

ÜBER DIE ULTRAVIOLETTEN ABSORPTIONSSPEKTREN DER NUKLEOTIDBASEN

Von

L. LÁNG und J. LADIK

Lehrstuhl für Physikalische Chemie, Technische Universität Budapest und Zentralforschungs-
institut für Chemie der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, Budapest

(Eingegangen am 11. April 1964)

Vorgelegt von Prof. Dr. G. SCHAY

Die ultravioletten Absorptionsspektren der Nukleotidbasen wurden von zahlreichen Forschern untersucht (s. z. B. [1]). Da aber die in der Literatur veröffentlichten Absorptionskurven größtenteils lediglich von 205 bis 210 $m\mu$ bestimmt worden sind, liefern sie bei dem den *in vivo* Bedingungen entsprechenden neutralen pH keine Angaben die im fernen Ultraviolettbereich vorhanden zweiten Absorptionmaxima. Es war deshalb von Interesse, das Spektrum bis 190 $m\mu$ auszumessen.

Es wurden im Verlauf unserer Untersuchungen die ultravioletten Absorptionsspektren von Uracil (U), Thymin (T), Cytosin (C) und Adenin (A) aufgenommen. Als Lösungsmittel verwendeten wir in Glasapparatur zweifach destilliertes Wasser. Die Absorptionsmaxima der Bandensysteme I und 2 der einzelnen Basen, ausgedrückt in $m\mu$, und die ihnen entsprechenden $\log E$ -Werte sind in Tabelle I zusammengefaßt.

Tabelle I

Absorptionsmaxima der Nukleotidbasen in $m\mu$ und die zu den Maxima gehörenden $\log \epsilon$ -Werte

	Bandensystem I			Bandensystem II		
	λ ($m\mu$)	$\log \epsilon$	$\tilde{\nu}$ (10^4 cm^{-1})	λ ($m\mu$)	$\log \epsilon$	$\tilde{\nu}$ (10^4 cm^{-1})
U	257	3,91	3,89	203	3,95	4,93
T	265	3,92	3,77	208	4,00	4,81
C	268	3,83	3,73	197	4,34	5,08
A	260	4,11	3,84	207	4,34	4,83

Um einen Vergleich mit den Ergebnissen quantenchemischer Berechnungen zu ermöglichen, sind die Stellen der Maxima auch in cm^{-1} angegeben. Gleichzeitig wurden auch die durch die Gleichung [2]

$$f = \frac{m \cdot c^2 \cdot 10^3 \ln 10}{\pi e^2 N} \int_{\tilde{\nu}_1}^{\tilde{\nu}_2} \varepsilon(\tilde{\nu}) d\nu \quad (1)$$

definierten Oszillatorenstärken bestimmt. In Gleichung (1) bedeutet m die Elektronenmasse, e die Elementarladung, c die Lichtgeschwindigkeit, N die Avogadro-Zahl, $\varepsilon(\tilde{\nu})$ den molaren Extinktionskoeffizienten in der Abhängigkeit von $\tilde{\nu}$ (für $\varepsilon(\tilde{\nu})$ ist der Wert zu setzen, den man aus dem LAMBERT-BEERSchen Gesetz erhält, wenn die Konzentration in Mol/l und die Schichtdicke in cm angegeben ist). Die Integration muß innerhalb der Wellennummerngrenzen $\tilde{\nu}_1$ und $\tilde{\nu}_2$ des durch den entsprechenden Elektronenübergang erzeugten Bandsystems durchgeführt werden. Da die Funktion $\varepsilon(\tilde{\nu})$ im allgemeinen analytisch nicht angegeben werden kann, haben wir den Wert des Integrals in Gleichung (1) für beide Bandensysteme planimetrisch abgeschätzt.

Andererseits haben PULLMAN und PULLMAN [3] bzw. HOFFMANN und LADIK [4] unter der Annahme, daß in den Nukleotidbasen eine π -Elektronen-delokalisation stattfindet, durch Anwendung der LCAO MO-Methode in der einfachen HÜCKELschen Näherung mit Vernachlässigung der Überlappung, die ersten Erregungsenergien

$$\Delta E = \varepsilon_{n^*+1} - \varepsilon_{n^*} \quad (2)$$

der Basen berechnet. Hier bedeutet ε_{n^*} die oberste besetzte und ε_{n^*+1} die unterste unbesetzte MO-Energie. In derselben Approximation wurden auch die Oszillatorenstärken der 1. Bandensysteme der Basen von HOFFMANN und LADIK [4] bestimmt. Die Oszillatorenstärke $f_{k \rightarrow l}$ eines beliebigen $k \rightarrow l$ Überganges läßt sich nämlich mit Hilfe der Beziehung

$$f_{k \rightarrow l} = 1,085 \cdot 10^{-5} \tilde{\nu}_{k \rightarrow l} \bar{R}_{k \rightarrow l}^2 \quad (3)$$

berechnen, wobei die Wellennummer

$$\tilde{\nu}_{k \rightarrow l} = \frac{\varepsilon_l - \varepsilon_k}{hc} \quad (4)$$

des Überganges in cm^{-1} zu substituieren ist (h ist die Plancksche Konstante) und $R_{k \rightarrow l}$ den Übergangsmomentvektor bedeutet. Letzterer konnte auf Grund der DAUDELSchen Methode [5] nach der einfachen Beziehung

$$h_{k \rightarrow l} = \sqrt{2} \sum_{i=1}^n c_{k,i} c_{l,i} \bar{r}_i \quad (5)$$

errechnet werden, wo $c_{k,i}$ bzw. $c_{l,i}$ den Koeffizienten des i -ten Atoms im k -ten, bzw. l -ten MO, \bar{r}_i den Positionsvektor des i -ten Atomkerns bedeutet und die Summierung auf alle n Atome auszubreiten ist, die dem System π -Elektronen liefern.

Die in cm^{-1} umgerechneten experimentellen Erregungsenergien, die experimentell bestimmten Oszillatorenstärken der einzelnen Bandensysteme, wie auch die für das 1. Bandensystem von HOFFMANN und LADIK in der HÜCKELschen Näherung berechneten Werte sind in Tabelle II. enthalten.

Tabelle II

Die experimentell bestimmten Erregungsenergien (in cm^{-1}) und Oszillatorenstärken der Nukleotidbasen und die in der Hückelschen Näherung berechneten Erregungsenergien und Oszillatorenstärken des Bandensystems I

	Bandensystem I				Bandensystem II	
	$\bar{\nu}_{\text{exp}} \cdot 10^4$	$\bar{\nu}_{\text{thor}} \cdot 10^4$	$f_{\text{exp.}}$	$f_{\text{thor.}}$	$\bar{\nu}_{\text{exp}} \cdot 10^4$	$f_{\text{exp.}}$
<i>U</i>	3,89	2,99	0,18	0,50	4,93	0,30
<i>T</i>	3,77	2,92	0,18	0,50	4,81	0,37
<i>C</i>	3,73	2,73	0,13	0,43	5,08	0,72
<i>A</i>	3,84	2,53	0,28	0,51	4,83	0,54

Werden nun die auf Bandensystem I. bezogenen experimentellen und theoretischen Werte einander gegenübergestellt, so sieht man sofort, daß die Übereinstimmung bei weitem nicht befriedigend ist.

Da bei Anwendung der einfachen HÜCKELschen Näherung im allgemeinen dies der Fall ist, haben LADIK und APPEL [6] für eine der Nukleotidbasen, und zwar für Uracil, die Erregungsenergien mit Hilfe der Methode der semiempirischen Konfigurations-Wechselwirkung (CI) berechnet. Es wurden bei der Berechnung die mittels der Übergänge $n^* \rightarrow n^* + 1$, $n^* - 1 \rightarrow n^* + 1$, $n^* \rightarrow n^* + 2$ und $n^* - 1 \rightarrow n^* + 2$ entstehenden erregten Konfigurationen berücksichtigt. Die zur Berechnung der einzelnen Interkonfigurationsmatrix-Elemente nötigen MO-Koeffizienten wurden als die Eigenvektor-Komponenten der in der POPLESchen [1] Näherung der SCF LCAO MO-Methode angewendeten Matrix erhalten, wobei aber nur ein Iterationsschritt durchgeführt wurde. Für die Integrale der π -Elektronen-Wechselwirkung, die in der oben erwähnten Matrix und in den Elementen der Interkonfigurationsmatrix [8] nach Vernachlässigung der »Differentialüberlappung« [7] noch erhalten blieben, wurde die MATAGA—NISHIMOTO-Näherung [9] angewendet. Die für die ersten vier Erregungsenergien erhaltenen und die entsprechenden zwei experimentellen Werte sind der Tabelle III zu entnehmen.

Tabelle III

Die durch die semiempirische CI-Methode für die Erregungsenergien von Uracil erhaltenen Ergebnisse (in cm^{-1}) und die entsprechenden experimentellen Werte

	Theor. Werte $\text{cm}^{-1} \cdot 10^4$	Exp. Werte $\text{cm}^{-1} \cdot 10^4$
$^1 E_1$	3,78	3,89
$^1 E_2$	4,46	—
$^1 E_3$	4,94	4,93
$^1 E_4$	6,16	—

Aus der Tabelle ist zu ersehen, daß die für den ersten Singlet-Singlet-Übergang erhaltenen Werte ziemlich gut übereinstimmen. Eine ausgezeichnete Übereinstimmung kann zumal hinsichtlich der experimentell gefundenen Erregungsenergie des Bandensystems II erhalten werden, wenn man diese mit der 3. theoretisch gefundenen Erregungsenergie vergleicht. Diese Einordnung wird durch die Tatsache unterstützt, daß gemäß einer detaillierten Untersuchung der Verhältnisse [6] für die zweite Erregung eine außerordentlich geringe Wahrscheinlichkeit besteht, so daß sie den zwei anderen Bandensystemen, die eine erheblich größere Intensität besitzen, aufgeht.

Auf Grund der für Uracil erhaltenen Ergebnisse kann man hoffen, daß durch Ausbreitung der CI-Berechnung auf die übrigen Nukleotidbasen uns die Möglichkeit geboten wird, ihre Erregungsenergie mit den Versuchsdaten vergleichend, bessere Resultate zu erzielen. Es ist indessen nicht zu erwarten, daß für die Werte der Oszillatorenstärken, deren Sensibilität die Genauigkeit der Annäherung weit übertrifft, durch Anwendung dieser noch immer ziemlich einfachen Methode eine durchwegs befriedigende Übereinstimmung erhalten werden kann.

Zusammenfassung

Es wurden die Stellen der in den fernen ultravioletten Absorptionsspektren der Nukleotidbasen auftretenden zweiten Maxima bestimmt und die Werte der Oszillationsstärken beider Bandensysteme dieser Basen abgeschätzt.

Im zweiten Teil werden die Versuchsangaben mit den durch verschiedene quantenchemische Annäherungsmethoden erhaltenen Werten verglichen.

Literatur

1. BEAVEN, G. H., HOLIDAY, E. R., JOHNSON, E. A. in: *The Nucleic Acids*, ed. CHARGAFF, E., DAVIDSON, J. N., Ac. Press, New York 1955, Vol. I.
2. HUMMEL, R. L., RUEDENBERG, K.: *J. Phys. Chem.* **66**, 2334 (1962).
3. PULLMAN, A., PULLMAN, B.: *Bull. Soc. Chim. France*, 766 (1958); 594 (1959).
4. HOFFMANN, T. A., LADIK, J.: *Adv. in Chem. Phys.* (1963) (in Druck).

5. DAUDEL, R., LEFÈVRE, R., MOSER, C.: Quantum Chemistry, Interscience Publ., New York—London, 1959.
6. LADIK, J., APPEL, K.: Preprint No 79, Quantum Chemistry Group, University of Uppsala (1962).
7. POPLE, J. A.: Trans. Far. Soc. **49**, 1375 (1953).
8. PARISER, R., PARR, R. G.: J. Chem. Phys. **21**, 466 (1953); **21**, 767 (1953).
9. MATAGA, N., NISHIMOTO, K.: Z. physik. Chem., **13**, 140 (1957).

Dr. László LÁNG Budapest, XI. Budafoki út 8, Ungarn
János LADIK Budapest, II. Püsztaszeri út 57/69, Ungarn