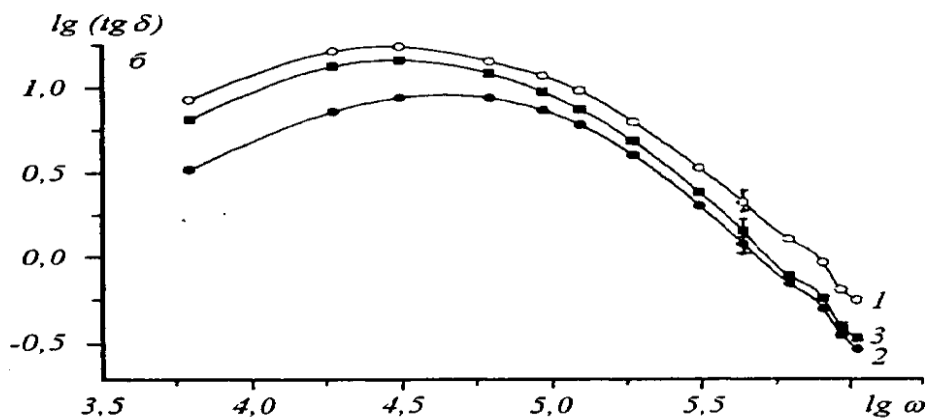


Рис. 5.7. Дисперсія тангенса кута величини діелектричних втрат гуаніну: 1 - контроль; 2 - УФ-опромінення, $\lambda = 260$ нм; 3 - УФ-опромінення, $\lambda = 337$ нм.

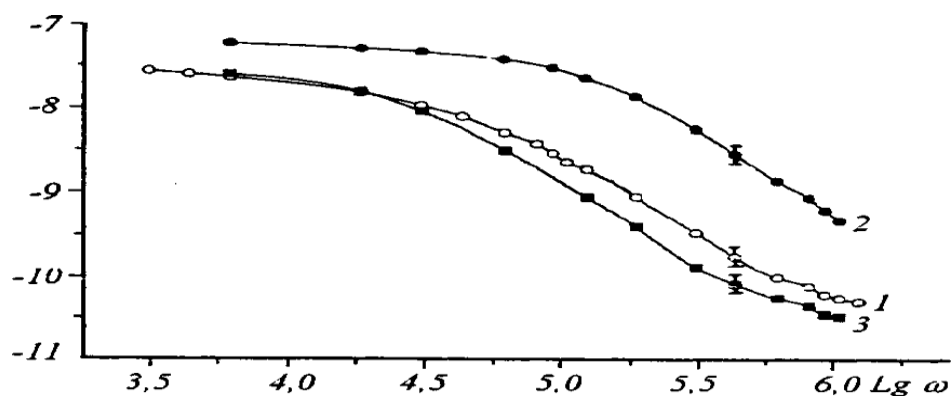


Рис. 5.8. Частотна залежність ємності метилурацилу: 1 - контроль; 2 - УФ-опромінення, $\lambda = 260$ нм; 3 - УФ-опромінення, $\lambda = 337$ нм.

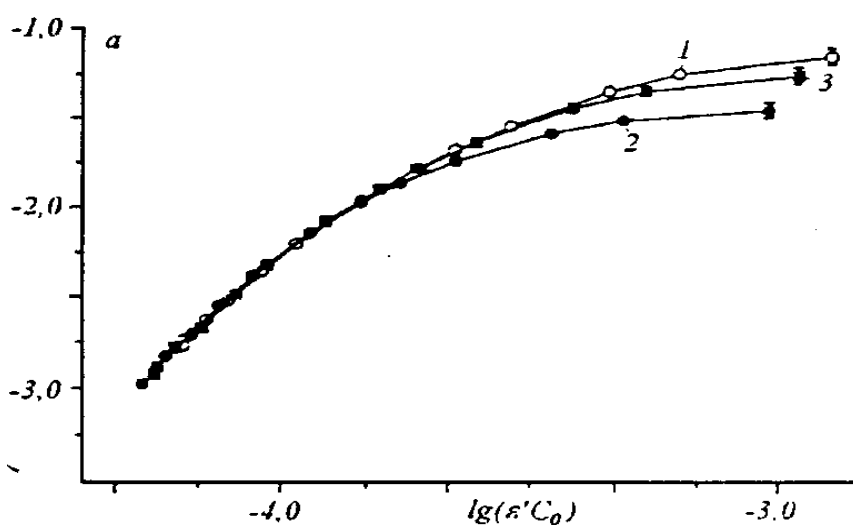


Рис. 5.9. Діаграми Коул-Коула для цитозину: 1 - контроль; 2 - УФ-опромінення, $\lambda = 260$ нм; 3 - УФ-опромінення, $\lambda = 337$ нм.

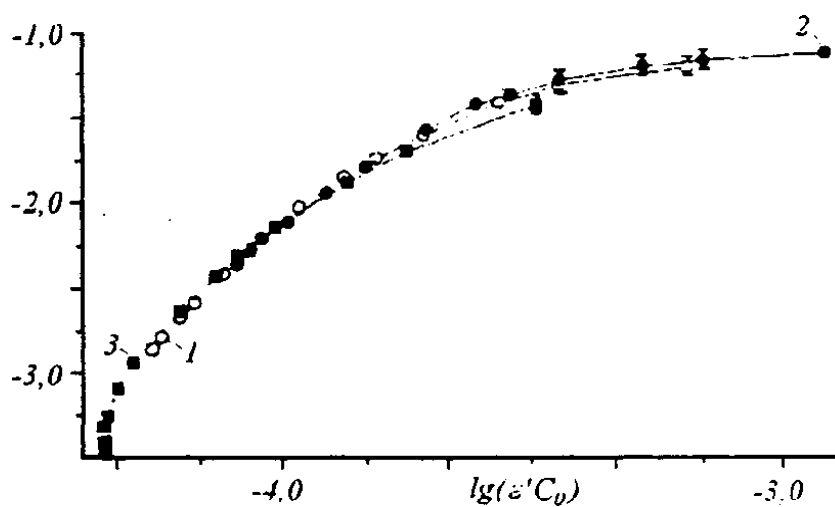


Рис. 5.10. Діаграми Коул-Коула для гуаніну: 1 - контроль; 2 - УФ-опромінення, $\lambda = 260$ нм; 3 - УФ-опромінення, $\lambda = 337$ нм.

Згідно загальної теорії релаксаційних явищ [322, 323] для поляризації системи сприятливі (діелектрично проявлювані) лише такі процеси, за яких відбуваються зміни моментів електричних диполів відповідного середовища. У розчинах до переліку вищевказаних процесів входять: реакції перерозподілу асоціатів, реакції асоціації та комплексоутворення за участі полярних молекул, формування димерів, тримерів, інших вищих структур та деякі конформаційні перетворення молекул. Важливим є те, що всі вищеперераховані процеси, які служать причиною діелектричної релаксації, можуть відбуватися і за участі азотистих основ. Так, у роботах [324, 325] описані процеси утворення асоціатів і комплексів, які були стабілізовані слабкими взаємодіями – гідрофобними, водневими, ван-дер-ваальсовими у водних розчинах нуклеотидних основ. Також відомо, що при кристалізації основи утворюють плоско-паралельні шари за допомогою водневих зв'язків [326]. Особливий інтерес викликає нещодавно виявлена [327–329] динамічна стереоізомерія біомолекул, спричинена нежорсткістю і непланарністю структурної будови канонічних азотистих основ, які містять аміногрупу у своєму складі. Зазначена нежорсткість молекул може виражатися у вигляді ангармонійних коливань (підтверджено експериментально [330]) та супроводжується значною дипольною нестійкістю. Безсумнівним є факт, що кожен із приведених вище процесів буде переважаючим у певному частотному діапазоні, проте може мати місце взаємовплив і перекривання діапазонів, суперпозиція релаксаційних сил, своєрідний спектр часів релаксації. До прикладу, форма і розміри кластерів, що релаксують в області $10^3 - 10^6$ Гц, складовими яких є мономерні молекули нуклеотидних основ і молекули води, безсумнівно, визначатимуться також структурною нежорсткістю основ, їх біологічною агрегаційною мінливістю. Процес формування асоціатів молекул, як приведено в роботі [327], повинен супроводжуватись їх деформацією, взаємодією міжмолекулярних і внутрішніх коливань і, як результат, релаксацією коливної енергії до зовнішніх ступеней свободи.

Розміри надмолекулярних утворень, що релаксують у вищезгаданому

діапазоні можна оцінити за положенням максимумальних значень релаксаційних втрат по відношенню до шкали частот. Провівши розрахунки, які ґрунтуються на емпіричних співвідношеннях [321] та врахувавши дифузну орієнтаційно-обертальну взаємодію молекул можна стверджувати, що за температури 293 К розміри релаксаторів у досліджуваних взірцях нуклеотидних основ знаходяться в діапазоні від $2,2 \cdot 10^{-8}$ м і до $2,4 \cdot 10^{-8}$ м. Якщо взяти до уваги геометричні параметри молекул основ [324, 331] то можна показати, що загальна кількість молекул азотистих основ нуклеїнової кислоти у релаксуючій структурі складає $\sim 10^2$.

Розміри релаксаторів та кількість їхніх мономерних складових при УФ опроміненні будуть піддаватися змінам. Зазначений ефект залежить від типу нуклеотидної основи і довжини хвилі ультрафіолетового випромінювання. Водночас, когерентність малопотужного лазерного випромінювання за довжини хвилі $\lambda = 337$ нм не грає особливу роль, що добре узгоджується із результатами, раніше одержаними у роботі [332] для біополімерів ДНК.

Відносні розміри релаксуючих кластерів гуаніну, метилурацилу та цитозину при опроміненні УФ променями з різними довжинами хвиль наведені у таблиці 5.6. Можна побачити, що ультрафіолетове випромінювання з $\lambda = 260$ нм спричинює зменшення розмірів релаксуючих структур, сформованих з піримідинових основ, а, в свою чергу, випромінювання з $\lambda = 337$ нм призводить до збільшення розмірів колективних релаксаторів. Розміри молекулярних кластерів гуаніну практично не змінюються, що вказує на невелику чутливість пуринових основ по відношенню до дії радіації в даному діапазоні. Як відомо з роботи [213], поглинання азотистими основами УФ квантів з енергією 3,8 – 6,2 еВ спричинює формування збуджених синглетних та триплетних електронних станів молекули, які виникають здебільшого внаслідок $\pi - \pi^*$ -переходів.

Молекули у збудженому стані можуть брати участь у різних фотохімічних реакціях, серед яких найкраще вивченою є реакція фотодимеризації тиміну [334]. Вищенаведені результати свідчать, що ультрафіолетове випромінювання з $\lambda = 260$ нм у молекулах цитозину та метилурацилу, насамперед, спричинює деградацію –

появу окислення, дезамінування, розщеплення кілець піримідинових основ. Процес димеризації, зокрема і для тиміну, переважатиме при більш довгохвильовому ультрафіолетовому опроміненні. Сформованим при цьому різним формам циклобутанових кілець, замкненим С₅-С₆-зв'язками [335], властиві велика непланарність, перегин кільця, що заважає стекінгу основ. Релаксуюча структура, яка утворена з таких димерів, займатиме більший об'єм, як це можемо бачити із таблиці 5.6. З метою визначення кількості різних видів перетворень необхідним є продовження досліджень в більш ширшому діапазоні частот, який би охоплював α -, β - і γ -дисперсії.

До того ж, не є виключеним факт, що збудження електронних станів деяких азотистих основ також безпосередньо може спричинювати дипольну нестабільність, тобто супроводжуватися змінами діелектричної проникності [322, 336]. Проте для діелектричного вияву ефекту Яна-Теллера є необхідною реалізація дещо іншої схеми експерименту з одночасною дією ультрафіолетового опромінення та електромагнітних полів.

Отримані результати дозволяють прогнозувати такі основні напрямки прикладних робіт. По-перше, вивчення особливостей дисперсії діелектричних параметрів основних компонентів такої важливої біомакромолекули, як ДНК, дозволить з'ясувати механізми резонансної відповіді біосистем на вплив зовнішніх електромагнітних полів. Це на сьогодні надзвичайно актуально для біомедичних застосувань. По-друге, чутливість електрофізичних характеристик піримідинових нуклеотидних основ, а також їхніх асоціатів до УФ випромінювання певних довжин хвиль може служити основою для розробки датчиків для цього важливого фактора середовища.

5.4. Дія низькоенергетичного випромінювання на ДНК *in vitro* та *in vivo*

Унікальні властивості лазерного випромінювання дозволяють реалізувати багатофотонні фотобіологічні процеси, в основі яких лежить поглинання

молекулою фотосенсибілізатора квантів світла і збудження її у вищі енергетичні стани. Енергія цих станів, будучи передана молекулам біологічного субстрату, здатна викликати в них серйозні зміни, в тому числі й розриви ковалентних зв'язків. Результати досліджень про вплив лазерних променів на біомолекули ДНК у розчині та *in vivo* приведені у монографії [2].

На сьогодні у практичній медицині та генній інженерії широко використовується явище фотодинамічного ефекту. Відомо досить багато барвників, які взаємодіючи з різними клітинними структурами, в процесі поглинання світла, сенсibiliзують їх фотопшкодження [343–350].

Безсумнівно актуальним є дослідження фотосенсибілізуючої активності натуральних барвників рослин борщівника Сосновського (*Heraclium sosnowskyi* Manden), широко розповсюджених на території України, зокрема в Карпатському регіоні. Безпосередній контакт з цими рослинами викликає опіки в людини, які підсилюються під впливом сонячних променів. Вищенаведене дає підстави стверджувати, що ураження відбувається в результаті фотодинамічного ефекту.

Зрозуміло, що для ефективного застосування лазерів в біології та медицині необхідна інформація про механізми і особливості дії їх випромінювання на генетичний апарат організму, в першу чергу, на нуклеїнові кислоти. Тому завданням цього розділу роботи було дослідження спектральними методами природи фотодинамічної активності природних барвників, виділених із *Heraclium sosnowskyi*, а також їх взаємодії з нуклеїновими кислотами.

Досліджувався спиртовий екстракт речовин, виділених із листків, стебел і коріння борщівника Сосновського з околиць міста Ужгорода (рис 5.11).



Рис. 5.11. *Heracleum sosnowskyi* Manden (Борщівник Сосновського).

Heracleum sosnowskyi Manden (Борщівник Сосновського) родини Umbelliferaeae (Зонтичні) є багаторічною рослиною, виростає до 3 – 5 метрів висоти, з товщиною стебла, яка сягає до 10 сантиметрів. Територіями його зростання є узбіччя доріг, береги річок, деградовані пасовища, потічки. Рослина є багатою на фотоактивні сполуки і, навіть, одноразовий дотик до борщівника призводить до серйозних опіків. Через пару днів пошкоджена поверхня тіла доходить до декількох сантиметрів, важко гоїться, викликає появу чи загострення інших шкірних захворювань.

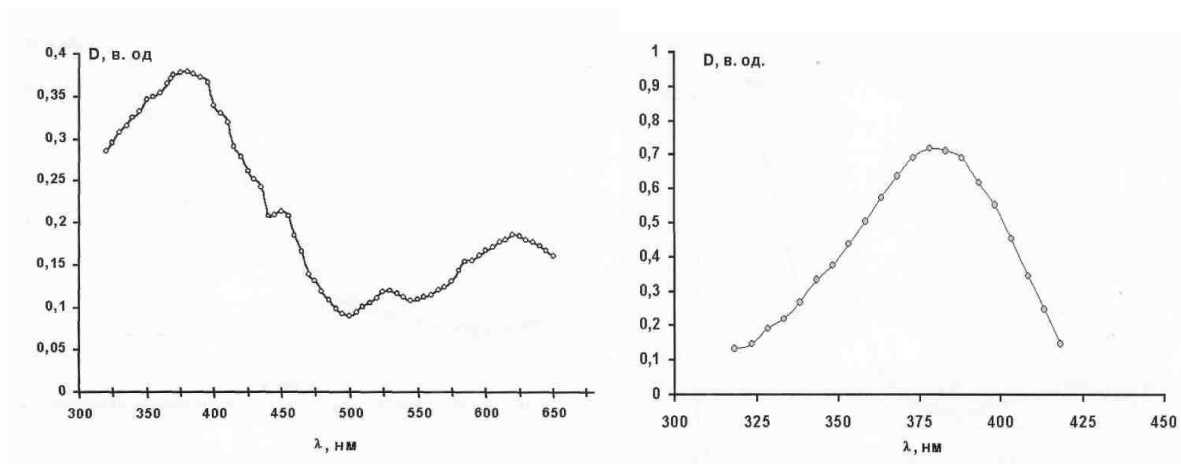
У представленому експериментальному дослідженні джерелом лазерного випромінювання був азотний лазер ЛГИ-21, довжина хвилі генерації якого становить 337 нм. Лазер працює в імпульсному режимі, частота 100 Гц. Тривалість імпульсу – 7 нс. Імпульсна і середня потужності становили 1,6 кВт і 3 мВт, відповідно. Як некогерентне джерело світла використано водневу лампу, живлення якої забезпечувалось стабілізатором струму, що входить до комплексу спектрофотометра СФ-46. Інтенсивність випромінювання лазера становила 120 Вт/м², лампи – 20 Вт/м². Досліди проводились за різних світлових умов: розсіяне денне світло, УФ випромінювання (лазерне і некогерентне). У експериментах

використовувались препарати ДНК і РНК, а також 7-диетиламіно-4-метилкумарин (фірма Sigma-Aldrich), очищення 99%.

Спектри поглинання розчинів молекул нуклеїнових кислот, барвників і екстрактів борщівника досліджувались за допомогою спектрофотометра СФ-46. Люмінесценція речовин вивчалась на спеціальній лабораторній установці, основними блоками якої були: джерело збуджуючого світла, кювета для досліджуваних препаратів і комп'ютеризована система для спектрального аналізу свічення. Похибки у визначенні спектральних характеристик становили 2 – 5%. Спектри поглинання та люмінесценції взірців були досліджені в УФ та видимій областях спектру. Особливості комплексоутворення зазначених речовин з важливими біологічними макромолекулами – нуклеїновими кислотами та їх складовими були належним чином проаналізовані. З метою порівняння вивчались комерційні препарати барвників.

На рис. 5.12 (а, б) зображені спектри поглинання екстракту *Heracleum sosnowskyi* і розчину барвника 7-диетиламіно-4-метилкумарину. Як видно, спектр поглинання екстракту складний, містить багато смуг поглинання у різних діапазонах довжин хвиль. Очевидно, поглинання у області 450 – 650 нм зумовлене наявністю в екстракті порфіринів та різних форм хлорофілу. Смуга в діапазоні 350 – 400 нм зумовлена поглинанням кумаринових похідних, які у значних кількостях присутні у складі борщівника Сосновського і є причиною його фотодинамічної активності. Підтвердженням цього є те, що максимуми спектрів поглинання 7-диетиламіно-4-метилкумарину і короткохвильової смуги екстракту співпадають. В результаті виконання експериментів було показано, що у спектрах поглинання і люмінесценції водно-спиртових витяжок *Heracleum sosnowskyi* у діапазоні від 280 до 680 нм є декілька широких інтенсивних смуг, що перекриваються. Співставлення зі спектрами ізольованих препаратів барвників дозволило ідентифікувати спектри виділених із *Heracleum* речовин. Зокрема, виявлена наявність кумаринових та порфіринових похідних в рослинних екстрактах. До того ж, аналіз спектральних характеристик сумішей

вищезгаданих препаратів з біомолекулами (нуклеїновими кислотами та їх складовими) засвідчив утворення міжмолекулярних комплексів, які є важливою передумовою для процесів міграції енергії. Дослідження кінетики взаємодії вищевказаних сполук показало, що за присутності речовин, які були виділені із борщівника в нуклеїнових кислотах, з'являються зміни просторової структури. Таким чином, одержані нами експериментальні результати в даному конкретному випадку дозволили з'ясувати можливі молекулярні механізми фотовпливу природних барвників.



а)

б)

Рис. 5.12. Спектри поглинання екстракту *Heracleum sosnowskyi* (а) і розчину барвника 7-диетиламіно-4-метилкумарину (б).

Як можемо побачити, в спектрах поглинання відповідних комплексів наявні як кількісні (збільшення оптичних густин комплексів), так і якісні зміни (зміна форми смуги поглинання). Аналогічні спектральні особливості проявляються і в спектрах люмінесценції. Опромінення нуклеїнових кислот без барвників при аналогічних умовах не приводить до появи спектральних змін.

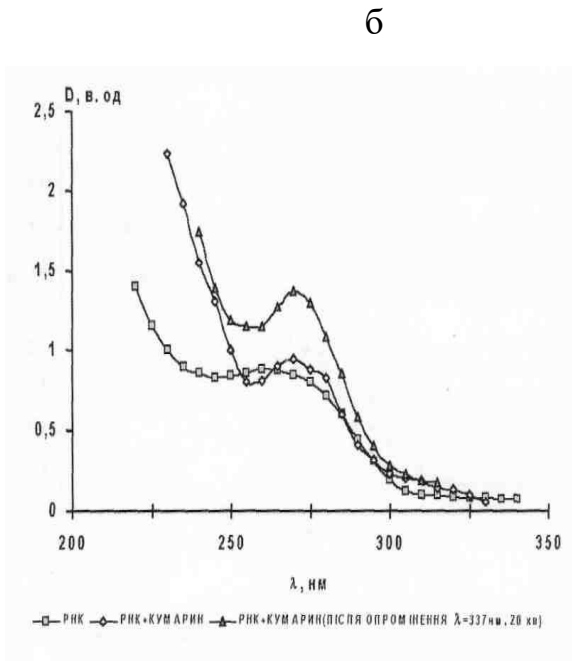
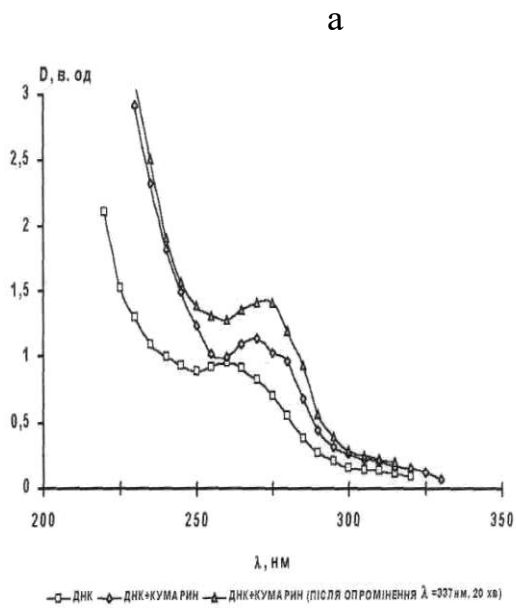


Рис. 5.13 Спектри поглинання ДНК (а) і РНК (б) у комплексі з кумарином до та після опромінення світлом азотного лазера ($\lambda = 337$ нм).

На рис. 5.13 і 5.14 приведено спектри поглинання нуклеїнових кислот у комплексах з кумарином та екстрактом *Нераcleum sosnowskyi* після опромінення їх світлом азотного лазера ($\lambda = 337$ нм) протягом 20 хв.

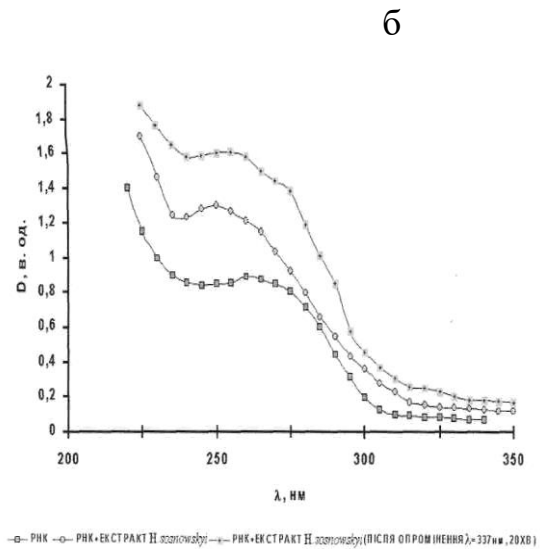
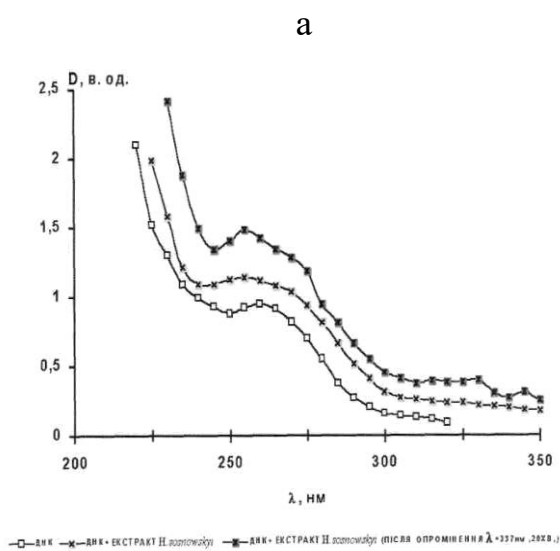


Рис. 5.14. Спектри поглинання ДНК (а) і РНК (б) у комплексах з екстрактом *Н. sosnowskyi* до та після опромінення світлом азотного лазера ($\lambda=337$ нм).

Приведені результати свідчать про певну дестабілізацію структури молекул нуклеїнових кислот у комплексах з барвниками під променем лазера. Для з'ясування питання про те, в якому саме місці складної структури макромолекули локалізуються ці зміни, були поставлені прямі експерименти для оцінки стабільності водневих зв'язків між комплементарними основами. На рис. 5.15 приведені кінетичні криві і їх лінійні анаморфози для ДНК і її комплексів з природними барвниками. Як видно із графіків, профіль кінетичних кривих ДНК з барвниками як для контрольних, так і для опромінених препаратів змінюється – стає крутішим. Збільшується також початкова швидкість деспіралізації молекул, що свідчить про появу дефектів в системі водневих зв'язків біополімеру. Розраховані середні значення кількості дефектів на 1000 пар нерозплетених основ: 1,0 – в контрольному зафарбованому препараті і 1,8 – в зафарбованому і опроміненому препараті.

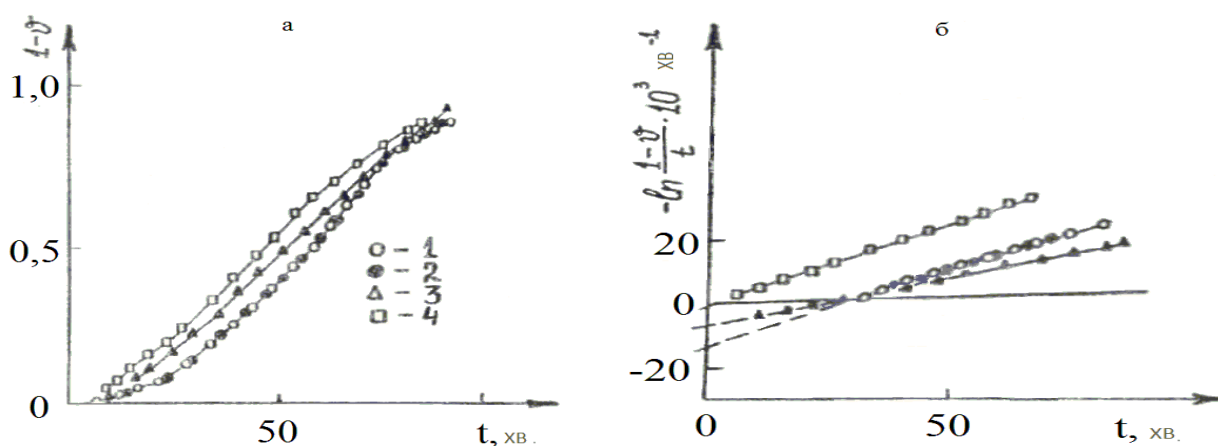


Рис. 5.15. Кінетичні криві деспіралізації ДНК (а) і їх лінійні анаморфози (б): 1– ДНК, контроль; 2– ДНК, після дії лазерного випромінювання; 3– ДНК + барвник, контроль; 4 – ДНК + барвник, після дії лазерного випромінювання.

Спектральні дослідження показали, що комплекси біомолекул реагують на лазерне випромінювання більш динамічно, ніж на некогерентне. Характер індукованих лазерним світлом фотодинамічних процесів дозволяє зробити припущення про реалізацію в комплексі двофотонних реакцій. При поглинанні послідовно двох квантів світла енергією 3,7 еВ, яка відповідає $\lambda = 337$ нм, молекули барвника отримують енергію, рівну 7,4 еВ і переходять у збуджений синглетний стан S_2 . Наявність комплексу між барвником та біополімером створює умови, сприятливі для міграції енергії і збудження молекул нуклеїнових кислот (рис. 5.16). Переданої молекулою кумарину енергії (7,4 еВ) досить для виникнення змін у вторинній та первинній структурах нуклеїнових кислот, а також для руйнування азотистих основ: відщеплення бічної групи $-CH_3$ в молекулі тиміну ($E = 3,22$ еВ) та $-NH_2$ групи в молекулі гуаніну ($E = 3,64$ еВ).

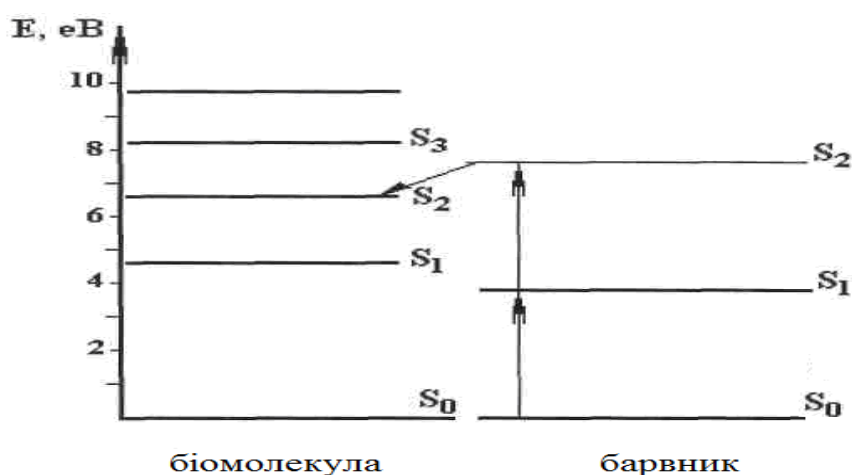


Рис. 5.16. Схема енергетичних процесів при двоквантовому поглинанні барвниками лазерного випромінювання ($\lambda = 337$ нм).

Таким чином, природні барвники, які містяться в екстракті борщівника, взаємодіючи з нуклеїновими кислотами, сенсibilізують їхні фотопшкодження. Реалізація в комплексі кумарин-нуклеїнова кислота фотодинамічних процесів за механізмом двоквантового поглинання барвником світла відкриває можливість впливати на структуру нуклеїнових кислот, використовуючи доступні джерела

лазерного випромінювання, що може бути з успіхом використано в медицині та генній інженерії. Унікальні властивості лазерного випромінювання дозволяють реалізувати багатофотонні фотобіологічні процеси, в основі яких лежить поглинання молекулою фотосенсибілізатора квантів світла і збудження її у вищі енергетичні стани. Енергія цих станів, будучи передана молекулам біологічного субстрату, здатна викликати в них серйозні зміни, в тому числі й розриви ковалентних зв'язків. Явище фотодинамічного ефекту широко використовується в медицині та генній інженерії. На даний час відомо досить багато барвників, які взаємодіючи з різними клітинними структурами, в процесі поглинання світла, сенсibiliзують їх фотопшкодження. Вплив низькоенергетичного ультрафіолетового випромінювання а ДНК *in vivo* оцінювали за критерієм зміна швидкості регенерації клітин.

Регенерація – це надзвичайно важливий біопроеес, під яким розуміють [359] повторний розвиток, що викликається пошкодженням і призводить до відновлення організмом втрачених структур. З'ясування механізмів регулюючого впливу різних факторів на швидкість регенерації має особливе значення, зокрема у медицині, для прискорення загоєння ран, інгібування росту пухлин тощо.

Як біологічну модель, яка відображає стан ДНК, було використано регенеруючі клітини *Triturus Vulgaris* (тритон звичайний). Отримані у цьому розділі результати, опубліковані в [2].

На рис. 5.17. показана динаміка щоденного приросту регенерованої тканини протягом 30 днів після ампутації. Опромінення тритонів проводилось локально, на раневу поверхню. Дослідним шляхом була підібрана оптимальна експозиція – 20 хв. Джерелами ультрафіолетового випромінювання були наступні пристрої: азотний лазер типу ЛГИ-21 і спектральна воднева лампа ДВС-25. Характеристиками азотного лазера були: довжина хвилі $\lambda = 337$ нм, частота 100 Гц, середня і імпульсна потужність 3 мВт та 1,6 кВт, тривалість імпульсу $7 \cdot 10^{-9}$ с. Воднева лампа служила джерелом некогерентних ультрафіолетових променів у

інтервалі 200 – 350 нм. Інтенсивність випромінювання азотного лазера складала $1,2 \cdot 10^2$ Вт/м², водневої лампи – $0,2 \cdot 10^2$ Вт/м².

Можна побачити із графіків, що залежність приросту органу від часу має нелінійний характер. В діапазоні 20 – 25 доби спостерігається максимальна швидкість регенерації. Для опромінених тварин теж зберігається нелінійна динаміка приросту, але в них процес йде повільніше. Проаналізувавши одержані результати, можна визнати, що вплив опромінення на регенерацію, загалом, носить інгібуючий характер. Ступінь гальмування, при цьому, залежить від умов опромінення. Вищевказані відмінності спостерігаються на 12 добу експерименту за середньої відносної похибки, що не перевищує 5%.

Прирости тканин контрольної та другої і третьої груп тритонів на 30 добу відрізнялися між собою на $2,41 \pm 0,30$ мм., що свідчить про те, що має місце пригнічення процесу регенерації ультрафіолетовими променями з довжиною хвилі 337 нм.

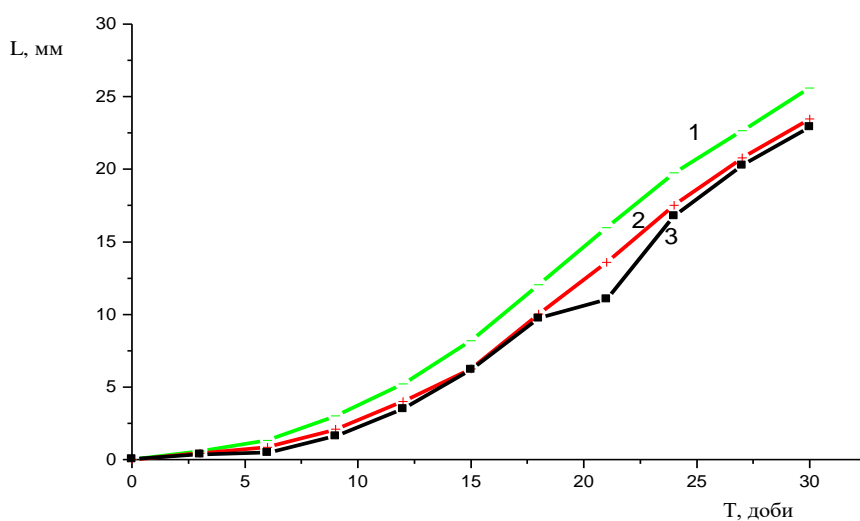


Рис. 5.17. Регенерації тканин Triturus Vulgaris в динаміка внаслідок дії ультрафіолетового опромінення (Т – час спостереження (доби), L – приріст тканин (мм):

- 1- контрольна група тритонів;
- 2- тритони, опромінені лазерним УФ світлом довжиною хвилі 337 нм;
- 3- тритони, опромінені ламповим (некогерентним) світлом довжиною хвилі 337 нм.

Динаміка регенераційного процесу може бути описана за допомогою логістичного рівняння Ферхюльста [212]. Ще одну цікаву деталь можна помітити на рис. 4.17. На кривій 3 в діапазоні 18–22 діб спостерігається локальне сповільнення швидкості приросту регенерації. Для контрольної групи такий факт не реєструвався. Аналіз сповільнення відновлювального процесу привів до припущення, що його причиною може бути підвищена сонячна активність, яка мала місце у дні експерименту.

Таким чином, опромінені ультрафіолетом організми більш чутливі до інших факторів середовища. Як відомо, основною причиною інгібуючої дії УФ опромінення на регенерацію є пошкодження біологічно важливих молекул – нуклеїнових кислот і білків. Так, утворення піримідинових димерів та дефектів вторинної структури ДНК [38,61,191,161] може протидіяти нормальному протіканню редуплікації під час поділу клітин. Після спалахів на Сонці відмічалось достовірне інгібування регенераційних процесів.

Зростання сонячної активності зумовлене спалахами на Сонці, внаслідок яких воно випромінює рентгенівські, ультрафіолетові та видимі промені, а також потоки високоенергетичних нейтронів, протонів та електронів. Певна частина енергії розсіюється в космосі, інша відбивається від земної атмосфери, а та частина, що досягає Землі, спричинює зростання концентрації короткоживучих високоенергетичних електронів ($\sim 0,1$ MeV), протонів та нейтронів. Внаслідок цього збурюється магнітне поле Землі, підвищується природний електромагнітний фон. Розподіл інтенсивності збурення носить нелінійний, динамічний характер і залежить від географічної широти та параметрів спалаху. Через те кількісно оцінити величину збурення важко, можна лише стверджувати, що вона має порядок $\sim 10^2$ γ , а частота, на якій інтенсивність збурення максимальна, складає $\sim 0,1$ Гц.

Як впливає з нашого експерименту, сукупність вищеперерахованих факторів, пригнічує регенераційний процес в тих групах тварин, які було піддані впливу некогерентного ультрафіолетового опромінення. Напевно, вони є більш

чутливими до магнітних бур, які можна було би представити як низькоенергетичне електромагнітне випромінювання широкого спектру з максимумом інтенсивності, як було згадано вище, на частоті $\sim 0,1$ Гц. Також будемо вважати, що корпускулярна складова «бурі» не проникає через стелю та стіни в приміщення, де знаходились тритони. Цікаво, що в деяких типах клітин виявлені власні цикли саме таких частот [315]. Тому, можливо, сонячні збурення спричинюють певне розупорядкування клітинних ритмів.

До вірогідних механізмів впливу сонячної активності можна віднести здатність слабких електромагнітних полів проводити перерозподіл енергії між компонентами біологічних рідин подібно до селективного каталізатора [365,366]. Зокрема, електромагнітне випромінювання з характеристиками, близькими до характеристик геомагнітного поля Землі, може зміщувати рівновагу реакції конденсації біомолекул в залежності від магнітної компоненти електромагнітного поля. Таким чином, існує принципова можливість керувати реакціями у клітині, варіюючи, при цьому, просторово-часовим і частотно-енергетичним розподілом зовнішнього електромагнітного поля. Вірогідність реалізації саме цього перебігу є досить високою, оскільки в період подвоєння ДНК, який є ключовим при поділі клітини, клітина є особливо сприйнятливою до зовнішнього електромагнітного поля. Особливий інтерес являють собою пошуки засобів для керування регенерацією та створення своєї електромагнітної інформотерапії [360–362,367,371–375]. Що стосується практичного застосування результатів наших експериментів, то можна припустити, що *Triturus Vulgaris*, опромінений ультрафіолетом даних експозицій, може служити біологічним індикатором магнітних бур. Даний ефект доцільно детально проаналізувати з перспективою створення спеціальних пристроїв, своєрідних біосенсорів, чутливих до змін фізичних параметрів довкілля.

5.5. Молекулярні механізми геномодифікуючої здатності ультрафіолетового випромінювання

Одним із найбільш актуальних напрямків сучасних біофізики та медицини є вивчення фотобіологічних явищ, які базуються на можливостях регуляції світлом процесів життєдіяльності організмів [118, 180, 181, 191, 212-215, 343–348]. Інтерес до даної проблеми викликаний, насамперед, тим, що пізнання молекулярних основ фотовпливу сприяє з'ясуванню механізмів, які зумовлюють в біологічних системах підсилення зовнішнього сигналу і його наступну реалізацію у виді певної фізіологічної відповіді. З іншого боку, вивчення природи фотодії необхідне для вирішення низки практичних задач, включаючи регуляцію світлом росту і розвитку організмів, а також пошук шляхів ефективного використання випромінювання в медичній практиці.

Впровадження в фотобіологічні дослідження джерел лазерного випромінювання призводить до необхідності врахування нелінійних ефектів [191,305,346, 363]. Унікальні властивості лазерного випромінювання дозволяють реалізувати багатофотонні фотобіологічні процеси, в основі яких лежить поглинання молекулою фотосенсибілізатора квантів світла і збудження її у вищі енергетичні стани. Енергія цих станів, будучи передана молекулам біологічного субстрату, здатна викликати в них серйозні зміни, в тому числі й розриви ковалентних зв'язків. Ініціювання селективних фізико-хімічних процесів з участю цих станів при двоквантовому збудженні широко використовується в практиці, наприклад в фотодинамічній терапії, генній та клітинній інженерії.

За основним законом фотобіофізики проходження через речовину фотонів, рентгенівського або γ -випромінювання, потоку нейтронів, електронів або прискорених ядер елементів може призвести до поглинання частини енергії речовиною. При опромінюванні живої матерії спостерігаються певні біологічні наслідки радіаційної дії. У радіаційній фізиці виконується загальний принцип Гротгуса [47], згідно якому тільки та частина енергії

випромінювання, яка поглинається речовиною, може викликати зміни у цій речовині.

Для поглиблення знань про механізми первинних стадій фотохімічних і фотобіологічних реакцій актуальною є інформація про властивості молекул у збуджених станах. Відомо, що після елементарного акту поглинання світла в молекулі починаються процеси дисипації частини енергії електронного збудження. В свою чергу, це призводить до зміни параметрів певних зв'язків (довжини, амплітуди і частоти коливання, електронної густини), що в кінцевому рахунку, очевидно, і визначає як загальну реакційну здатність молекули, так і фізичний механізм найбільш ранніх стадій фотохімічних реакцій.

Детальну інформацію про електронну структуру молекул нуклеїнових кислот в основному і збудженому стані дозволяють отримати абсорбційна і флуоресцентна спектроскопії [61–64,66,69–81]. Як відомо, поглинання нуклеїновими кислотами квантів ультрафіолетового світла (максимум поглинання при 260 нм) призводить до утворення збуджених станів. Для видимої області ДНК і РНК – «прозорі». Проте у вакуумно-ультрафіолетовому діапазоні, починаючи з довжин хвиль, менших 200 нм, виявлені ще більш інтенсивні смуги у спектрі поглинання.

Пріоритетні результати про спектральні особливості молекул нуклеїнових кислот та їх складових у вакуумно-ультрафіолетовій (3– 25 еВ) області були отримані у роботах Н.Я.Додонової із співр. [72, 73] та Sontag W., Weibezahn K.F. [66]. Експерименти проводили з плівками азотистих основ, нуклеотидів та ДНК.. Автори також запропонували чітку ідентифікацію виявлених спектральних смуг. Зокрема, максимуми між 4 і 7,5 еВ зумовлені, в основному, π - π^* переходами основ. Біля 9 – 10 еВ можливі високоенергетичні π - π^* переходи в поєднанні з σ - σ^* процесами. Збільшення поглинання ДНК при більших енергіях викликане вкладом дезоксирибози і фосфатних груп.

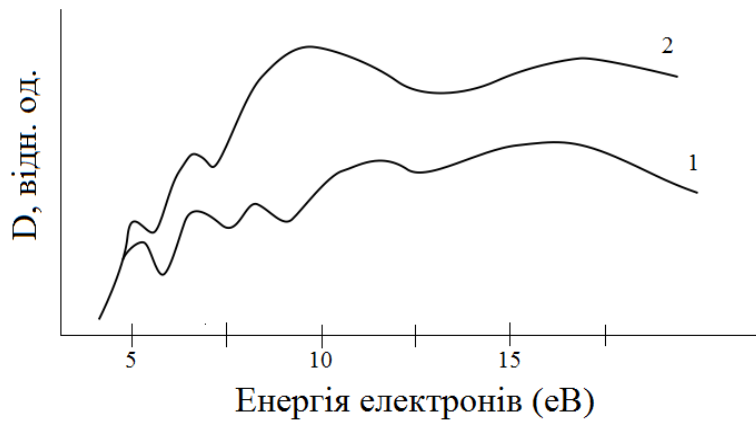


Рис. 5.18. Поглинання молекул нуклеотидів (1) і тимусної ДНК (2) як функція енергії квантів [66].

З цих результатів слідують дуже серйозні висновки про вразливість життя на нашій планеті. Адже головні молекули, які відповідають за збереження генетичної інформації, на Землі від високоенергетичних (смертельних) ВУФ променів оберігає лише тонкий озоновий шар. Відомо, що ковалентні зв'язки можуть зруйнуватися випромінюванням, енергія якого 6 – 9 еВ.

При менших енергіях (довжини хвиль до 200 нм) небезпечними для клітини є реакції фотодимеризації і фотогідратації піримідинових основ, а також утворення ковалентних зшивок ДНК з білковими молекулами.

Піримідинові димери характеризуються дуже високою стабільністю: вони не руйнуються навіть за умов кислотного гідролізу. Утворення піримідинових димерів зумовлене дією УФ випромінювання (довжина хвилі 290 – 320 нм). Проте біологічно активним є також довгохвильове ультрафіолетове світло (320 – 380 нм), яке модифікує трансдукцію сигналу міжклітинної взаємодії і, впливаючи на експресію певних генів, може індукувати канцерогенез. До того ж, деякі експериментальні дані свідчать, що довгохвильовий ультрафіолет може досить ефективно поглинатися молекулами азотистих основ нуклеїнових кислот при наявності міжмолекулярних взаємодій, незважаючи на те, що ці довжини хвиль не попадають в діапазон поглинання для вільних молекул. Справа в тому,

що внаслідок утворення водневих зв'язків, яке має місце в умовах клітинного середовища, змінюється електронна структура окремих молекул азотистих основ нуклеїнових кислот і утворюються додаткові енергетичні рівні в області енергій, що відповідають довгохвильовому ультрафіолету [358]. Таким чином, пряма дія світла з даною довжиною хвилі на нуклеїнові кислоти є можливою.

У клітині, де в ДНК виникли піримідинові димери, не може відбуватися реплікація ДНК, оскільки стає неможливим розкручування спіралі в місцях дії ДНК-полімеразного комплексу. Це й є основною причиною загибелі клітин, опромінених ультрафіолетом [363, 364, 369]. Також, існують експериментальні дані, які вказують на здатність УФ-світла спричинювати одониткові розриви завдяки двоквантовому поглинанню у присутності сенсibilізаторів [343-346].

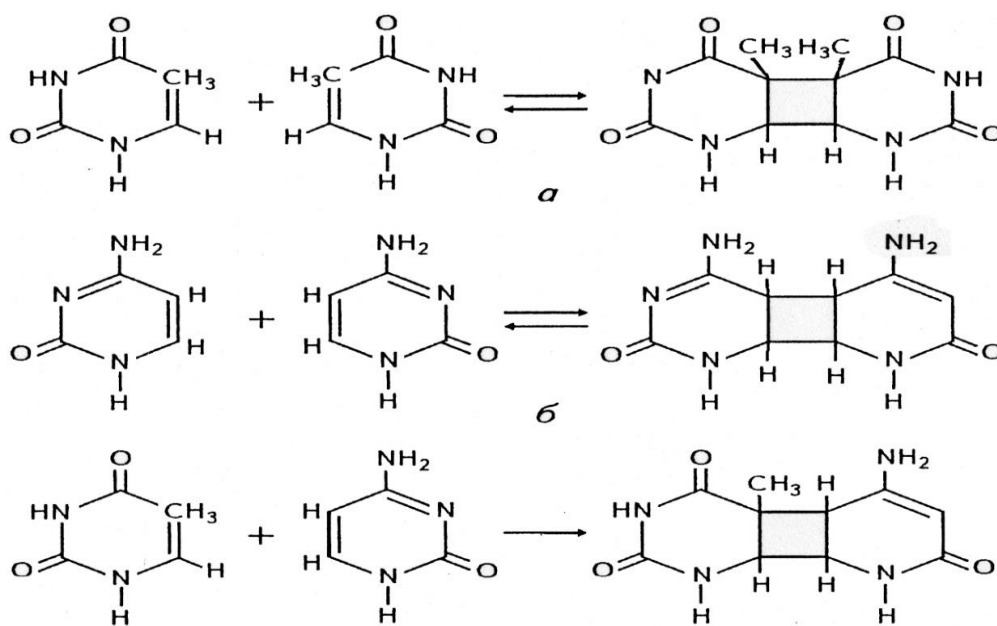


Рис.5.19. Реакції димеризації піримідинів [61, 63].

Крім вищезгаданих, виявлені ще й інші, не менш небезпечні зміни в молекулах азотистих основ нуклеїнових кислот. Якщо утворення піримідинового димеру унеможлиблює реплікацію і веде до загибелі клітини, то «тонші» пошкодження, про які буде сказано далі, не викликаючи загибелі

клітини, провокують зміни функціональної активності ДНК, в тому числі і канцерогенез. Справа в тому, що збудження ультрафіолетом молекул азотистих основ нуклеїнових кислот спричинює зміни всіх параметрів електронної будови, що, в свою чергу, спричинює: зсуви протонів по водневих зв'язках [344]; таутомерні переходи та зміни параметрів водневих зв'язків [191]; локальні деформації азотистих основ [215] (а, отже, і каркасу ДНК); порушення молекулярного впізнавання, в тому числі і точкові мутації [219]. Важливо, що стереохімічна нежорсткість молекул азотистих основ нуклеїнових кислот [218] забезпечує просторову варіабельність молекули ДНК, і вищезгадані локальні деформації можуть мігрувати вздовж ланцюгу ДНК у вигляді солітонів, конформонів, впливаючи на білково-нуклеїнове впізнавання [220, 212]. Солітони в ДНК – локальні деформації, які поширюються без втрат енергії. Причиною виникнення таких деформацій є таутомерний перехід в одній з молекул азотистих основ нуклеїнових кислот або її збудження. Солітони в ДНК, як і солітони в білках, є дипольно-активними збудженнями [220]. Це дозволяє ефективно взаємоузгодити процес їхнього високоселективного, адаптивного зближення назустріч один одному за рахунок, зокрема, резонансних електромагнітних взаємодій. Спираючись на твердження про стереохімічну нежорсткість нуклеотидних основ і деяких нуклеозидів та її квантовохімічну природу, а також концепцію вібронних взаємодій, доведено, що елементарними структурними ланками – носіями кооперативних властивостей нуклеїнових кислот є нуклеозиди (Ян-Теллерівські молекулярні структури), а низькоенергетична кооперативна поведінка нуклеїнових кислот зумовлена кооперативними вібронними взаємодіями [218, 215].

Серед основних фотопродуктів дії довгохвильового УФ-світла (320 – 400 нм) є не лише утворення піримідинових димерів, але й одноланцюгові розриви ДНК [348,198]. Ці два фотопродукти утворюються з приблизно однаковими квантовими виходами. Та квантовий вихід цих фотопшкоджень на 5 – 6 порядків нижче, ніж у випадку короткохвильового УФ-світла. Важливою

деталлю є те, що спільна дія ультрафіолетового світла різних довжин хвиль призводить до неаддитивного сумування впливів кожного окремого випромінювання – тобто має місце синергетичний ефект – їх взаємопідсилення чи взаємопослаблення.

Фотодинамічний ефект. Таким чином, представляє науковий і практичний інтерес поглиблення і, можливо, розширення відомостей про молекулярні механізми дії низькоенергетичного випромінювання на молекулярні складові НК, а також порівняння їх з механізмами дії повільних електронів аналогічних енергій. Відомо, що ізольовані молекули азотистих основ НК практично не поглинають УФ світло з довжиною хвилі 337 нм ($E = 3,56$ eV). Тому, для вивчення даних процесів необхідно отримати плівки азотистих основ НК, оскільки в плівковому стані, завдяки міжмолекулярним взаємодіям [222], ефективність поглинання даного світла зростає. Важливо пам'ятати, що розчинник сильно впливає на властивості і структуру нуклеотидних основ [247–252], тому для того, щоб можна було оцінити роль УФ світла і відділити роль води, доцільно дослідити плівки біомолекул, так як тут присутні міжмолекулярні взаємодії без розчинника. Знаючи, що енергія кванта даного випромінювання менша енергії електронного збудження, слід очікувати, що світло даної довжини хвилі не здатне руйнувати ці молекули, але мінятиме параметри просторової будови молекул чи збуджуватиме їх, або модифікуватиме міжмолекулярні взаємодії. Тому газофазна мас-спектрометрія тут недоцільна. Отже, необхідно вибрати метод дослідження, який би міг відобразити такого роду зміни в плівках. Інфрачервона (ІЧ) абсорбційна спектроскопія якраз і відповідає цим умовам [358], хоч існують і інші надійні експериментальні можливості для дослідження міжмолекулярних взаємодій.

Для апробації висновків щодо молекулярних механізмів дії низькоенергетичного випромінювання на молекулярні складові НК доцільно виконати перевірку на біологічній моделі – явищі регенерації тканин *Triturus Vulgaris*. Регенерація – це повторний розвиток, що викликається пошкодженням,

яке нанесене організму, і призводить до утворення заново відсутньої частини організм. Відмітимо, що з'ясування механізмів регулюючого впливу різних факторів на швидкість регенерації може мати особливе значення, зокрема у медицині, для прискорення загоєння ран, інгібування росту пухлин тощо.

Загальні молекулярні механізми дії низькоенергетичних факторів на біосистеми. Повільні електрони та довгохвильова УФ радіація, розглянуті вище, є частковим випадком низькоенергетичних факторів оточуючого середовища. Сучасний рівень досліджень даної проблеми поділяє взаємодії електромагнітного випромінювання з біологічними системами різного рівня структурної організації на інформаційні та енергетичні взаємодії. Енергетичні мають місце, якщо в результаті поглинання випромінювання відбуваються значні структурні зміни. Наприклад, нагрівання тканини – так званий тепловий ефект. Молекулярні механізми теплового ефекту є тривіальними, аналогічними до явищ у неживій речовині. Інформаційними вважаються такі впливи, які не викликають структурних змін, теплового ефекту, бо вони є дуже незначними і локальними. В цьому аспекті знаково, що навіть дуже низькі інтенсивності електромагнітного випромінювання демонструють феноменальну здатність впливати на біологічні процеси. Винятково важливу роль в ефектах такого роду відіграє вода [250–252,370,372]. У роботах багатьох незалежних дослідників відстоюється точка зору, що низькопотужні електромагнітні поля мають регуляторну, «керуючу» здатність [365–368,370–374], в тому числі і завдяки своїй здатності імітувати сигнали міжклітинної регуляції. Якісно це можна порівняти з фізичними процесами, що відбуваються у кібернетичних системах при обробці цифрової інформації. Принциповою ознакою здатності низькопотужних електромагнітних полів виконувати керуючу – «інформаційну» функцію в живих організмах є перелік наступних експериментально виявлених закономірностей [371,375]. По-перше, це – *гостра резонансність дії*. Біофізичний ефект (наприклад, міграція енергії, швидкість регенераційного процесу тощо) проявляє виняткову чутливість до спектрального набору

електромагнітного випромінювання. По-друге це - *пороговість дії*, яка полягає у проявленні ефекту, починаючи від деякої порогової інтенсивності чинника. По-третє, відгук на електромагнітний вплив може змінювати свій знак на зворотний у залежності від початкового стану біооб'єкту, тобто має місце виняткова чутливість до найменших змін як зовнішніх, так і внутрішніх факторів. Логічним підґрунтям для класифікації і адекватного розуміння впливу електромагнітного випромінювання на живі системи є вчення про ієрархічну структуру біологічних ритмів. Біологічні ритми – це регулярне, періодичне повторення у часі характера і інтенсивності життєвих процесів, станів або подій. Окремий біоритм можна розглядати як структурний елемент, який спільно і в певних взаємовідношеннях з іншими такими елементами утворюють, в цілому, часову організацію біологічної системи, нерівнозначну простій сумі складових елементів. Ієрархічність та інтегральна цілісність біологічних систем забезпечується багатоконтурною регуляцією всіх існуючих змінних та їх міжрівневих співвідношень. Тобто, ієрархічний гомеостаз є одночасно, як вважає автор [375], ритмостазом. Це означає, що суперпозиція біоритмів не може бути виражена простою сумою гармонічних коливань. Тому тут доцільний синергетичний підхід [371]. Взагалі, часова організація біологічної системи утворюється сукупністю всіх її ритмічних процесів, взаємодіючих і узгоджених в часі між собою, залежних від змін зовнішнього середовища. Цим і пояснюється те, що взаємодія низькопотужного електромагнітного випромінювання з біооб'єктами носить синергетичний характер. Здатність електромагнітних полів малих інтенсивностей чинити біологічний вплив використовується в новітніх медичних практиках – електромагнітній інформотерапії [368,372].

Ілюстративним прикладом вищезгаданих ефектів є вплив на живі істоти так званих «магнітних бурь», які являють собою збурення магнітного поля Землі внаслідок спалахів на Сонці. Існують чотири типи хвиль на поверхні Землі, зумовлених активністю Сонця: геомагнітні пульсації, інфразвукові хвилі, гравітаційні хвилі та радіохвилі [365,367]. Саме геомагнітні пульсації та

інфразвукові хвилі відомі своєю здатністю впливати на біосферу. Низькочастотні геомагнітні пульсації, що реєструються в наземних умовах як результат процесу взаємодії геомагнітного поля з потоками сонячної плазми, призводять до появи змінного електричного поля (вертикальної складової) на рівні Землі. Звичайно, не можна ігнорувати і корпускулярну складову небесних потоків (тобто і тут доречно згадати вторинні електрони). Оцінки і експериментальні дані показали, що амплітуди електричного поля при геомагнітних пульсаціях (50-60 В/м) порівнювані з середнім значенням градієнта потенціала атмосферної електрики. Частоти пульсацій ($5 \cdot 10^{-3} - 5$ Гц) виявляються резонансними щодо характерних частот біологічних систем.

Висновки до розділу 5

Висвітлено, що низькоенергетичне УФ випромінювання модифікує систему міжмолекулярних зв'язків, зокрема і водневих, у плівках азотистих основ. В середовищі (умовах) клітинної ДНК це означатиме порушення високорганізованих у часі і просторі процесів молекулярного впізнавання за структурної незмінності геному.

Показано на прикладі зміни регенераційного процесу, що ультрафіолет здатний гальмувати швидкість поділу клітин. Водночас збільшується чутливість клітин до слабких негативних впливів зовнішнього середовища (магнітні бурі). Отже, випромінювання з даною довжиною хвилі діє як фактор, що пригнічує функціональну активність біомолекул за рахунок зміни міжмолекулярних зв'язків у компонентах ДНК і РНК. Отримані результати дозволяють прогнозувати основні напрямки прикладних досліджень.

Вивчення особливостей дисперсії діелектричних параметрів основних компонентів такої важливої біомакромолекули, як ДНК, дозволить зробити певні кроки у з'ясуванні механізмів резонансної відповіді біосистем на вплив зовнішніх електромагнітних полів. Дана тематика є на сьогодні надзвичайно

актуальною, враховуючи і розгортання прикладних робіт з використання електромагнітного випромінювання у медицині.

ЗАКЛЮЧЕННЯ

З'ясування механізму біологічної дії іонізуючих випромінювань полягає у розшифровці всієї послідовності процесів, яка починається з виникнення в опромінену об'єкті певної кількості іонізованих і збуджених молекул.

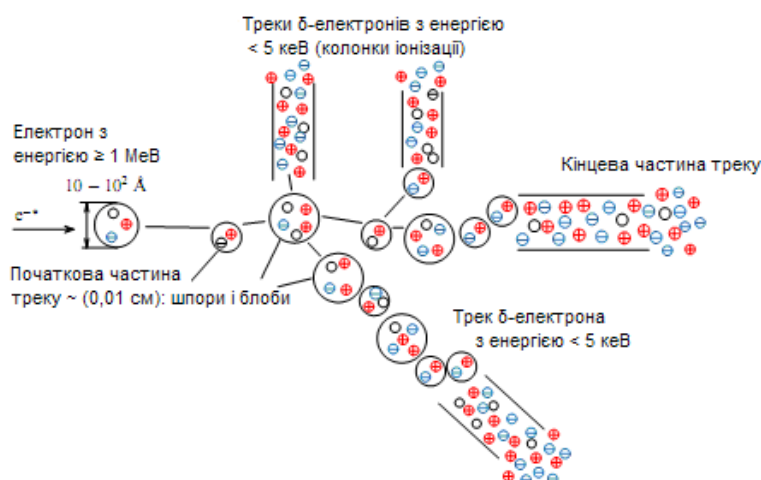


Рис. 5.20. Схема треку швидкої іонізуючої частинки у воді до початку хімічних перетворень продуктів радіолізу [46]: H_2O^+ , e^- , H_2O^* (фемтосекундний інтервал часу, з моменту утворення треку); \circ – H_2O^* ; \oplus – H_2O^+ ; e^- – e^- .

Відомості про початкові процеси поглинання енергії випромінювання необхідні для з'ясування механізмів радіобіологічних процесів [180, 351–357]. Іонізовані та збуджені молекули, що виникають на фізичній стадії запускають складний ланцюг реакцій, що приводять в кінці до тестованого біологічного ефекту. Тому інформація про первинні події (функції збудження, іонізації, характер їх розподілу тощо) служить відправною точкою біофізичного аналізу механізмів дії іонізуючих випромінювань на важливі біомолекулярні структури.

Збудження азотистих основ нуклеїнових кислот може призвести до дестабілізації водневих зв'язків у комплементарних парах, до міграції енергії вздовж ДНК, до утворення ексимерів та димерів основ, що може загальмовувати

редуплікацію ДНК. З іншого боку, підвищена реакційна здатність збуджених молекул буде стимулювати поділ клітин, модерувати міжмолекулярні взаємодії. УФ промені можуть пригнічувати функціональну активність ДНК внаслідок перерозподілу енергії в її коливній структурі та зміні міжмолекулярних взаємодій при процесах транскрипції і трансляції.

Іонізація азотистих основ може спричинювати розриви водневих зв'язків між комплементарними парами і, відповідно, зміни первинної і вищих структур нуклеїнових кислот. Нестабільний негативний іон біомолекули і радикал Н можуть вносити зміни в енергетичні системи клітини. В умовах живої клітини різко зростає ударна стабілізація негативного іону вихідної молекули, тобто ефективний переріз утворення негативних іонів є значно більшим, ніж у газовій фазі. Надалі утворений негативний іон дисоціюватиме з утворенням різних фрагментів. Новосформовані біорадикали можливо будуть хімічно активними і, зі свого боку, можуть ініціювати ланцюгові деструктивні зміни. Ключовий внесок вносить процес дисоціативної іонізації. В результаті резонансного механізму утворення негативних іонів азотистих основ якраз за невеликих електронних енергій вірогідні значні порушення у макромолекулах нуклеїнових кислот. Збільшення кількості іонізованих біомолекул та їх фрагментів у живих клітинах також може спровокувати підвищення їх чутливості до зовнішніх електромагнітних полів.

Фрагментація молекул з відривом бокових груп кілець азотистих основ може призвести до порушення водневих зв'язків, до руйнування вторинної структури макромолекули. Внаслідок опромінення навіть при таких невеликих енергіях електронів (від одиниць до 100 eV) можуть виникнути різні точкові мутації. Серед них імовірна поява делецій (випадання основ), трансверсій і транзицій (заміни основ), інсерцій (вставка основ). Можливі заміни кодонів, що буде ініціювати дискримінацію певних амінокислот, а також синтез атипових білків. Наслідком цього може бути загибель клітин, генетичні та соматичні зміни в організмі. Водночас, найбільші ефективні перерізи утворення ($\sim 10^{-16}$ см²) за

енергії налітаючих електронів в діапазоні 70 – 95 еВ притаманні саме іонам молекул нуклеотидних основ, а не їх фрагментам, що безсумнівно вказує на відносну стійкість молекулярних носіїв генетичної інформації [351].

Аналіз біофізичних наслідків процесів, викликаних у біоструктурах низькоенергетичними електронами та УФ випромінюванням, ілюструє підсумкова схема на рис. 5.21.

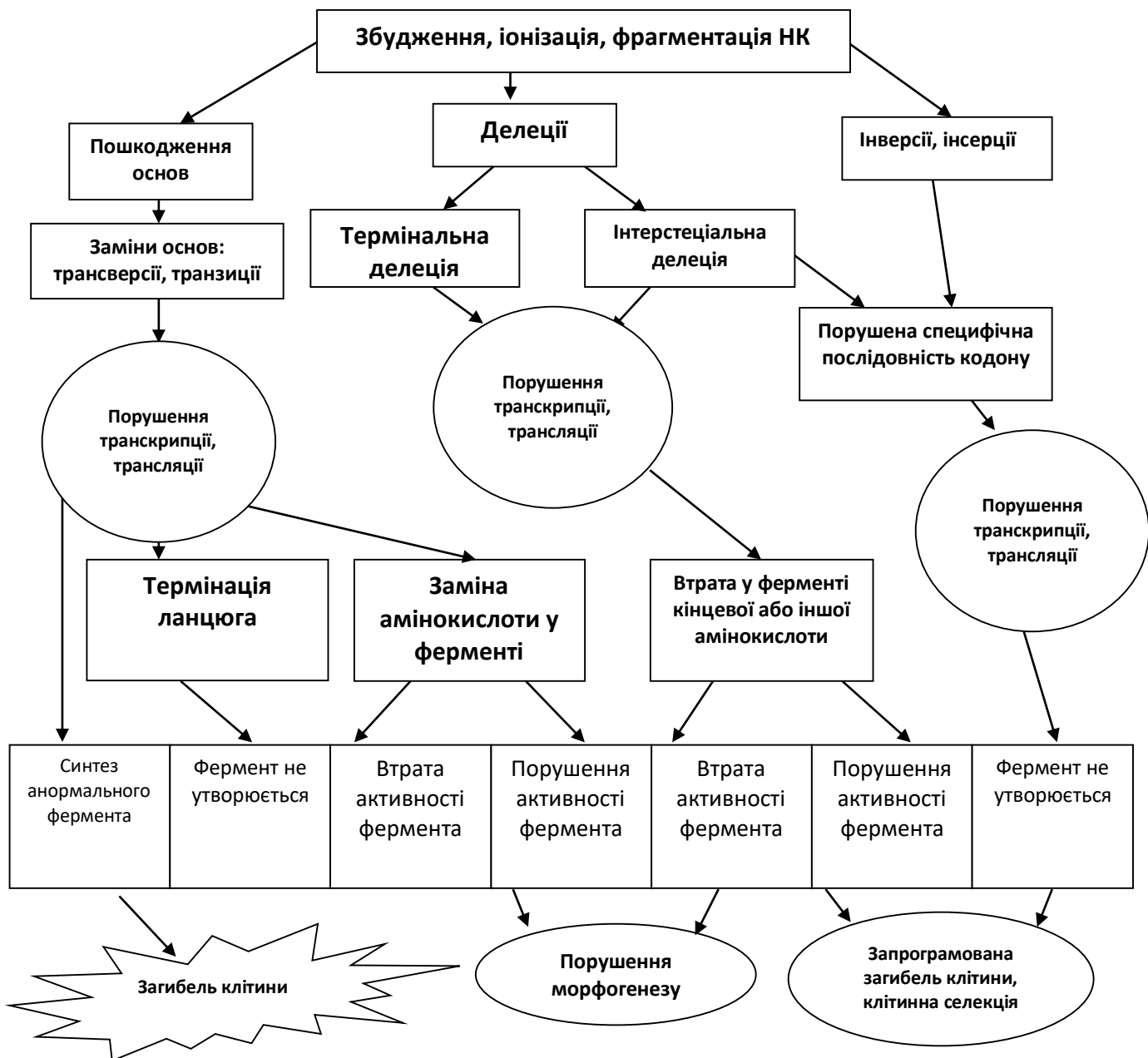


Рис. 5.21. Біофізичні наслідки процесів, викликаних у біоструктурах низькоенергетичними чинниками.

Серед можливих напрямів продовження досліджень вбачаються дослідження стійкості азотистих основ нуклеїнових кислот та цілих молекул ДНК до екстремальних зовнішніх фізичних факторів, в умовах максимально наближених до відритого космосу та дослідження процесів взаємодії основ з керамічними та карбоновими нанорозмірними матеріалами. До екстремальних фізичних факторів можна буде віднести наднизькі температури оточуючого середовища ($\sim 3\text{K}$) та високі магнітні поля ($\sim 10^9\text{ Тл}$). В якості процесів взаємодії основ з керамічними та карбоновими нанорозмірними матеріалами можна буде розглянути вивчення впливу електронного опромінення на люмінесценцію адсорбованих азотистих основ нуклеїнових кислот та цілих молекул.

ВИСНОВКИ

Отримані у представленій роботі результати носять пріоритетний характер.

Зокрема, *вперше*:

1. Створено сучасний експериментальний комплекс з пучками електронів і молекул, що перетинаються, та розроблено оригінальні методики, за допомогою яких вперше отримано інформацію про закономірності процесів збудження, іонізації та деструкції біомолекул азотистих основ нуклеїнових кислот низькоенергетичним електронним ударом.
2. На основі отриманих даних про спектри випромінювання збуджених молекул азотистих основ нуклеїнових кислот у газовій фазі повільними монокінетичними електронами, показано, що, крім збудження та іонізації, у біомолекулах ефективно проходять процеси деградації – дисоціативне збудження та дисоціативна іонізація.
3. Здійснено ідентифікацію інтенсивних смуг в емісійних спектрах молекул тиміну, урацилу, цитозину, аденіну і гуаніну. Проаналізовано функції збудження та іонізації, враховано результати мас-спектрометричних вимірів та квантово-механічних розрахунків параметрів структури нуклеотидних основ. Показано, що найбільш інтенсивні смуги із максимумами при 275 – 290 нм зумовлені радіаційним розпадом першого збудженого електронно-коливного стану молекулярного іону в його основний стан. Більша частина спектральних артефактів пов'язана із процесами дисоціативного збудження.
4. Досліджено енергетичні залежності перерізів збудження (функції збудження) спектральних молекулярних смуг у максимумі та проаналізовано їхні особливості: енергетичні пороги, форму функцій, положення максимумів. Аналіз функцій збудження показав наявність інтеркомбінаційних переходів з утворенням триплетних метастабільних станів молекул нуклеотидних основ.

5. Вперше експериментальним шляхом визначено абсолютні величини повних перерізів (ймовірностей) утворення позитивних іонів пуринових основ нуклеїнових кислот, а також досліджено енергетичні залежності перерізів іонізації в інтервалі енергій електронів від порогу до 200 еВ. Встановлено, що після припорогового росту функції іонізації є пологими з достатньо слабо вираженими особливостями та досить широкими максимумами у інтервалі від 85 до 95 еВ. Зокрема, максимум перерізу іонізації аденіну настає при енергії 90 еВ і рівний $(2,8 \pm 0,15) \cdot 10^{-15} \text{ см}^2$. Для гуаніну величина максимального значення перерізу іонізації становить $(3,2 \pm 0,15) \cdot 10^{-15} \text{ см}^2$ і досягається при енергії 88 еВ. Визначені енергетичні пороги утворення позитивних іонів становлять: для аденіну – $8,8 \pm 0,2 \text{ еВ}$, для гуаніну – $8,3 \pm 0,2 \text{ еВ}$.
6. З використанням методу мас-спектрометрії виявлено закономірності взаємодії повільних електронів з компонентами нуклеїнових кислот. Показано, що найбільші перерізи (ймовірності) утворення при даних енергіях електронів властиві молекулярним іонам, що свідчить про відносну стабільність молекулярних носіїв генетичної інформації. Запропоновано схеми мультиканальної фрагментації молекул аденіну та гуаніну під дією електронного удару.
7. Вивчено процеси утворення негативних іонів молекулярних компонентів нуклеїнових кислот в інтервалі енергій електронів 0–12 (?) еВ. Показано, що процеси утворення негативних іонів мають резонансний характер і супроводжуються дисоціацією молекул навіть при енергіях, менших за пороги збудження та іонізації. Вперше у прямому експерименті визначено абсолютні величини повних перерізів утворення негативних іонів для пуринових основ аденіну і гуаніну.
8. На основі співставлення теоретичних розрахунків характеристик нейтральної та аніонної форм компонентів нуклеїнових кислот із експериментальними результатами визначено домінуючі канали дисоціації

негативних іонів біомолекул. Аніоноутворення, яке моделює електронне захоплення, супроводжується збуренням коливної структури, що вказує на реалізацію у даних сполуках механізмів коливально-збудженого резонансу.

9. Фізичні процеси, ініційовані впливом низькоенергетичного випромінювання у біоорганічних структурах, можуть призвести до різноманітних біофізичних наслідків. Зокрема, електрони, руйнуючи молекули основ, викликатимуть появу точкових мутацій: делецій, трансверсій, транзицій. Порушення процесів транскрипції і трансляції може спричинити генотоксичні і мутагенні ефекти у клітинах, генетичні і соматичні зміни організму. Збільшення кількості іонізованих біомолекул та їх фрагментів підвищуватиме чутливість живих клітин до зовнішніх електромагнітних полів.
10. У роботі вперше отримані плівки цитозину, гуаніну та їх комплексу методом вакуумного термічного напилення. Також вперше виміряні інфрачервоні спектри поглинання контрольних та підданих дії ультрафіолетового світла ($E=3,68$ eV) плівок у діапазоні від 1100 до 3600 см⁻¹. З'ясовано, що в усіх плівках наявні різнотипні гідратовмісні асоціати. Запропоновано можливі механізми впливу ультрафіолету з $E=3,68$ eV на дані плівки: опромінення провокує перерозподіл відносного вмісту гідратоасоціатів азотистих основ, імовірно за рахунок УФ-стимульованої додаткової абсорбції плівками молекул води з повітря.
11. Виконане квантово-хімічне вивчення різнотипних асоціатів цитозину для моделювання міжмолекулярних взаємодій у плівках. Встановлено, що розраховані частоти та інтенсивності нормальних коливань суттєво залежать від кількості молекул в асоціаті. Важливо, що при збільшенні кількості молекул в асоціаті зростає інтенсивність поглинання у довгохвильовій області ($E < 4$ eV), що вказує на можливість прямої дії на досліджувані молекули ультрафіолету даного діапазону.

1. Досліджено фотолюмінесценцію розчинів цитозину та гуаніну при одночасній дії випромінювання ксенонової лампи з довжиною хвилі $\lambda = 280$ нм та лазера з довжиною хвилі $\lambda = 530$ нм. Для спектрів люмінесценції характерним є наявність широкого максимуму в інтервалі 365 – 380 нм (флуоресценція) та додаткового максимуму при довжині хвилі $\lambda \sim 410$ нм (фосфоресценція). Зазначено, що метастабільні триплетні стани відіграють ключову роль у фотохімії азотистих основ нуклеїнових кислот. Показано, що рН розчинів помітно впливає на розташування максимумів та інтенсивність фотолюмінесценції цитозину та гуаніну.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Kuzin, A. Electromagnetic information in the phenomenon of life // *Biofizika*. 2000. V. 45. P. 144-147.
2. Шафраньош М.І., Суховія М.І., Шафраньош І.І. Молекулярні механізми впливу низькоенергетичних факторів довкілля на біологічні структури ; монографія. Ужгород : Видавництво УжНУ «Говерла», 2022. 338 с. ISBN 978-617-7825-74-5.
3. Шафраньош І.І., Суховія М.І., Шафраньош М.І. Фізичні поля і живі організми : підручник для студентів спеціальності «Біомедична інженерія». Ужгород : Видавництво УжНУ «Говерла», 2021. 213 с.
4. Шафраньош І.І., Шафраньош М.І. Електронні зіткнення : підручник. Ужгород : Гражда, 2016. 256с
5. Montagnier L., Aissa J., Del Giudice E., Lavallee C., Tedeschi A., Vitiello G. DNA waves and water // *J. Phys.: Conf. Ser.* 2011. V. 306, № 1. P. 012007.
6. Fielden E.M., Lillicrap S.C. Excited states and energy transfer in biomolecular systems // *Curr. Top. Radiat. Res.* 1974. V. 7. P. 138–180.
7. Markovitsi D., Gustavsson T., Talbot F. Excited states and energy transfer among DNA bases in double helices // *Photochemical & Photobiological Sciences*. 2007. Issue 7, P. 717–724.
8. Ladic J., Suhai S., Seel M. Electronic structure of biopolymers and possible mechanisms of chemical carcinogenesis // *Int. J. Quant. Chem.* 1978, № 5. P. 35–49.
9. Middleton C.T., La Harpe K., Su Ch., Crespo-Hernandez C.E., Cohen B., Kohler B. DNA excited-state dynamics: from single bases to the double helix // *Phys. Chem.* 2009. V.60. P. 217–239.
10. Curutchet C., Voityuk A.A. Triplet-triplet energy transfer in DNA: A process that occurs on the nanosecond timescale // *Angewandte Chemie Internat. Edition*. 2011. V. 50, № 8. P. 1820–1822.

11. Kupperman A., Raff L.M. Excited states produced by low energy electrons // *Phys. Processes in radiat. biol.* Ed. G.G. Augenstein. New York: Acad. Press. 1964, P. 161–182.
12. Brocklehurst B. Radiation damage in DNA: Possible role of higher triplet states // *Rad. Res.* 2001. – V. 155, № 4. P.637–640.
13. Smith G.J. The triplet state of DNA excited by X rays // *Rad. Res.* 1976. V. 68, № 1. P. 163–166.
14. Gribova Z.P., Kayushin L.P. Electron Spin Resonance of the Excited Triplet State of Biologically Important Molecules // *Russian Chemical Reviews.* 1972. V. 41, № 2. P. 154–173.
15. Kokoouline V., Greene C.H. Electron-impact excitation of interstellar molecules // *Phys. Rev. A.* 2003. V. 68. P. 012703–012709.
16. Pilling S., Andrade D.P.P., de Castilho R.B. Survival of gas phase amino acids and nucleobases in space radiation conditions // *Organic matter in Space : Proc. IAU Symp.* 2008. V. 4, № 251. P. 371–376.
17. International Commission on Radiation Units and Measurements // *ICRU Report 31.* ICRU: Washington. DC. 1979.
18. Frongillo Y., Goulet T., Fraser M.J., Cobut V., Patau J.P., Jay-Gerin J.P. Monte Carlo simulation of fast electron and proton tracks in liquid water – II. Nonhomogeneous chemistry // *Radiat. Phys. Chem.* 1998. V. 51. P. 229–243.
19. Kuzin A., Surkenova G. Secondary biogenic radiation of human body // *Radiatsionnaia biologiiia, radioecologiiia.* Rossiiskaia akademiia nauk. 1999. V.39, №1. P. 84–72.
20. A. Charlesby. *Atomic Radiation and Polymers.* New York: Pergamon Press, 1960. 556 p.
21. Sonntag C. *The chemical basis of radiation biology.* London: Taylor&Francispress, 1987. 87 p.
22. Korolev A.N., Sinyukov V.A., Simonov K.G. Bogdanovich B.Yu. The application of low-energy electron beams in technology and medicine //

Proceedings of the 1999 Particle Accelerator Conference, March 29th - April 2nd, 1999, New York, 1999. P. 2570-2572.

23. Суховия М.И., Шафраньош И.И. О возбуждении азотистых оснований нуклеиновых кислот низкоэнергетическими электронами // В кн. Механизмы радиационного повреждения и восстановления нуклеиновых кислот, Пушино, 1980, С. 51.
24. Суховия М.И., Шафраньош И.И. Особенности образования возбужденных состояний молекул оснований нуклеиновых кислот при воздействии медленными электронами и лазерным излучением // Тез. докл. I Всесоюзного биофизического съезда, Москва, 1982. Т. 4. С. 216.
25. Суховия М.И., Шафраньош И.И., Запесочный И.П. Возбуждение молекул аденина электронами // Тез. докл. IX Всесоюзной конференции по физике электронных и атомных столкновений. Часть 2, Рига, 1984, С. 63–65.
26. Суховия М.И., Шафраньош И.И. Возбуждение молекул оснований нуклеиновых кислот электронами // В кн. Элементарные процессы при столкновении атомных и молекулярных частиц, Чебоксары, 1987. С. 121–124.
27. Sukhovija M.I., Slavik V.N., Shafranyosh I.I., Shimon L.L. Interaction of nucleic acid bases molecules with low-energy electrons // Biopolym. Cell. 1991. V. 7, № 6. С. 77–82.
28. Yanson I.K., Teplitsky A.B., Sukhodub L.F. Experimental studies of molecular interactions between nitrogen bases of nucleic acids // Biopolimers. 1979. V. 18, № 5. P. 1149–1170.
29. Shafranyosh I.I., Shafranyosh M.I., Sukhoviya M.I. Absolute cross section of positive and negative ions production in electron collisions with cytosine molecules // J. Phys. B. 2006. V. 39. P. 4155–4162.
30. Illenberger E., Momigny J. Gaseous molecular ions: an introduction to elementary processes induced by ionization // Darmstadt: Steinkopff; New York: Springer, 1992. 344 p.

31. Blumthaler M., Ambach W. Indication of increasing solar ultraviolet-B radiation flux in alpine regions // *Science*. 1990. V. 248. P. 206–208.
32. Crutzen P.J., Björnand L.O., Caldwell M.M. Ultraviolet on the increase // *Nature*. 1992. V. 356. P. 104–105.
33. McKenzie R.L. Changes in biologically active ultraviolet radiation reaching the Earth's surface // *J. Photochem. Photobiol. B*. 1998. V.46. P. 5–19.
34. Sinha S.R.P., Häder D.P. UV-induced DNA damage and repair: a review // *Photochem. Photobiol. Sci.* 2002. V.1. P. 225–236.
35. Суховия М.И. К оценке повреждающего действия ионизирующих лучей разных энергий на структуру ДНК // *Сб. Действие физ. агентов на орг.* Одесса, 1972. С. 625-626.
36. Суховия М.И., Ковальчук А.В. Сравнительное изучение действия гамма-лучей бетатрона и рентгеновских на структуру тимусной ДНК // *Кн. Проблемы патологии в эксперименте и клинике. Медицина, М., 1974. С.31–38.*
37. Суховия М.И. Динамика изменений вторичной люминесценции лейкоцитов периферической крови после рентгеновского облучения // *Радиобиология*. 1974. Т. 14, № 3. С. 441–443.
38. Суховия М.И., Ковальчук А.В., Трифионов Э.Н. Действие ионизирующих электромагнитных излучений на ДНК в растворе и на белые клетки крови // *Доклады АН СССР*. 1975. Т. 225, № 5. С. 1202–1205.
39. Суховия М.И., Осипенко А.П. Об изменениях вторичной люминесценции лейкоцитов периферической крови после гамма- и рентгеновского облучения // *Кн. Актуал. вопр.мед. магнитобиол. Саранск, 1977. С. 44–45.*
40. Martin F., Burrow P.D., Cai Z., Cloutier P., Hunting D., Sanche L. DNA strand breaks induced by 0–4 eV electrons: the role of sharp resonances // *Phys. Rev. Lett.* 2004. V. 93, № 6. P. 68101–68104.

41. Abouaf R., Pommier J., Dunet H. Negative ions in thymine and 5-bromoouracil produced by low energy electrons // *Int. J. Mass Spectrom.* 2003. V. 226. P. 397–403.
42. Abdoul-Carime H., Gohlke S., Fischbach E., Scheike J., Illenberger E. Thymine excision from DNA by subexcitation electrons // *Chem. Phys. Lett.* 2004. V. 387. P. 267–270.
43. Huber D., Beikircher M., Denifl S., Zappa F., Matejcik S., Bacher A., Grill V., Märk T.D., Scheier P. High resolution dissociative electron attachment to gas phase adenine // *J. Chem. Phys.* 2006. V.125. P. 084304-1–084304-7.
44. Coggle J.E. *Biological Effects of Radiation.* New York: International Publications Service Taylor & Francis, 1983. 247 p.
45. Kudryashov Yu.B. *Radiation Biophysics (Ionizing Radiations).* New York: Nova Science Publishers, Inc., 2008. 327 p.
46. Byakov V.M., Stepanov S.V. The mechanism for the primary biological effects of ionizing radiation // *Physics-Uspekhi*, V. 49, №5. P. 469–488.
47. Dertinger H, Jung H. *Molecular Radiation Biology.* London: Hodder & Stoughton Ltd; New Ed edition. 1972. 250 p.
48. Пикаев А.К. *Современная радиационная химия. Радиолиз газов и жидкостей.* Москва: Наука, 1986. 440 с.
49. Miterev A.M. Theoretical aspects of the formation and evolution of charged particle tracks // *Physics-Uspekhi.* 2002. V. 45, №10. P. 1019–1050.
50. Mozumder A., Magee J.L. Model of tracks of ionizing radiations for radical reaction mechanisms // *Radiat. Res.* 1966. V. 28. P. 203–214.
51. Yarmonenko S.P. The Problems of Radiobiology at the End of the 20th Century. *Radiation biology. Radioecology.* 1997. V.37, № 4. P. 488–493.
52. Hart E. J., Anbar M. *The Hydrated Electron.* New York: John Wiley and Sons. 1970. 267 p.
53. Фриш С.Э. *Оптические спектры атомов.* Москва: Физматиздат, 1963. 640 с.
54. Massey H. *Negative ions.* London: Cambridge University Press, 1976. 754 p.

55. Друкарев Г.Ф. Столкновения электронов с атомами и молекулами. Москва: Наука, 1978. 255 с.
56. Полякова А.А., Хмельницкий Р.А. Масс-спектрометрия в органической химии. Ленинград: Химия, 1972. 392 с.
57. Slavik V.N., Chavarga N.N., Fel'tsan P.V., Aleksakhin I.S. Mass-spectrometric study of dissociative ionization of CF₄ molecules by the electronic shock// Zhurnal Tekhnicheskoi Fiziki. 1987. V. 57, № 12. P. 2409–2411.
58. Khvostenko V.I., Tolstikov Genrikh A. Application of the Mass Spectrometry of Negative Ions to Organic Chemistry. 1976. Russ. Chem. Rev. V. 45, №2. P.127–141.
59. Данилевский Н.П., Копе В.Т., Рапп И.Ю., Коваль А.Г. Образование возбужденных атомарных и молекулярных фрагментов в элементарных процессах взаимодействия электронов со сложными молекулами // Элементарные процессы при столкновении атомных и молекулярных частиц. Чуваш. ун-т. Чебоксары, 1987. С. 113–121.
60. Борисевич К.А. Возбужденные состояния сложных молекул в газовой фазе. Минск : Наука и техника, 1967. 360 с.
61. Vladimirov Y.A., Sherstnev M.P. Biophysical chemiluminescent analysis. London: Harwood Academic Publishers GmbH, 1991. 43 p.
62. Frank-Kamenetskii M.D. DNA and RNA, Biophysical Aspects // Encyclopedia of Condensed Matter Physics, 2005, P. 463–472.
63. Желтовский Л.В., Данилов В.И. Квантово-механическое изучение УФ спектров поглощения нуклеотидных оснований // Биофизика. 1974. Т. 19, № 5. С. 784–789.
64. Рубин А.Б. Биофизика: в 2 т. Москва: Наука, 1987. 449 с.
65. Bersuker Isaac B. Electronic Structure and Properties of Transition Metal Compounds: Introduction to the Theory. Ney Jersey: Wiley-Interscience. 1996. 696 p.

66. Sontag W., Weibezahn K.F. Absorption of DNA in the region of vacuum-uv (3-25 eV) // *Rad. and Environm. Biophysics*. 1975. V. 12, № 3. P. 169–174.
67. Чибисов А.К. Триpletные состояния и их участие в фотохимических реакциях переноса электрона // *Химия высоких энергий*. 1976. Т. 10, № 1. С. 3–14.
68. Грузинский В.В., Кухто А.А. Теоретическое изучение возбуждения паров сложных органических молекул мощным электронным пучком // *Журн. прикл. спектроскопии*. 1987. № 3. С. 409–417.
69. Vigny P., Ballini J.P. Excited states of nucleic acids at 300K and electronic energy transfer // *Excited States Org. Chem. and Biochem*. Dordrecht-Boston. 1973. P. 1–13.
70. Eisinger J., Gueron M., Shulman R.G., Yamane T. Excimer fluorescence of dinucleotides, polynucleotides and DNA // *Proc. Nat. Acad. Sci*. 1966. V. 55. P. 1015–1020.
71. Радченко Е.Д., Плохотниченко А.М., Шеина Г.Г., Благой Ю.П. Инфракрасные и электронно-колебательные спектры аденина и его производных в матрице аргона // *Биофизика*. 1984. Т. 29, № 4. С. 553–559.
72. Киселева М.Н., Зароченцева Е.П., Додонова Н.Я. Спектры поглощения нуклеиновых кислот и родственных им соединений в спектральной области 120-280 нм // *Биофизика*. 1975. Т. 20, № 4. С. 561–565.
73. Виноградов И.П., Земских В.В., Додонова Н.Я. Спектры поглощения оснований нуклеиновых кислот (110-300 нм) и их люминесценция, возбуждаемая в вакуумной ультрафиолетовой области // *Оптика и спектроскопия*. 1974. Т. 36, № 3, С. 596–599.
74. Гуменюк В.А. Кристаллизация гуанина под влиянием воды: спектры поглощения в инфракрасном и ультрафиолетовом диапазонах // *Биофизика*. 1980. Т. 25, № 5. С. 793–798.

75. Blagoy Yu. P., Levitsky I.A., Rubin Yu.V. Spectra-kinetic investigation poly(G) and DNA with luminescence probes: energy migration and changes of structure at low temperatures // *J. Mol. Struct.* 1993. V. 294. P. 123–126.
76. Lamola A.A., Eisinger J. Excited states of nucleotides in water at room temperature // *Biochim. Biophys. Acta.* 1971. V. 240. P. 313–325.
77. Рубин Ю.В., Егупов С.А. Влияние межмолекулярных взаимодействий на электронно-возбужденные состояния компонентов нуклеиновых кислот // *Биофизика.* 1987. Т. 32, № 3. С. 378–382.
78. Морозов Ю.В., Бажулина Н.П. Электронное строение, спектроскопия и реакционная способность молекул. Нуклеиновые основания, витамины В₆ и их аналоги // Москва: Наука, 1989. 348 с.
79. Clark L.B., Peschel G.G., Tinoko J.J. Vapor spectra of some purine and pyrimidine bases // *J. Phys. Chem.* 1965. V.69. P.3615–3618.
80. Малеев В.Я., Тодоров И.Н. О принципиальной возможности определения последовательности нуклеотидов в полинуклеотиде по его колебательному спектру // *Биофизика.* 1965. Т. 10, № 2. С. 221–225.
81. Малеев В.Я., Семенов М.А. Гиперхромизм нуклеиновых кислот в инфракрасной области // *Биофизика.* 1971. Т. 16, № 3. С. 389–397.
82. Belokour Ye.L., Dovbeshko G.I., Litvinov G.S. Experimental and computer modelling of vibrational spectra of heterogenous complexes of biological macromolecules // *J. Mol. Struct.* 1992. V.267. P. 61–66.
83. Запесочный И.П., Скубенич В.В. О сечениях возбуждения уровней молекулярного азота столкновениями электронов // *Оптика и спектроскопия.* 1966. Т. 21, № 2. С. 140–145.
84. Скубенич В.В. Сечения возбуждения уровней окиси углерода столкновениями электронов // *Оптика и спектроскопия.* 1967. Т. 23, № 9. С. 990–995.
85. Скубенич В.В. Возбуждение молекулярного кислорода электронами малых энергий // *Оптика и спектроскопия.* 1968. Т. 25, № 2. С. 169–177.

86. Сушанин И.В. Экспериментальное исследование эмиссий радикалов диссоциативного возбуждения молекул электронным ударом // дис. канд. физ.-мат. наук : 01.03.02. Ужгород, 1974. 187 с.
87. Коппе В.Т., Данилевский Н.П., Коваль А.Г., Пилипенко Д.В. Исследование возбуждения молекул CH_4 и C_2H_2 электронным ударом // Оптика и спектроскопия. 1974. Т. 36, № 3. С. 601–603.
88. Грузинский В. В., Казаков С.М., Сурков В.А. Неупругие столкновения электронов с многоатомными органическими молекулами // Физ. электрон. и атом. столкн. 1991. №12. С. 89–102.
89. Грузинский В.В., Капутерко М. М. Флуоресценция паров антрацена в объёмном разряде, инициируемом пучком электронов // Докл. АН БССР. 1988. № 9. С. 809–811.
90. Грузинский В.В., Кухто А.В. Люминесценция растворов сложных органических соединений при воздействии мощным пучком электронов // Ж. прикл. спектроскопии. 1989. Т. 50, № 2. С. 232–236.
91. Gaynay S.P. Model study of vibrational excitation in electron-polyatomic molecule collisions // Z. Phys. B. 1990. V. 23, № 17. P. 3041–3056.
92. Rao V.S., Srivastava S.K. Total and partial ionization cross sections of NH_3 by electron impact // Z: Phys.B. 1992. V. 25, № 9. P. 2175–2187.
93. Johnson D.F. The interactions of 25 keV electrons with guanine and cytosine // Rad. Res. 1972. V. 49. P. 63–84.
94. Isaacson M. The interactions of 25 keV electrons with the nucleic acid bases, adenine, thymine and uracil // J. Chem. Phys. 1972. V. 56. P. 1813–1819.
95. Sukhovija M.I., Voshchepinec E.I., Shafranyosh M.I., Shimon L.L. Electron-impact excitation and ionization of the adenine // Biopolymers and Cell. 1996. V. 12, № 3, P. 97–100.
96. Суховія М.І., Шафраньош І.І., Шимон Л.Л. Дослідження збудження і іонізації основ нуклеїнових кислот електронним ударом // Вісник

- Харківського Національного Університету (ХНУ). Біофізичний вісник. 1999. № 3 (1). С. 39–41.
97. Sukhoviya M.I., Shafranyosh M.I., Shafranyosh I.I. Spectral investigation of the electron-impact excitation of the nucleic acid base molecules // In: Spectroscopy of Biological Molecules: New Directions. Kluwer Academic Publishers (Dordrecht / Boston/ London), Edited by J. Greve, G. Puppels, C. Otto. 1999. P. 281–282.
 98. Шафраньош І.І., Петрушко І.А., Славик В.М., Суховія М.І. Структурні зміни азотистих основ нуклеїнових кислот, викликані низькоенергетичними електронами // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія фізика. 2000. № 6. С. 259–263.
 99. Shafranyosh I.I., Sukhoviya M.I. Electron impact excitation of gas-phase thymine molecules // Optics and Spectroscopy. 2007. V. 102. P. 500–502.
 100. Суховія М.І. Фізичні процеси в біомакромолекулах, викликані електронним ударом, та їх біофізична роль // Вісник Харківського Національного Університету (ХНУ.) Біофізичний вісник. 2001. № 1 (8). С. 34–36.
 101. Стецович В.В., Павлючок–Гогерчак О.В., Суховія М.І., Шваб Р.Л., Шафраньош І.І. Про радіобіологічне значення повільних електронів // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія біологія. 2010. № 27. С. 198–201.
 102. Shafranyosh I.I., Stetsovich V.V, Chavarga N.N. & Sukhoviya M.I. Electron impact excitation of luminescence of uracil // Optics and Spectroscopy. 2012. V. 112, P. 155–158.
 103. Sukhoviya, M.I., Shafranyosh, M.I., Margitich, M.O., Shafranyosh, I.I. Negative ions formation of the cytosine molecule by electron impact // Biopolymers and Cell. 2005, V. 21, № 6. P. 531–535.
 104. Суховія М.І., Шимон Л.Л., Шафраньош М.І., Маргітич М.О., Шафраньош І.І. Експериментальне визначення перерізів утворення додатніх іонів молекули цитозину та її фрагментів повільними електронами // Вісник

- Харківського Національного Університету. Біофізичний Вісник. 2005. Т. 2, № 16. С. 19–24.
105. Shafranyosh, M.I., Sukhoviya, M.I., Shimon, L.L., Shafranyosh, I.I. Absolute cross sections for the electron-impact formation of cytosine anions // *Technical Physics Letters*. 2005. V. 31, № 12. P. 1071–1073.
106. Shafranyosh I.I., Sukhoviya M.I., Shafranyosh M.I., Shimon L.L. Formation of positive and negative ions of thymine molecules under the action of slow electrons // *Technical Physics*. 2008. V. 53, № 12. P. 1536–1540.
107. Шваб Р.Л., Минда І.Ю, Стецович В.В., Стукалов О.М., Суховія М.І., Шафраньош І.І. Експериментальне та квантово-хімічне моделювання процесів утворення позитивних і негативних іонів аденіну електронним ударом // *Вісник Черкаського університету. Серія хімічні науки*. 2010. № 175. С. 54–57.
108. Суховія М.І., Медулич В.В., Шафраньош І.І. Іонізація молекул урацилу електронним ударом // *Науковий вісник УжНУ. Серія Фізика*. 2007. № 20. С. 46–49.
109. Peng S., Padva A., Lin J. Ultraviolet photo-electron studies of purines and halouracil // *Biopolimers*. 1978. V. 17, № 6. P. 1523–1530.
110. Морозов Ю.В., Бажулина Н.П. Электронное строение, спектроскопия и реакционная способность молекул. Нуклеиновые основания, витамины В6 и их аналоги. Москва: Наука, 1989. 288 с.
111. Агроскин Л.С., Королев Н.В., Кулаев И.С., Мейсель М.Н. Об ультрафиолетовой флуоресценции нуклеиновых кислот и полифосфатов // *Докл. АН СССР*. 1960. Т. 131, № 6. С. 1440–1443.
112. Poltev V.I., Kosevich M.V., Shelkovskii V.S., Pashinskaia V.A., Gonzales E.J., Teplukhin A.V., Malenkov G.G. The mechanism of tautomeric transitions of nucleic acid bases with limited access to water molecules // *Molekuliarnaia Biologiia*. 1995. V. 29, № 2. P. 376–382.

113. Гуменюк В.А., Сухоруков Б.И., Хоменко В.Г. ИК-спектроскопическое и рентгенографическое исследование влияния паров воды на структуру и переход аморфное состояние – кристалл пиримидиновых оснований нуклеиновых кислот // Биофизика. 1976. Т. 21, № 4. С. 597–602.
114. Волкова С.Е., Славик В.Н., Суховия М.И., Чаварга Н.Н., Шафраньош И.И. Масс-спектрометрические исследования оснований нуклеиновых кислот // Тез. докл. конф. по применению масс-спектрометрии в биологии и медицине. Харьков, 1989. С. 109–110.
115. Шваб Р.Л., Шафраньош М.І., Стецович В.В., Суховія М.І., Шафраньош І.І. Про утворення позитивних і негативних іонів молекул аденіну, викликане повільними електронами // Науковий вісник УжНУ. Серія Фізика. 2009. № 25. С. 195–201.
116. Pearse R.W., Gaydon A G. The Identification of Molecular Spectra. London: Chapman, 1963. 562 p.
117. Герцберг Г. Электронные спектры и строение многоатомных молекул. М.: Мир, 1969. 772 с.
118. Гурвич Л.В., Караченцев Г.В., Кондратьев В.Н. и др. Энергии разрыва химических связей. Потенциалы ионизации и сродство к электрону. М.: Наука, 1974. 351 с.
119. McDaniel Earl W. Collision Phenomena in Ionized Gases. Ney York: John Wiley & Sons, 1964. 783 p.
120. Веркин Б.И., Суходуб Л.Ф., Янсон И.К. Потенциалы ионизации азотистых оснований нуклеиновых кислот // ДАН СССР. 1976. Т. 228. С. 1452–1455.
121. Веркин Б.И., Янсон И.К., Суходуб Л.Ф., Теплицкий А. Б. Взаимодействия биомолекул. Новые экспериментальные подходы и методы. Київ: Вищ. шк., 1985. 240с.

122. Веркин Б.И., Суходуб П.Ф., Янсон И.К. Масс-спектрометрические исследования стопочных взаимодействий нуклеотидных оснований в вакууме // ДАН СССР. 1979. Т. 245, № 4. С. 981–984.
123. Skubenich V.V., Zapesochnyi I.P. Excitation of diatomic molecules by collisions with monoenergetic electrons // High Energy Chem. 1975. V. 9, № 5. P. 339–346.
124. Кузьма В.В., Шафраньош М.І., Митропольський І.Є., Суховія М.І., Свіда Ю.Ю., Шафраньош І.І. Люмінесценція молекул азотистої основи урацилу в різних фазових станах під дією електронного пучка // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія : Фізика. 2018. Т. 43. С. 117–124.
125. Chernyshova I.V., Kontros J. E., Markush P. P., Borovik A. A., Shpenik O. B. Electron-impact excitation of gas-phase uracil // XXVII ICPEAC, 27 July – 2 Aug 2011, Belfast, Northern Ireland, UK, 2011. P. Fr052.
126. Суховія М.І., Шафраньош І.І., Шимон Л.Л. Іонізація азотистих основ нуклеїнових кислот електронним ударом // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Фізика. 1998. № 3. С. 51–52.
127. Shafranyosh M.I., Zapotokova M., Sukhoviya M.I., Petrulyak V.I., and Shafranyosh I.I.. Electronic Ionization of Cytosine Molecules // Surface Engineering and Applied Electrochemistry. 2022. V. 58, № 1. P. 82–86.
128. Шафраньош М.І., Суховія М.І., Шимон Л.Л., Шафраньош І.І. Резонансне утворення негативних іонів молекул урацилу // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Фізика. 2008. № 23. С. 85–90.
129. Суховія М.І., Шваб Р.Л., Шафраньош М.І., Павлючок-Гогерчак О.В., Стецович В.В., Шафраньош І.І. Деякі фізичні аспекти радіаційних змін біомолекулярних структур // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Фізика. 2010. № 28. С. 82–86.
130. Стецович В.В., Суховія М.І., Чаварга М.М., Федорко Р.О., Мінда І.Ю., Шафраньош І.І. Емісійний спектр урацилу, ініційований повільними електронами // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Фізика. 2011. № 30. С. 234–238.

131. Sukhoviya M.I., Shafranyosh M.I., Chavarga M.M., Shafranyosh I.I. Electron impact ionization and excitation of uracil molecules // *Ukr. J. Phys.* 2012. V. 57, № 7. P. 752–760.
132. Shafranyosh I.I., Sukhoviya M.I. Inelastic collisions of the uracil molecules with electrons // *J.Chem.Phys.* 2012. V. 137, Issue 18. P. 184303-1–184303-6.
133. Шафраньош М.І., Хмара І.Ю., Суховія М.І., Головня М.С., Шафраньош І.І. Фрагментація молекул цитозину під дією електронного удару // *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Фізика.* 2013. № 33. С. 137–141.
134. Шафраньош М.І., Жиган А.В., Свида Ю.Ю., Суховія М.І., Сільваші В.С., Шафраньош І.І., Мінаєв Б.П., Баришніков Г.В., Мінаєва В.А. Іонізація молекул гуаніну в зіткненнях з електронами // *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Фізика.* 2014. № 36. С. 137–143.
135. Minaev B.F., Shafranyosh M.I., Svida Y.Y., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I., Barysh-nikov G.V., Minaeva V.A. Fragmentation of the adenine and guanine molecules induced by electron collisions // *J. Chem. Phys.* 2014. V.140. P. 175101-1–175101-15.
136. Shafranyosh, I. I.; Svida, Yu. Yu.; Sukhoviya, M. I.; Shafranyosh, M. I.; Minaev, B. F.; Baryshnikov, G. V.; Minaeva, V. A. Absolute effective cross sections of ionization of adenine and guanine molecules by electron impact. // *Technical Physics.* 2015. V. 60, № 10. P. 1430–1436.
137. Свида Ю.Ю., Суховія М.І., Маргітич М.О., Шафраньош М.І., Шафраньош І.І. Спектр свічення електричного розряду в парах аденіну // *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Фізика.* 2015. № 38. С. 33–37.
138. Шафраньош І.І., Свида Ю.Ю., Суховія М.І., Шкиндя В.Ю., Шафраньош М.І. Спектр свічення електричного розряду в парах цитозину // *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Фізика.* 2016. № 39. С. 88–92.
139. Суховія М.І., Шевера В.С. Инициирование лазерным излучением дефектов вторичной структуры ДНК / М.И. Суховия // *Биофизика.* 1980. Т. 25, № 5. С. 913–914.

140. Петрушко І.А., Суховія М.І. Квантовохімічне вивчення аніоноутворення в тимідині та 5-бромуридині // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Фізика. 2007. № 20. С. 39–45.
141. Свида Ю.Ю., Шафраньош М.І., Шамудовський Е.Ю., Перчак І.І., Маргітич М.О., Суховія М.І., Чаварга М.М., Шафраньош І.І. Люмінесценція молекул гуаніну в газовій фазі під дією пучка електронів // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Фізика. 2016. № 39. С. 106–110.
142. Shafranyosh I.I., Sukhoviya M.I. Physical processes in nucleic acid bases under electron impact and their biomedical consequences (Invited Lecture) // "From Molecules to Men"; 1 Int. Conf. on Biomed. Spectr., 7–10 July 2002, Cardiff (Wales, UK), 2002. P. 141–142.
143. Суховія М.І., Петрушко І.А., Шимон Л.Л., Шафраньош І.І. Фізичні процеси в азотистих основах нуклеїнових кислот під дією повільних електронів та їх біофізична роль // Тези доп. III з'їзду Укр. біофізичного товариства, 8–11 жовтня 2002р., Львів, 2002. С. 18.
144. Шпеник В.Ю., Шафраньош М.І., Молнар Ш.Б., Шпеник О.О., Свида Ю.Ю., Суховія М.І., Шафраньош І.І. Люмінесценція нуклеотидної основи гуаніну при різних способах збудження // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія : Фізика. 2020. №. 47. с. 112–119.
145. Шафраньош М.І. Перерізи дисоціативної іонізації в процесах зіткнень електронів з молекулами цитозину, тиміну та урацилу // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія фізика. 2009. № 25. С. 208–213.
146. Шафраньош М.І. Ефективний переріз іонізації молекул тиміну електронним ударом // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія фізика. 2006. № 19. С. 100–104.
147. Суховія М.І., Шафраньош І.І., Шимон Л.Л. Исследование возбуждения оснований нуклеиновых кислот электронным ударом // Тез. докл. VII Всес. конф. по спектроскопии биополимеров, 1–4 окт. 1991 г., Харьков, 1991. С. 236–237.

148. Суховія М.І., Шафраньош І.І., Вощепинець Є.І., Шимон Л.Л. Експериментальне вивчення збудження та іонізації нуклеотидних основ електронним ударом // Матеріали І з'їзду Українського біофізичного товариства, 20–24 червня 1994 р., Київ, 1994. С. 226–227.
149. Суховія М.І., Куделич О.І., Шафраньош І.І., Шимон Л.Л. Збудження та іонізація тиміну електронним ударом // Тези доп. ІІ з'їзду Українського біофізичного товариства, 29 червня – 3 липня 1998 р., Харків, 1998. С. 65.
150. Суховія М.І., Чічак С.О., Цуд Н.М., Кикинеші О.О. Діелектричні дослідження основ нуклеїнових кислот // Фізика біологічних систем : тези доп. міжн. конф., 6–10 вересня 1998 р., Київ, 1998. С. 147.
151. Суховія М.І., Шафраньош М.І. Возбуждение и ионизация биомолекул электронным ударом // Тез. докл. ІІ Съезда биофизиков России, 22–27 авг. 1999г. Москва, 1999. С. 164165.
152. Sukhoviya M.I. The kinetics of DNA dye interaction as a biomedical test // Int. Conf. on DNA conformation, modification and recognition in biomedicine : Book of Abstr., 2–5 July 2000, Brno, Czech Republic, 2000. P. 131.
153. Shafranyosh M.I., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I., Petrushko I.A., Medulych V.V, Fedorko R.O. Absolute cross sections of ion production in electron collision with uracil molecules // XXV ICPEAC : Book of Abstr., Freiburg, Germany, 2007. P. Fr 110.
154. Суховія М.І., Петрушко І.А. Структурні перетворення в молекулах компонентів нуклеїнових кислот при аніоноутворенні та їх біологічне значення // Тези доповідей Конференції молодих вчених і аспірантів Інституту електронної фізики НАН України, 26–26 травн. 2005 р., Ужгород, Україна, 2005. С. 146.
155. Petrushko I.A., Sukhoviya M.I., Shafranyosh M.I. Thymidine and 5-bromouridine perturbation upon anion formation. Quantum chemical study // XXV International Conference on Photonic, Electronic and Atomic Collisions : Book of Abstr., Freiburg, Germany, 2007. P. Th 069.

156. Rice J.M., Dudek G.O. Mass Spectra of Nucleic Acid Derivatives. II. Guanine, Adenine, and Related Compounds // Journal of the American Chemical Society. 1967. V. 89, № 11. P. 2719–2725.
157. Rice J.M., Dubek G.O., Barber M. Mass spectra of nucleic acid derivatives. Pyrimidines // J. of American Chemical Society. 1965. V. 20. P. 4569–4576.
158. NIST Standard Reference Database. URL : Webpage (<http://webbook.nist.gov/chemistry>). National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Spectral Database for Organic Compounds (SDBS). URL : (http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi).
159. Sukhoviya M.I., Shafranyosh M.I., Shimon L.L., Shafranyosh I.I. Formation of the cytosine positive and negative ions during the collision processes with slow electrons // XXIII Int. Conf. on Photonic, Electronic and Atomic Collision : Book of Abstr., 23–29 July 2003. Stockholm, Sweden, 2003. P. Tu 067.
160. Sukhoviya M.I., Petrushko I.A., Shafranyosh M.I., Shafranyosh I.I., Shimon L.L. Spectral study of slow electrons inelastic interactions with thymine molecules in gas phase // Book of Abstract XXVI European Congress on Molecular Spectroscopy. Villeneuve d'Ascq (France). 2002. P. 128.
161. Шевера В.С., Суховия М.И. Эксимерные лазеры и их применение // Применение лазеров в биологии : Всес. совещ.-сем : тез. лекций и докл., 24–29 сент. 1980 г., Тбилиси, 1980. С. 128–132.
162. Sukhoviya M.I., Shafranyosh M.I., Shimon L.L., Shafranyosh I.I. Excitation function of biomolecules emission by the electron impact // XXIII ICPEAC : Book of Abstr., 23–29 July 2003, Stockholm, Sweden, 2003. P. Th 074.
163. Muchichka E.J., Petrushko I.A., Pavlyuchok O.V., Sukhoviya M.I. Spectral study of the biomedical effect of Heracleum // Spectroscopy in Special Applications (SSA'2003) : Int. Sci. and Pract. Conf. : Book of Abstr., 18–21 June 2003, Kyiv, 2003. P. 86.

164. Sukhoviya M.I., Shafranyosh M.I., Shimon L.L., Shafranyosh I.I. Structural changes in biomolecules under electron impact // Проблеми біологічної і медичної фізики : I Укр. наук. конф. : тези доп., 20–22 вер. 2004 р., Харків, 2004. С. 63.
165. Суховія М.І., Шафраньош М.І., Шимон Л.Л., Шафраньош І.І. Спектральне та мас-спектрометричне вивчення процесів взаємодії повільних електронів з нуклеотидними основами // IV з'їзд Українського біофізичного товариства : тези доп., 19–21 груд. 2006 р., Донецьк, 2006. С. 321–322.
166. Петрушко І.А., Суховія М.І. Квантово-хімічне вивчення структурних перетворень в нуклеозидах при аніоноутворенні // IV з'їзд Українського біофізичного товариства : тези доп., 19–21 груд. 2006 р., Донецьк, 2006. С. 316-317.
167. Петрушко І.А., Суховія М.І., Шафраньош І.І. Роль повільних електронів у молекулярних механізмах впливу сонячної активності на біосистеми // Космос і Біосфера : VII Міжн. конф. : тез. доп., 1–6 жовт. 2007 р., Судак, Крим, С. 176.
168. Суховія М.І., Маргітич М.О., Решетар Д.В., Стан Д.П., Стецович В.В., Шафраньош І.І. Іонізація біомолекул електронним ударом та її біофізичні наслідки // Біофізичні механізми функціонування живих систем : міжнар. наук. конф., присвяч. 70-річчю від дня народження проф. О.А. Гойди : тези доп., 16–18 жовт. 2008 р., Львів, 2008. С. 11.
169. Павлючок-Гогерчак О.В., Мучичка Є.Ю., Суховія М.І. Вивчення фотодинамічної активності речовин, які містяться в рослинах роду *Heracleum* // Тези доп. міжнар. наук. конф. "Біофізичні механізми функціонування живих систем", присвяч. 70-річчю від дня народження проф. О.А.Гойди. – (16-18.10. 2008) м.Львів. – С. 32–33.
170. Суховія М.І., Ільницька Т.Н., Куртяк Ф.Ф. Вплив лазерного ультрафіолетового випромінювання на регенерацію біологічних тканин // Застосування лазерів у медицині і біології : матеріали XXXI міжн. науково-

практ. конф., 20–23 травня 2009 г., Харків, 2009. С. 126.

171. Суховія М.І., Павлючок-Гогерчак О.В., Решетар Д.В., Стецович В.В., Шваб Р.Л., Шафраньош І.І. До питання про радіобіологічне значення низькоенергетичних електронів // Матер. V з'їзду радіобіологічного товариства України, 15–18 вер. 2009 р. Ужгород, 2009. С. 57–58.
172. Суховія М.И., Маргитич Н.А., Шафраньош М.И., Стецович В.В., Стукалов О.М., Шваб Р.Л., Шимон Л.Л., Шафраньош И.И. Резонансные процессы в нуклеиновых кислотах, вызванные электронным ударом // Нанобиофизика: фундаментальные и прикладные аспекты : тезисы докл. межд. конф., 5–8 окт. 2009 г., Харьков, 2009. С. 42.
173. Суховія М.І., Стецович В.В., Чаварга М.М., Шваб Р.Л., Шафраньош І.І. Люмінесценція молекулярних компонентів нуклеїнових кислот, ініційована електронним ударом // V з'їзд Українського біофізичного товариства : тези допов, 22–25 черв. 2011 р., Світязь, Луцьк, 2011. С. 123.
174. Sukhoviya M.I., Shafranyosh M.I., Shvab R.L., Shafranyosh I.I. Excitation and ionization of uracil molecules by electron impact // Nanobiophysics: fundamental and applied aspects : Second Int. Conf. : Book of Abstr., 6–9 Oct. 2011, Kyiv, 2011. P. 123.
175. Баришніков Г.В., Мінаєв Б.П., Мінаєва В.О., Бондарчук С.В., Суховія М.І. Дослідження механізму фрагментації аніон-радикалів аденіну та гуаніну // Актуальні питання біологічної фізики і хімії : мат. VIII міжн. наук.-техн. конф., 23–27 квіт 2012 р., Севастополь, 2012. С. 129–131.
176. Суховія М.І., Богдан Е.Р., Шафраньош І.І. Біофізичні механізми впливу низькоенергетичних електронів на біоструктури // Актуальні питання біологічної фізики і хімії : мат. VIII міжн. наук.-техн. конф., 23–27 квіт 2012 р., Севастополь, 2012. С. 138-139.
177. Суховія М.І., Шафраньош М.І., Дзяпко О.В., Парлаг В.В., Свіда Ю.Ю., Шафраньош І.І. Процеси іонізації і збудження біомолекул та їх біофізичне значення // VI з'їзд Українського біофізичного товариства : тези допов., 28–

- 30 трав. 2015 р., Світязь, Луцьк, 2015. С. 76.
178. Svyda Y.Y., Shafranyosh M.I., Chavarga M.M., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I. Peculiarities of Cytosine Molecules Luminescence under Different Excitation Conditions // *Fundamental and Applied Aspects : IV Int. Conf. (Nanobiophysics 2015): Book of Abstr.*, 1–4 Oct. 2015, Kyiv, 2015. P. 60.
179. Fano U. Collective effects in absorption of energy from ionising radiation // *Comparative effects of radiation*. New York : Wiley, 1961. P. 14–21.
180. Гродзинський М.Д. Радіобіологія. Київ: Либідь, 2001. 485 с
181. Говорун Д.М., Міщук Я.Р., Харченко В.М. Нові молекулярні механізми генотоксичної дії ультрафіолетового опромінення на нуклеїнові кислоти // *Доповіді НАН України*. 1999. № 10. С. 186–190.
182. Кучеренко М. Є., Бабенюк Ю.Д., Васильєв О. М. та ін. Біохімія. К.: Видавничо-поліграф. центр «Київський університет», 2002. 480 с.
183. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот // Москва: Мир, 1987. 584 с.
184. Молекулярная биология: структура и биосинтез нуклеиновых кислот. Под ред А.С. Спирина. Москва: Высшая школа, 1990. 351 с.
185. Стриганов А.Р., Свентицький Н.С. Таблицы спектральных линий нейтральных и ионизованных атомов. Москва: Атомиздат, 1966. 899 с.
186. Bazin M., Michaud M., Sanche L. Absolute cross sections for electronic excitations of cytosine by low energy electron impact // *J. Chem. Phys.* 2010 V. 133, P. 155104–155111.
187. Brown R. D., Godfrey P.D., McNaughton D., Pierlot A.P. Microwave Spectrum of Uracil // *J. Amer. Chem. Soc.* 1998. V. 110. P. 2329–2330.
188. Minaev B.F., Yevtukhov Y.V., Minaeva V.A. Quantum-chemical modelling radiation damage of DNA components during inelastic interaction with slow electrons. Desoxyribose irradiation // *Biopolymers and Cell*. 2005. V. 21, № 4. P. 351–357.

189. Dodonova N.Ya. Vacuum UV – photophysics and photochemistry of biomolecules // *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1993. V. 18. P 111–121.
190. Говорун Д.М., Кондратюк І.В., Желтовський М.В. Нуклеотидні основи як *СН*-кислоти // *Біополімери и клітина*. 1995. Т. 11, № 5. С. 15–20.
191. Посудин Ю.И. Лазерная фотобиология. К.: ВШ, 1989. 248 с.
192. Shpenik O. B., Erdevdi M. M., Zvenigorodsky V.V., Borovik A. A. Electron Impact Excitation of Gas-Phase Adenine Molecule // XXVII ICPEAC : Book of Abstr., 27 July – 2 Aug. 2011, Belfast, Northern Ireland, UK, 2011. P. Fr054.
193. Plekan O., Feyer V., Richter R., Coreno M., de Simone M., Prince K.C. Photofragmentation of guanine, cytosine, leucine and methionine // *Chemical Physics*. 2007. V. 334, № 1–3. P. 53–63.
194. Довбешко Г. І., Гридiна Н.Я. Особливості інфрачервоних спектрів нуклеїнових кислот з пухлинних тканин // *Вісник Харківського університету. Біофізичний вісник*. 1999. Т. 450, №4. С. 85–87.
195. Shtogun Ya.V., Woods L.M., Dovbeshko G. I. Adsorption of Adenine and Thymine and Their Radicals on Single-Wall Carbon Nanotubes // *J. Phys. Chem. C*. 2007. Vol. 111, P. 18174–18181.
196. Chandra A.K. Excited states structures of molecules with nearly electronic states // *J. Mol. Struct. Theor. Chem.* 1989. V. 202, P. 249–263.
197. Garyaev P.P., Gorelik V.S., Kozulin E.A., Shcheglov V.A. Two-photon-excited luminescence of solid-state DNA // *Quantum Electron*. 1994. V. 24, № 6. P. 558–559.
198. Sinha Rajeshwar P. and Donat-P. Häder. UV-induced DNA damage and repair: a review // *Photochem. Photobiol. Sci.* 2002. V. 1, P. 225–236.
199. Шпеник В.Ю., Шафраньош М.І., Маргітич Б.М., Суховія М.І., Молнар Ш.Б., Шпеник О.О., Шафраньош І.І. Люмінесценція молекул цитозину різними способами збудження // *Міжнародна конференція молодих вчених та аспірантів “ІЕФ-2021” : Тези доповідей, 26–28 травня 2021 р., Ужгород, 2021. С. 66.*

200. Longworth J.W., Rahn R.O., Shulman R.G. Luminescence of Pyrimidines, Purines, Nucleosides and Nucleotides at 77°K. The Effect of Ionization and Tautomerization // *The Journal of Chemical Physics*. 1966. V. 45, №8. P. 2930–2939.
201. Lazurkin Y.S., Frank-Kamenetskii M.D., Trifonov E.N. Melting of DNA: its study and application as a research method // *Biopolymers*. 1970. V 9(11). P:1253–1306.
202. Klenin K.V., Vologodskii A.V., Anshelevich V.V., Dykhne A.M., Frank-Kamenetskii M.D. Computer simulation of DNA supercoiling // *J Mol Biol*. 1991 V. 5, № 217(3). P. 413–419.
203. Vologodskii A, Frank-Kamenetskii M.D. Theoretical model, its parameters and predictions: Reply to comments on "DNA melting and energetics of the double helix" // *Phys Life Rev*. 2018. № 25. P. 42–44.
204. Frank-Kamenetskii M.D., Vologodskii A.V. Thermodynamics of the B-Z transition in superhelical DNA // *Nature*. 1984. V. 307, P. 481–482.
205. Frank-Kamenetskii M.D. *Unraveling Dna: The Most Important Molecule Of Life, Revised And Updated Edition*. New York: Basic Books; Revised edition 1997. 214 p.
206. Kim Joon Nam, Kang Hyuk, Jeong Gawoon, Kim Yung Sam, Lee Kang Taek, and Kim Seong Keun. Anomalous Fragmentation of Hydrated Clusters of DNA Base Adenine in UV Photoionization // *J. Phys. Chem. A*. 2000. V. 104, P. 6552-6557).
207. Trifonov E.N. Theory of early molecular evolution: predictions and confirmations. // In: *Discovering Biomolecular Mechanisms with Computational Biology*. Molecular Biology Intelligence Unit. Springer, Boston, MA. 2006. P. 107–116.
208. Trifonov E.N. The multiple codes of nucleotide sequences // *Bulletin of Mathematical Biology*. 1989. V. 51 (4), P. 417–432.
209. Cui Feng., Zhurkin Victor B. Structure-based Analysis of DNA Sequence

- Patterns Guiding Nucleosome Positioning in vitro // Journal of Biomolecular Structure & Dynamics. 2010. V. 27 (6), P. 821–841.
210. Danilov V. I., Stewart J. J. P., Leś A., Alderfer J.L. A theoretical study of pyrimidine photohydrates and a proposed mechanism for the mutagenic effect of ultraviolet light / V.I. // Chemical Physics Letters – 2000. – Vol. 328. – P. 75 – 82.
211. Шеина Г. Г., Е. Д. Радченко, Благой Ю. П. Кето-енольная таутомерия гуанина // Докл. АН СССР. 1985. Т. 282, С. 1497–1501.
212. Grebneva H.A. Nature and possible mechanisms of formation of potential mutations arising at emerging of thymine dimers after irradiation of double-stranded DNA by ultraviolet light // Journal of Molecular Structure. 2003. V. 645, P. 133–143.
213. Желтовский Н. В., Данилов В. И. Современное состояние излучения электронных механизмов фотохимических реакций нуклеиновых кислот и их компонентов // Структура и функции биополимеров. Київ: Наук. думка, 1979. №. 23. С. 13—22.
214. Данілов В.І. Вплив гідратації на таутомерію основ нуклеїнових кислот: комп'ютерне моделювання методом Монте-Карло // Вісник ХНУ. Біофіз. Вісник. 1999. Т. 5 № 466. С. 11–20.
215. Говорун Д.М., Міщук Я.Р., Харченко В.М. Нові молекулярні механізми генотоксичної дії ультрафіолетового опромінення на нуклеїнові кислоти // Доповіді НАН України. 1999. №10. С. 186–190.
216. Говорун Д.М., Міщук Я.Р., Кондратюк І.В., Желтовський М.В. Внутрішньомолекулярні кооперативні водневі зв'язки в нуклеотидних основах // Доповіді НАН України. 1996. №8. С. 141–144.
217. Говорун Д.М. Низькоенергетична кооперативна поведінка біополімерів зумовлена колективними вібронами взаємодіями // Биополимеры и клетка. 1997. Т. 13, № 4. С. 279–284.
218. Говорун Д.Н. Як структурна мінливість азотистих основ відбивається на

- макроскопічних властивостях їх кристалів // Біополімери і клітина. 1998. Т. 12, №. 5. С. 421–427.
219. Говорун Д.М., Кондратюк І.В., Міщук Я.Р., Желтовський М.В. Нееквівалентність амінних атомів водню в канонічних нуклеотидних основах // Доповіді НАН України. 1995. №8. С.130–132.
220. Волков С. Н. Конформаційні солітони в ДНК // Тези доп. І Української конференції “Проблеми біологічної і медичної фізики”. Харків. 2004. С. 18.
221. Mozejko P., Sanche L. Cross section calculations for electron scattering from DNA and RNA bases // Radial. Environ. Biophys. 2003.V. 42, P. 201–211.
222. Рубин Ю.В., Егупов С.А. Влияние межмолекулярных взаимодействий на электронно-возбужденные состояния компонентов нуклеиновых кислот // Биофизика. 1987. Т. 32, № 3. С. 378–382.
223. Шваб Р.Л., Минда І.Ю., Стецович В.В., Стукалов О.М., Суховія М.І., Шафраньош І.І. Експериментальне та квантово-хімічне моделювання процесів утворення позитивних і негативних іонів аденіну електронним ударом // Вісник Черкаського університету. Серія Хімічні науки. 2010. № 175. С. 54–57.
224. Стариков Е. Б. Нелинейная физика нуклеиновых кислот: солитоны или автосолитоны // Молекуляр. биология. 1990. Т. 24, № 6. С. 1504–1524.
225. Хмара І.Ю., Шафраньош М.І., Суховія М.І., Шафраньош І.І., Мінаєв Б.П., Баришніков Г.В., Мінаєва В.А. Моделювання фрагментаційних процесів молекул аденіну та гуаніну в зіткненнях з електронами // Міжнародна конференція молодих учених і аспірантів ІЕФ-2013 : Тези доп., 20–23 травня 2013, Ужгород, 2013. С. 72.
226. Davis L. P. , Guidry R. M. , Williams J. R. , Dewar M. J. S. and Rzepa H. S. Comments on a comparison of AM1 with the recently developed PM3 method // J. Comp. Chem. 1981. V. 2, P. 433.
227. Lowry T. H., Richardson K. S. Mechanism and Theory in Organic Chemistry,

- third edn. // New York: Harper Collins Publications. 1987. P. 257.
228. Hobza P., Šponer J. Structure, energetics and dynamics of the nucleic acid base pairs: nonempirical Ab initio calculations // *Chemical Reviews*. 1999. V. 99, № 11. P. 3247–3276.
229. Rienstra-Kiracofe J. C., Tschumper G. S., Schaefer III H. F., Nandi S. and Ellison G. B.. Atomic and Molecular Electron Affinities: Photoelectron Experiments and Theoretical Computations // *Chem. Revs.* 2002. V. 102, P. 231–282.
230. Bernhardt Ph., Paretzke H.G. Calculation of electron impact ionization cross section of DNA using the Deutsch-Märk and Binary-Encounter-Bethe formalism // *International Journal of Mass Spectrometry*. 2003. V. 223, P. 599–611.
231. Потягайло А. Л., Степанюгін А. В., Самійленко С. П., Говорун Д.М. Протонодонорно-протоноакцепторні властивості модифікованих нуклеотидних основ та їхня комплексотворна здатність: результати квантово-хімічного дослідження кристалів // *Біополімери і клітина*. 2004. Т. 20, № 1–2. С. 61–69.
232. Adamson S., Astapenko V., Deminskii M., Eletskaa A., Potapkin B., Sukhanov L., Zaitsevskii A. Electron impact excitation of molecules: calculation of the cross section using the similarity function method and ab initio data for electronic structure // *Chem. Phys. Lett.* 2007. V. 436, P. 308–313.
233. Huber K.P., Herzberg G. *Molecular spectra and molecular structure. IV. Constants of diatomic molecules*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1979. 716 p.
234. Herzberg G. *Molecular spectra and molecular structure. III. Electronic spectra and electronic structure of polyatomic molecules*. New Jersey: Van Nostrand, 1966. 745 p.
235. Larry A. Curtiss, Krishnan Raghavachari, Paul C. Redfern, John A. Pople. Assessment of Gaussian-3 and density functional theories for a larger experimental test set (англ.) // *J. Chem. Phys.* 2000. V. 112, № 17. P. 7374–7383.
236. Becke A.D. Density-Functional Exchange-Energy Approximation with Correct

- Asymptotic Behavior. *Physical Review A*. 1998. V. 38, 3098–3100.
237. Froimowitz M. "HyperChem: a software package for computational chemistry and molecular modeling" // *Biotechniques*. 1993. V. 14 (6), P. 1010–1013.
238. Dewar M.J.S., Thiel W. The MNDO method. Approximations and parameters // *J. Am. Chem. Soc.* 1977. V. 99, № 15. P. 4899.
239. Schmidt M.W., Baldridge K.K., Boatz J.A., Elbert S.T., Gordon M.S., Jensen J.H., Koseki S., Matsunaga N., Nguyen K.A., Su, S., Windus T.L., Dupuis M., Montgomery J.A. General atomic and molecular electronic structure system // *Journal of Computational Chemistry*. 1993. V. 14, P. 1347–1363.
240. Levine I.N. *Quantum Chemistry* (5th ed.). Prentice-Hall, New Jersey, 2000. 751 p.
241. Morrison, M.A. The Physics of Low-energy Electron-Molecule Collisions // *Aust. J. Phys.* 1983. V. 36, P. 239–286.
242. Cramer, C.J. *Essentials of computational chemistry: theories and models* (2nd ed.). Wiley, Chichester, 2004. 596 p.
243. Dewar Michael J. S., Zebisch Eve G., Healy Eamonn F., Stewart James J. P. Development and use of quantum mechanical molecular models. 76. AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model // *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, V. 107, № 13. P. 3902–3909.
244. Sponer J. , Hobza P. Nonplanar geometrics of DNA bases // *Phys. Chem.* 1994. V. 98, P. 3161–3164.
245. Sorokin V. A., Valeev V. A., Usenko E. L., Blagoi Yu. P. Effect of Cd²⁺ ions on conformational equilibrium of three-stranded polyU·polyA·polyU polynucleotide under near-physiological conditions // *Biopolym. Cell.* 2007. V. 25, № 5. P. 433-440.
246. Круглова Є.Б., Довбешко Г.І. , Крутько Н.А., Пащук Є.П., Карпенко Н.А., Алесіна М.Ю., Красницька А.А. Дослідження структурних пошкоджень в молекулах ДНК з гамма-опромінених мишей // *Біофізичний вісник ХНУ*. 1999. № 450 (2). С. 92–95.

247. Толсторуков М.Е., Гасан А.И., Гаташ С.В., Малеев В.Я. Молекулярные механизмы сорбционного гистерезиса в системе ДНК-вода // Биофизика. 1997. Т. 42, № 5. С. 844–854.
248. Maleyev V.Y., Semenov M.A., Gasan A.I., Kashpur V.A. Physical properties of the DNA-water system // Biophysics. 1993. V. 38, № 5. P. 789–811.
249. Boryak O.A., Kosevich M.V., Shelkovskii V.S., Blagoi Y.P. Possibility of studying frozen solutions of nitrogenous bases by low temperature mass spectrometry with fast atom bombardment // Biophysics. 1996. V. 41, № 6. P. 1225-1231.
250. Косевич М.В. Спостереження ефектів, пов'язаних з гідратацією, в охолоджених і заморожених розчинах методом вторинно-іонної мас-спектрометрії // Біофізичний вісник ХНУ. 1998. № 449 (2). С. 5–14.
251. Kosevich M.V. Low temperature secondary emission mass spectrometry. Cryobiological applications // Europ.Mass Spectrom. 1998. V. 4, № 4. P. 251–264.
252. Blagoi Yu. P., Sheina G.G., Ivanov A.Yu., Radchenko E.D., Kosevich M.V., Shelkovsky V.S., Boryak O.A., Rubin Yu. V. Low-temperature experimental studies in molecular biophysic: review // Low Temperature Physics. 1999. V. 25, № 10. P.747–759.
253. Jochims H-W., Schwell M., Baumgärte H., Leach S. Photoion mass spectrometry of adenine, thymine and uracil in the 6 – 22 eV photon energy range // Chem Phys. 2005. V. 314, P. 263–282.
254. Lifschitz Ch., Bergman E.D., Pullman B. The ionization potentials of biological purines and pyrimidines // Tetrahedron Letters. 1967. № 46. P. 4583–4586.
255. Aflatooni K. , Gallup G.A., Burrow P.D. Electron attachment energies of DNA bases // J. Phys. Chem. A. 1998. V. 102, P. 6205–6207.
256. Huels M.A. , Hahndorf I., Illenberger E., Sanche L. Resonant dissociation of DNA bases by subionization electrons // J.Chem.Phys. 1998. V. 108, № 4. P. 1309–1312.

257. Scheer A.M., Aflatooni K., Gallup G. A., Burrow P. D. Bond breaking and temporary anion states in uracil and halouracils: implications for the DNA bases // *Phys. Rev. Lett.* 2004. V. 92, P. 068102-1–068102-4.
258. Burrow P.D., Gallup G.A., Scheer A.M., Denifl S., Ptasinska S., Märk T. D., Scheier P. Vibrational resonances in uracil and thymine // *J. Chem. Phys.* 2006. V. 124, P. 124310–124317.
259. Ptasinska S., Denifl S., Grill V., Märk T.D., Illenberger E., Scheier P. Bond- and site-selective loss of H- from pyrimidine bases // *Phys. Rev. Lett.* 2005. V. 95, P. 093201-1–093201-4.
260. Deutsch H., Hilpert K., Probst M., Märk T.D. Calculated absolute electron-impact ionization cross sections for AlO, Al₂O, and WO_x (x = 1–3) // *J. Appl. Phys.* 2001. V.89, P. 1915–1920.
261. Probst M., Deutsch H., Becker K., Märk T. D. Calculations of absolute electron-impact ionization cross sections for molecules of technological relevance using the DM formalism // *International Journal of Mass Spectrometry.* 2001. V. 206, P. 13–25.
262. Abdoul-Carime H., Limao-Vieira P., Gohlke S., Petrushko I., Mason N., Illenberger E. Sensitization of 5-Bromouridine by Slow Electrons // *Chem. Phys.* 2004. V. 297, P. 442–447.
263. Denifl S., Ptasinska S., Hanel G., Gstir B., Scheier P., Probst M., Farizon B., Farizon M., Matejcik S., Illenberger E., Märk T. D. Electron attachment to uracil, thymine and cytosine // *Phys. Str.* 2004. V. 110, P. 252–255.
264. Hanel G. I, Gstir B., Denifl S., Scheier P., Probst M., Farizon B., Farizon M., Illenberger E., Märk T. D. Electron attachment to uracil: effective destruction at subexcitation energies // *Phys. Rev. Lett.* 2003. V. 90. P. 188104-1– 188104-4.
265. Van der Burgt Peter J.M., Finnegan S. and Eden S. Electron impact fragmentation of adenine: partial ionization cross sections for positive fragments // *Eur. Phys. J. D.* 2015. V. 69, P. 173–181.

266. Feil S., Gluch K., Matt-Leuber S., Scheier P., Limtrakul J., Probst M., Deutsh H., Becker K., Stamatovic A., Mark T.D. Partial cross sections positive and negative ion formation following electron impact on uracil // *J. Phys. B.* 2004. V. 37, P. 3013–3020.
267. Deutsch H., Becker K., Matt S., Märk T. D. Calculated cross sections for the multiple ionization of neon and silicon atoms by electron impact // *Plasma Phys. Control. Fusion.* 1998. V. 40, P. 1721–1727.
268. Deutsch H., Scheier P., Matt-Leubner S., Becker K., Märk T.D. A detailed comparison of calculated and measured electron-impact ionization cross sections of atoms using the Deutsch-Mark (DM) formalism // *International Journal of Mass Spectrometry.* 2005. V. 243, P. 215–221.
269. Aflatooni K., Scheer A.M., Burrow P.D. Total dissociative electron attachment cross sections for molecular constituents of DNA // *J. Chem. Phys.* 2006. V. 125, P. 054301-1–054501-5.
270. Denifl S., Ptasinska S., Probst M., Hrusak J., Scheir P., Märk T. D. Electron attachment to the gas-phase DNA bases cytosine and thymine // *J. Phys. Chem.* 2004. V.108, P. 6562–6569.
271. Rahman M.A., Krishnakumar E. Electron ionization of DNA bases // *The Journal of Chemical Physics.* 2016. V. 144, P. 161102.
272. Peudon A., Edel S., Terrissol M.. Molecular basic data calculation for radiation transport in chromatin // *Radiation Protection Dosimetry.* 2006. V. 122, P. 128–135.
273. Bull J.N., J. Lee W.L., Vallance C. Absolute electron total ionization cross-sections: molecular analogues of DNA and RNA nucleobase and sugar constituents // *Physical Chemistry Chemical Physics.* 2014. V. 16, P. 10743–10752.
274. Huo W.M., Dateo C.E., Fletcher G.D. Molecular data for a biochemical model of DNA damage: Electron impact ionization and dissociative ionization cross

- sections of DNA bases and sugar-phosphate backbone // *Radiation Measurements*. 2006. V. 41, P. 1202–1208.
275. Vinodkumar M., Limbachiya C., Barot M., Swadia M., Barot A. Electron impact total ionization cross sections for all the components of DNA and RNA molecule // *International Journal of Mass Spectrometry*. 2013. V. 339-340, P. 16–23.
276. Champion C. Quantum-mechanical predictions of electron-induced ionization cross sections of DNA components // *The Journal of Chemical Physics*. 2013. V. 138, P. 184306.
277. Полякова А. А. Молекулярный масс-спектральный анализ органических соединений. Москва: Химия, 1983. 248 с.
278. Johnstone R.A.W. *Mass Spectrometry for Organic Chemists (Cambridge Texts in Chemistry and Biochemistry)* First Edition. Cambridge : Cambridge University Press, 1972. 185 p.
279. Хмельницкий Р.А., Б.П. Терентьев. Диссоциативная ионизация нитропроизводных аренов и гетероциклических соединений // *Успехи химии*. 1979. Т. 48, № 5. С. 854–873.
280. Zaviropulo A. N., Shpenik O. B. and Agafonova A. S. Electron impact ionization of gas-phase guanine near the threshold // *J. Phys. B: At. Mol. Opt. Phys.* 2009. V. 42 P. 025101–025106.
281. Hush N.S., Cheung A.S.. Ionization potentials and donor properties of nucleic acid bases and related compounds // *Chemical Physics Letters*. 1975. V. 34, P. 11–13.
282. Afrosimov V.V., Basalaeв A.A., Morozov Yu.G, Panov M.N., Smirnov O.V. & Tropp E.A. Fragmentation of adenine and uracyl molecules through electron captures in collisions with ions // *Technical Physics*. 2012, V. 57 P. 594–602.
283. Kaur S., Srivastava R. Excitation of the lowest autoionizing $np5(n+1)s2, 2P_{3/2,1/2}$ states of Na($n = 2$), K($n = 3$), Rb($n = 4$) and Cs($n = 5$) by electron impact // *J. Phys. B: At. Mol. Opt. Phys.* 2003. V 32, № 10. P. 2323–2342.

284. Qi J.B., Chen C.Y., Wang Y.S., Xu X.J. A fast calculation of excitation autoionization cross-sections of Na-like ions // *J. of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer*. 2002. V. 72, P. 495–502.
285. Mitnik D., Mandelbaum P., and Schwob J. L. Excitation-autoionization cross sections and rate coefficients of Cu-like ions // *Phys. Rev. A*. 1997. V. 55, P. 307–317.
286. Inokuti Mitio, Kim Yong-Ki, L. Robert Platzman. Total cross sections for inelastic scattering of charged particles by atoms and molecules. I. A sum rule for the Bethe cross sections and its application to the Helium atom // *Phys. Rev. A*. 1967. V. 164, P. 55–61.
287. Inokuti Mitio, Dehmer J.L., Baer T., Hanson J.D. Oscillator-strength moments, stopping powers, and total inelastic-scattering cross sections of all atoms through strontium // *Phys. Rev. A*. 1981. V. 23, P. 95–109.
288. Зон Б.А., Зон В.Б. Логарифмические точные сечения рассеяния быстрых электронов на атомах // *ЖТФ*. 2007. Т. 77, С. 38–41.
289. Mott N. F., and Massey H. S. W. *The Theory of Atomic Collisions*, 2nd ed. Oxford: The Clarendon Press. 1949. 388 p.
290. Шафраньош М.І.. Іонізація гетероциклічних компонент молекул ДНК і РНК електронним ударом // *Ungvári Nemzeti Egyetem Magyar Tannyelvű Humán-és Természettudományi Karának Tudományos Közleményei*. 2015. Т. 7, С. 360–367.
291. Huang J, Carman Jr. H.S., Compton R.N. Low-energy electron attachment to C60 // *J. Phys. Chem*. 1995. V. 99, № 6. P. 1719–1726.
292. Zatsarinny O., Bandurina L., Gedeon V. Electron - impact excitation of carbon // *Phys. Rev. A*. 2005. V. 71, P. 042702-1–042702-9.
293. Hypercube Inc, 419 Phillip St, Waterloo, Ont, Canada N2L 3X2 (519)725 - 4040. Info requests to: info@hyper.com Support questions to: support@hyper.com Email group: Send "subscribe hyperchem" to hyperchem-request@hyper.com WWW: <http://www.hyper.com/>

294. Abdoul-Carime H., Gohlke S., Illenberger E. Site-specific dissociation of DNA bases by slow electrons at early stages of irradiation // *Phys. Rev. Lett.* 2004. V. 92, P. 168103–168107.
295. Hujun Xie., Zexing Cao. Electron Attachment to the DNA bases adenine and guanine and dehydrogenation of their anionic derivatives: density functional study // *International Journal of Quantum Chemistry.* 2007. V. 107, P. 1261–1269
296. Bethe Hans A. and Jackiw Roman. *Intermediate Quantum Mechanics* (2nd edition). 1968. San Francisco: W.A. Benjamin, Inc. 393 p.
297. Бучельникова Н.С. Эффективные поперечные сечения захвата медленных электронов некоторыми галоидсодержащими молекулами O₂ и H₂O // *ЖЭТФ.* 1958. Т. 35, С. 1119–1129.
298. Rapp., Englander-Golden P. Total cross sections for ionization and attachment in gases by electron impact. I. Positive ionization // *J. Chem.Phys.* 1965. V 43, P. 1464–1469.
299. Abdoul-Carime H., Huels M.A., Illenberger E., Sanche L. Formation of negative ions from gas phase halo-uracils by low-energy (0-18 eV) electron impact // *Int. J. Mass Spectrom.* 2005. V. 228, P.703–716.
300. Freund R.S., Schiavone J.A., Brader D.F. Dissociative excitation of H₂: Spectral line shapes and electron impact cross sections of the Balmer lines // *The Journal of Chemical Physics.* 1976. V. 64, № 3. P. 1122–1127.
301. Рамбиди М.Г., Замалин В.М. Молекулярная микроэлектроника: физические предпосылки и возможные пути развития // *Поверхность.* 1986. № 8. С. 5–30.
302. Rowell F. Biological receptors in biosensors // *Biochem. Sec. Trans.* 1991. V. 19, № 1. P. 32–36.
303. Корпан Я.І., Гончар М.В., Стародуб М.Ф., Єльська Г.В. Біосенсори на основі клітин мікроорганізмів // *Биополимеры и клетка.* 1995. Т. 11, № 2. С. 15–28.

304. Солдаткін О. П. Біосенсор на основі уреазі з покращеною чутливістю для аналізу іонів важких металів // *Биополимеры и клетка*. 1997. Т. 13, № 5. С. 377–379.
305. Стариков Е. Б. Нелинейная физика нуклеиновых кислот: солитоны или автосолитоны // *Молекуляр. биология*. 1990. Т. 24, № 6. С. 1504–1524.
306. Евдокимов Ю.М., Скуридин С.Г., Саянов В.И., Рыбин В.К., Палумбо М. Принципы создания биодатчиков на основе жидких кристаллов нуклеиновых кислот // *Биофизика*. 1990. Т. 35, № 5. С. 731–38.
307. Edwards G., Ying G., Triable J. Role of counterfoils in the gigahertz relaxation of wet DNA // *Phys. Rev. A*. 1992. V. 45, № 12. P. 45–48.
308. Петрушко І.А., Цуд Н.М., Суховія М.І. Інфрачервона спектроскопія впливу ультрафіолету на структуру плівок цитозину, гуаніну та їх комплексу // *Вісник Харківського університету*. 2004. № 637. *Біофізичний Вісник*. № 1-2(14). С. 23–26.
309. Petrushko I.A., Sukhoviya M.I. Stacking self-association of cytosine and its manifestation in optical spectra // *Biopolym. Cell*. 2005. V. 21, № 5. P. 440–445.
310. Petrushko I.A, Tsud N.M. Sukhoviya M.I. Spectral study of UV-irradiated films of nucleobases pairs // *Book of Abstract X European Conference on the Spectroscopy of Biological Molecules, Szeget (Hungary)*., 2003. P. 144.
311. Bao J.-Zh., Davis Ch.C., Swicord M.I. Mikrowave dielectric measurements of erythrocyte suspensions // *Biophys. J*. 1994. 66, № 6. P. 2173–2180.
312. Торнуев Ю.В., Хачатрян Р.Г. Электрический импеданс биологических тканей. М.: Изд-во ВЗПИ, 1990. 154 с.
313. Андреев Е.А., Белый М.У., Ситько С.П. Реакция организма человека на электромагнитное излучение миллиметрового диапазона // *Вести. АН СССР*. 1985. № 1. С. 24–32.
314. Сташук В.Д., Тарапун В.А. Аналіз основ імпедансної томографії // *Электроника и связь*. 1997. Т. 1, № 2. С. 203–204.

315. Grigoriev Yu.G. Person in an electromagnetic field (the existing situation, expected bioeffects and an estimation of danger). *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya*. 1997. V. 37, №4. P. 690–703.
316. Чічак С.А., Суховія М.І., Шафраньош І.І., Кікінеші О.О. Вивчення дисперсії оптичних і електричних параметрів біооб'єктів для моделювання змін їх структури // *Електроника и связь*. 1996. № 1. С. 46–48.
317. Чічак С.А., Суховія М.І., Кікінеші О.О. Діелектричні дослідження структурних змін біомолекул // *Електроника и связь*. 1997. № 2 (1). С. 201–202.
318. Суховія М.І., Чічак С.О., Цуд Н.М., Кікінеші О.О. Зміна електричних параметрів азотистих основ нуклеїнових кислот після ультрафіолетового опромінення // *Електроника и связь*. 1998. № 4 (2). С. 325–328.
319. Суховія М.І., Чічак С.О., Кікінеші О.О. Діелектрометричні дослідження впливу ультрафіолетового випромінювання на водні розчини азотистих основ нуклеїнових кислот // *Біополімери і клітина*. 1999. Т. 15, № 2. С. 149–153.
320. Шафраньош І.І., Свида Ю.Ю., Шафраньош М.І., Маргітич М.О., Суховія М.І., Чаварга М.М., Маргітич Б.М., Бокоч Ю.В. Люмінесценція молекул аденіну в газовій фазі під дією пучка електронів // *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія : Фізика*. 2017. Т. 41. С. 126–131.
321. Nagy Sándor. *Dielektrometria*. Budapest : Műszaki Könyvkiadó, 1970. 191 o.
322. Шахпаронов М. И. *Механизмы быстрых процессов в жидкостях*. Москва: Высш. школа, 1980. 352 с.
323. Ахадов Я. Ю. *Диэлектрические свойства бинарных растворов*. Москва: Наука, 1977. 281 с.
324. Saenger Wolfram. *Principles of Nucleic Acid Structure (Springer Advanced Texts in Chemistry)*. Berlin : Springer, 1983. 576 p.
325. Porschke D. Elementary steps of base recognition and helix-coil transitions in nucleic acids // *Mol. Biol. Biochem. and Biophys.* 1977. V. 24, № 2. P. 191–218.

326. Богатина Н.И., Чмутов В.М. Аномалии диэлектрических свойств монокристаллов моногидрата цитозина и текстурированных поликристаллов безводного цитозина // Биофизика. 1980. Т. 25, № 4. С. 600–604.
327. Говорун Д.М., Данчук В.Д., Міщук Я.Р. Дзеркально-симетричні конформаційні стани канонічних нуклеотидних основ // Доп. АН України. 1992. № 2. С. 66–69.
328. Говорун Д.М., Данчук В.Д., Міщук Я.Р. Про неплосинність та дипольну нестійкість канонічних нуклеотидних основ, метильованих по глікозидному азоту // Доп. АН України. 1995. № 6. С. 117–119.
329. Говорун Д.М., Міщук Я.Р., Кондратюк І.В., Желтовський М.В. Динамічна стереоізомерія Уотсон-Криківських пар нуклеотидних основ // Доп. АН України. 1995. № 11. С. 121–123.
330. Brown R.D., Godfrey P.D. Tautomers of cytosine by microwave spectroscopy // J. Amer. Chem. Soc. 1989. V. 111, № 6. P. 2308–2310.
331. Sponer J., Hobza P. Nonplanar geometrics of DNA bases // Phys. Chem. 1994. V. 98, P. 3161–3164.
332. Суховія М.І. Шевера В.С. Инициирование лазерным излучением дефектов вторичной структуры ДНК // Биофизика. 1980. Т. 25, № 5. С. 913–914.
333. Shafranyosh M.I., Zapotokova M., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I., Svida Yu.Yu. Luminescence of cytosine vapor in an electric discharge // Journal of Applied Spectroscopy. 2020. V. 87, № 2. P. 256–259.
334. Patrick M., Snow J.M. Studies on thymine derived UV photoproducte in DNA // Photochem. and Photobiol. 1977. –V. 25, № 4. P. 373–384.
335. Karle I. L., Wang Ed.S.Y. Crystal and molecular structure of photo-products from nucleic acids // Photochemistry and photobiology of nucleic acids. New York: Acad press. 1976. Vol. 1, P. 483–519.
336. Bersuker I.B. The Jahn-Teller Effect and Vibronic Interactions in Modern Chemistry. 2013. New York : Springer. 319 p.

337. Павлючок–Гогерчак О.В., Стецович В.В., Суховія М.І. Молекулярні механізми фотодинамічної активності природних барвників, виділених із рослин роду *Heracleum* // Фотобиологія и фотомедицина. 2010. Т. 7, № 1. С. 88–92.
338. Суховія М.І., Марчук В.М., Павлючок-Гогерчак О.В., Шафраньош І.І. Фотодинамічна активність природних барвників із рослин роду *Heracleum* // Мат. міжн. конф. ЮНЕСКО «Букові праліси Карпат», Рахів, 26 – 29 вересня 2017. С. 134–137.
339. Суховія М.І., Бірдус С.Е., Шафраньош М.І., Балога М.Т., Шафраньош І.І. Низькоенергетичні фактори довкілля та їх біофізичне значення // Мат. міжн. конф. «Пробл. збереження гірських екосистем та сталого використання біологічних ресурсів Карпат», 22 – 25 жовтня 2018, Рахів, Івано-Франківськ, НАІР, 2018. С. 454–458.
340. Куртяк Ф.Ф., Петрушко І.А., Крочко Ю.І., Суховія М.І. Експериментальне та теоретичне вивчення посттравматичної регенерації у тритонів при дії ультрафіолетового випромінювання // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія. 2000. № 8. С. 163–165.
341. Крочко Ю.І., Куртяк Ф.Ф., Петрушко І.А., Суховія М.І. Вплив фізичних факторів на регенерацію біологічних тканин // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Медицина. 2001. № 15. С. 17–20.
342. Куртяк Ф. Ф., Петрушко І.А., Суховія М.І., Крочко Ю. І. Вплив фізичних факторів довкілля на процес регенерації біологічних тканин // Тези Доповідей III З'їзду Українського Біофізичного товариства. Львів. 2002. С. 241.
343. Бідненко В.Н., Сигал В.Л. Модель и механізми фотодинамічної терапії злякисних новоутворень // Доповіді НАНУ. 1999. № 1. С. 170–176.
344. Попов В.Д., Джоган М.Ю., Гойда І.Е., Хиль В.Ю. Механізми дії лазерного випромінювання на молекулярному, клітковому, тканинному рівні і на організм загалом // Клінічна хірургія. 1997. № 3-4. С. 92–96.

345. Ковальова А.М., Комісаренко С.М., Комісаренко А.М. Дослідження інгібуючої дії на ліпазу фурукумаринів і фурохромонів та порівняння з іншими видами біологічної активності // Фармацевтичний журн. 2001. № 2. С. 89–93.
346. Benimetskaia L.Z., Kozionov A.L., Siu N., Shtokman M.I. On mechanism of nonlinear laser cleavage of DNA // Biofizika. 1997. V. 42, №3. P. 607–610.
347. Девятков Н.Д., Зубкова СМ., Лапрун Н.Б., Макеева Н.С. Физико-химические механизмы биологического действия лазерного излучения // Успехи современной биологии. 1987. Т. 103, № 1. С. 31–43.
348. Коркушко А.О. Фізичні основи взаємодії лазерного випромінювання з біологічними об'єктами // Лікарська справа. 2001. № 4. С. 134–137.
349. Г. А. Кузнецова. Природные кумарины и фурукумарины. Л. : Наука. 1967. 249 с.
350. Nielsen, C., Ravn, H.P. , Nentwig, W. and Wade, M. (eds.). Guidelines for the management and control of an invasive weed in Europe. 2005. Forest and Landscape Denmark, Hoersholm, 44 p.
351. Суховія М.І., Бірдус С.Е., Шафраньош М.І., Свида Ю.Ю., Шафраньош І.І. Молекулярні механізми впливу повільних електронів на біологічні структури // Біофізичний вісник. 2019. № 42. С. 66–72.
352. Shafranyosh M.I., Svida Yu.Yu., Sukhoviya M.I., Shafranyosh M.I. Emission of spectral bands and lines at electron impact excitation of gas-phase guanine molecules // Book of Abstracts International Scientific Conference: «Molecular Engineering and Computational Modelling for Nano and Biotechnology: From Nanoelectronics to Biopolymers», September 25–26 2018, Cherkasy, Ukraine, 2018. P. 115–118.
353. Суховія М.І., Бірдус С.Е., Шафраньош М.І., Митропольський І.Є., Кузьма В.В., Свида Ю.Ю., Шафраньош І.І. Спектри люмінесценції основ нуклеїнових кислот у різних фазових станах під дією електронного пучка //

Тези доповідей VII з'їзду Українського біофізичного товариства (УБФТ), 29 жовтня – 2 листопада 2018, Київ – Луцьк. 2018. С. 51.

354. Sukhoviya M.I., Shastun M.O., Tretiakova T.J., Birdus S.E., Shafranyosh M.I., Tovt V.C., Semenuk K.A., Chavarga M.M., Margitych B.M., Shafranyosh I.I. Biophysical mechanisms of the influence of slow electrons on biostructures // Book of Abstracts of the 7 Int. Conf. NANOBIOPHYSICS: Fundamental and Applied Aspects, 4–8 October 2021, Kharkiv, 2021. P. 90.
355. Sukhoviya M.I., Shastun M.O., Shafranyosh M.I., Tovt V.Ch., Shafranyosh I.I. Ionization of the nucleic acid base molecules under electron impact // Book of Abstracts of the 7 Int. Conf. NANOBIOPHYSICS: Fundamental and Applied Aspects, 4–8 October 2021, Kharkiv, 2021. P. 91.
356. Shafranyosh, M.I., Zapotokova, M., Sukhoviya, M.I. et al. Electronic Ionization of Cytosine Molecules. Surf. Engin. Appl. Electrochem. 2022. 58, 82–86.
357. М.І. Шафраньош, М.І. Суховія, І.І., І.І. Шафраньош. Утворення позитивних і негативних іонів біомолекул під дією електронів // Міжнародна конференція «Ужгородська школа з атомної фізики та квантової електроніки» до 100-річчя від дня народження професора І.П. Запісочного : Тези доп., 26-27 травня 2022, Ужгород, 2022, С. 84–89.
358. Цыганенко Н.М., Киселева М.Н., Алексеев А.В., Додонова Н.Я., Чунаев А.С., Хромов-Борисов Н.Н. Фотодимеризация урацила в пленках и возможности ее применения для дозиметрии генетически активного ультрафиолетового излучения // Молекулярная биофизика. 1987. Т. 32, № 1. С. 7–11.
359. Лиознер Л.Д. Регенерация и развитие. Москва: Наука, 1982. 158 с.
360. Казначеев В.П., Михайлова Л.П. Биоинформационная функция естественных ЭМП. Новосибирск: Наука, 1985. 181с.
361. Shafranyosh, M.I., Kish, D.B. Processes of formation of positive ions at the electron - thymine molecule interactions // Bulletin of the Taras Shevchenko National University of Kyiv. Physics and Mathematics, 2019. № 2. P. 104–107.

362. Brodsky V.Y. Rhythms of Protein Synthesis and Other Circadian Oscillations: The Possible Involvement of Fractals. In: Lloyd, D., Rossi, E.L. (eds) *Ultradian Rhythms in Life Processes*. London: Springer. 1992. P. 23–40.
363. Гамалея Н.Ф., Шишко Е.Д., Яниш Ю.В. Новые данные по фоточувствительности животной клетки и механизму лазерной биостимуляции // Доклады АН СССР. 1983. Т. 273, № 1. С. 224–227.
364. Кару Т. И., Календо Г.С., Лобно В.В. Зависимость биологического действия низкоинтенсивного видимого света на клетки от параметров излучения, когерентности, дозы и длины волны // Известия АН СССР. 1983. Т. 47, № 10. С. 2017–2022.
365. Novikov V.V. Electromagnetic bioengineering // *Biofizika*. 1998. V. 43, № 4. P. 588–594.
366. Novikov V.V., Lisitsyn A.S. Synthesis of oligopeptides from the polar amino acids in water media by the combined action of weak electric and magnetic fields // *Biofizika*. 1997. V. 42, № 5. P. 1003–1008.
367. Казначеев В.П., Михайлова Л.П. Биоинформационная функция естественных ЭМП. Новосибирск: Наука, 1985. 181 с.
368. Бецкий О.В., Девятков Н.Д., Лебедева Н.Н. Лечение электромагнитными полями // *Биомедицинская радиоэлектроника*. 2000. № 10. С. 3–13.
369. Danilov V. I., Stewart J. J., Leś P., Alderfer J.L. A theoretical study of pyrimidine photohydrates and a proposed mechanism for the mutagenic effect of ultraviolet light // *Chemical Physics Letters*. 2000. V. 328, P. 75–82.
370. Maleev V., Semenov M., Kruglova E., Bolbukh T., Gasan A., Bereznyak E., Shestopalova A. Spectroscopic and calorimetric study of DNA with a new series of actinicin derivatives // *J. Mol. Struct.* 2003. V. 645, № 2. P. 145–158.
371. Загускин С.Л., Гринченко С.Н., Бродский В.Я. Взаимосвязь окологосударственных и околосуточного ритмов: кибернетическая модель // Известия АН СССР. Сер. Биол. 1991. № 6. С. 965–969.

372. Sidorenko V. M. Mechanism of the effect of weak electromagnetic fields on the living body // *Biofizika*. 2001. V. 46, № 3. P. 500–504.
373. Semenov M.A., Blyzniuk I.N., Bolbukh T.V., Shestopalova A.V., Evstigneev M.P., Maleev V.Y. Intermolecular hydrogen bonds in hetero-complexes of biologically active aromatic molecules by the methods vibrational spectroscopy // *Spectrochim.Acta Part A: Mol. Biomol. Spectroscopy*. 2012. V. 95, P. 224–229.
374. Девятков Н.Д., Голанд М.Б., Бецкий О.В. Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности. Москва: Радио и связь, 1991. 168 с.
375. Komarov F. I., Rapoport S. I. *Khronobiologiya i khronomeditsina* [Chronobiology and chronomedicine]. Moscow: Triada-Kh, 2000, 488 p. [In Russian]
376. Shpenyk, V., Shafranyosh, M., Molnar, S., Shpenik, O., Sukhoviia, M., Shafranyosh, I. Specifics of the Photoluminescence of Cytosine in Water Solution // *Journal of Physical Studies*. 2022. V. 26, № 4. P. 4802-1–4802-5.
377. Lin J., Yu C., Peng S., Akiyama I., Li K., Li Kao Lee, and LeBreton P. R. Ultraviolet photoelectron studies of the ground-state electronic structure and gas-phase tautomerism of purine and adenine // *Journal of the American Chemical Society*. 1980, V. 102, № 14. P. 4627-4631.
378. Ric Jerry M., Dudek Gerald O., and Barber Michael. Mass Spectra of Nucleic Acid Derivatives. Pyrimidines // *Am. Chem. Soc.* 1965. V. 87, № 20. P. 4569–4576.
379. Cheng P., Li Y., Li S., Zhang M., and Zhou Z.. Collision-induced dissociation (CID) of guanine radical cation in the gas phase: an experimental and computational study // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2010. V.12. P. 4667–4677.
380. Chen E. C. M., Wiley J. R., and Chen E. S.. The Electron Affinities of Deprotonated Adenine, Guanine, Cytosine, Uracil, and Thymine // *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*. 2008. V. 27. P. 506-524.
381. Volyniuk D., Cherpak V., Stakhira P., Minaev B. F., Baryshnikov G. V., Chapran M., Tomkeviciene A., Keruckas J., and Grazulevicius J.V. Highly Efficient Blue

- Organic Light-Emitting Diodes Based on Intermolecular Triplet–Singlet Energy Transfer // *J. Phys.Chem.* 2013. V. 117, № 44. P. 22538–22544.
382. Wiley J. R., Robinson J. M., Ehdai S., Chen E. C. M., Chen E. S. D., and Wentworth W. The determination of absolute electron affinities of the purines and pyrimidines in DNA and RNA from reversible reduction potentials // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1991. V. 180, № 2. P. 841-845.
383. Semaniak J., Minaev B. F., Derkatch A. V., Hellberg F., Neau A., Thomas R., Larsson M., Danared H., Paal A., and af Ugglas M. Dissociative Recombination of HCNH^+ : Absolute Cross-Sections and Branching Ratios // *Astrophys. J.Suppl. Ser.* 2001. V. 135. P. 275–283.
384. Desfrancois C., Abdoul-Carime H. and Schermann J.-P. Electron attachment to isolated nucleic acid bases // *J. Chem. Phys.* 1996. V. 104. P. 7792–7794.
385. Додатковий матеріал <http://dx.doi.org/10.1063/1.4871881> для рис. S1–S5.
386. Shafranyosh Ivan, Svyda Yuri, Shafranyosh Miroslav, Gala Serhiy, Sukhoviya Maria. Uracil Cluster Formation under the Conditions of Discharge above the Surface of Water Solution. // 6th Conference on Elementary Processes in Atomic Systems – CEPAS 2014 : Contributed papers, 9–12 July 2014, Bratislava : Comenius University, Slovakia, 2014. P. 253.
387. Shafranyosh I.I., Svyda Yu.Yu., Shafranyosh M.I., Sukhoviya M.I. Luminescence spectra of cytosine molecules under the conditions of electrical discharge // XXIX Int. Conf.on Photonic, Electronic and Atom Collisions : Book of Abstr., 22–28 July 2015, Toledo, Spain, 2015. P. MO-045.
388. Svyda Yu.Yu., Shafranyosh M.I., Chavarga M.M., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I. Luminescence spectra of adenine molecules under the conditions of electrical discharge // XXII Int. School-Seminar of Galyna Puchkovska «Spectroscopy of Molecules and Crystals : Book of Abstr., 27 Sept. – 4 Nov. 2015, Chynadiyovo, Zakarpattia, Ukraine, 2015. P. 66.
389. Свіда Ю.Ю., Шафраньош М.І., Дзяпко О.В., Суховія М.І., Маргітич М.О., Гала С.І., Шафраньош І.І. Спектр свічення електричного розряду в парах

- аденіну // Міжнародна конференція молодих учених і аспірантів ІЕФ : Тези доп., 18–22 травня 2015, Ужгород, 2015. С. 227.
390. Shafranyosh M.I., Svida Yu.Yu., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I. Luminescence spectra of guanine molecules under the electron impact // 33rd European Congress on Molecular Spectroscopy : Book of Abstr., 31 July – 4 August 2016, Szeged, Hungary, 2016. P. 93.
391. Свида Ю .Ю., Шафраньош І.І., Суховія М.І., Шафраньош М.І. Свічення парів молекул гуаніну під дією електронного пучка // Міжнародна конференція молодих учених і аспірантів ІЕФ-2017 : Тези доп., 23–26 травня 2017, Ужгород, 2017. С. 147–148.
392. Shafranyosh M.I., Svyda Y.Y., Margitych M.O., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I. Luminescence of adenine molecules in gas phase under the low energy electron beam // International Symposium on Molecular Spectroscopy, 72nd Meeting, Section: Small molecules. Intermission: Book of Abstr., 19-23 June 2017, Champaign-Urbana, Illinois, 2017. TK10. P. 24-25.
393. Svida Yu.Yu., Shafranyosh M.I., Margitich M.O., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I. Excitation of guanine molecules in gas phase under the low energy electron beam // XIII International Scientific Conference “Electronics and Applied Physics”. Section 5: Medical Physics : Book of Abstr., 24–27 October 2017, Kyiv, 2017. P. 141.
394. Svida Yu.Yu., Shafranyosh M.I., Margitich M.O., Sukhoviya M.I., Shafranyosh I.I. Excitation of guanine molecules in gas phase under the low energy electron beam // XXX Int. Conf.on Photonic, Electronic and Atom Collisions : Book of Abstr., 26 July – 1 Aug 2017, Queensland, Australia, 2017. P. TH-57.
395. Шпеник В. Ю., Шафраньош М. І., Молнар Ш. Б., Шпеник О. О., Свида Ю. Ю., Суховія М. І., Шафраньош І. І. Люмінесценція нуклеотидної основи гуаніну при різних способах збудження // Міжнародна конференція молодих учених і аспірантів ІЕФ-2019 : Тези доп., 21–24 травня 2019, Ужгород, 2019. С. 114–115.

396. Шпеник В.Ю., Шафраньош М.І., Молнар Ш.Б. Флюоресценція водних розчинів гуаніну // Всеукраїнська наукова конференція «Аналітична хімія – методи та інструменти : Тези доп., 15–17 травня 2019, Ужгород, 2019. С. 78.
397. Sukhoviya M.I., Shafranyosh M.I., Tovt V.Ch., Shafranyosh I.I. Formation of the negative ions of biomolecules by electron impact // X Int. Conf. “Cosmos and Biosphere” : Book of Abstr., 23–28 Oct. 2013, Crimea, Ukraine, 2013. P. 236.
398. Хмара І.Ю., Свида Ю.Ю., Шафраньош М.І., Суховія М.І., Перчак І.І., Шафраньош І.І. Фрагментація молекул урацилу в процесі зіткнень з електронами // Міжнародна конференція молодих учених і аспірантів ІЕФ : Тези доп., 18–22 травня 2015, Ужгород, 2015. С. 126.
399. Sukhoviya M.I., Shafranyosh M.I., Shafranyosh I.I. Inelastic interaction of secondary electrons with biostructures // IX Int. Conf. “Cosmos and Biosphere” : Book of Abstr., 10–15 Oct. 2011, Alushta, Crimea, Ukraine, 2011. P. 164.
400. Shafranyosh M.I., Sukhoviya M.I., Chavarga N.N, Shafranyosh I.I. Electron impact dissociative excitation and dissociative ionization of gas-phase nucleic acid base molecules // XXVIII ICPEAC. Abstract ID 18268 : Book of Abstr., 24–30 July 2013, Lanzhou, China), 2013. P. Th-67.
401. Shafranyosh M.I., Isak T.I., Tovt V.Ch., Shafranyosh I.I., Sukhoviya M.I. Electron impact excitation and ionization of nucleic acid base molecules // Spectroscopy of Molecules and Crystals. Galyna Puchkovska International School-Seminar : Book of Abstr., 22–29 Sept. 2013, Beregove, Crimea, Ukraine, 2013. P. 247.
402. Суховія М.І., Балоба М.Т., Шафраньош М.І., Маргітич. Б.О., Бузін І.І., Свида Ю.Ю., Шафраньош І.І. Біофізичні механізми впливу низькоенергетичних випромінювань на біоструктуру // VIII з'їзд Українського біофізичного товариства (УБФТ) : Тези доп., 12–15 жовтня 2019, Київ-Луцьк, 2019. РС23.
403. Шафраньош М.І., Магус Г.Р., Різак М.В., Шафраньош О.І., Маргітич М.О., Суховія М.І. Біофізичне моделювання первинних процесів радіаційного ураження біосистем // XV Міжнародна конференція по прикладній біофізиці. біоніці та біокібернетиці : Тези доп., 11 квітня 2024, Київ, 2024. С. 43–44.