

ФРАГМЕНТАЦІЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО ІОНА ПІРИДОКСИНУ ТА МЕХАНІЗМ УТВОРЕННЯ ПРОТОНОВАНОГО ІОНА ПІРИДОКСИНУ НА ПОВЕРХНІ ПОРУВАТОГО КРЕМНІЮ

**М.І. Терєбінська, І.В. Шмиголь, А.М. Дацюк, В.В. Лобанов,
В.О. Покровський**

*Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України,
вул. Генерала Наумова, 17, Київ, 03164, Україна*

*Методом теорії функціонала густини з обмінно-кореляційним функціоналом B3LYP в базисі 6-31 G** досліджені механізми утворення протонованого молекулярного іона піридоксину, шляхи його фрагментації, а також молекулярного іона піридоксину при лазерній десорбції/іонізації на поверхні поруватого кремнію.*

Вступ

Застосування методів мас-спектрометрії для ідентифікації біомолекул великої молекулярної маси (визначення їх маси) передбачає пошук таких методів іонізації, що не спричиняють утворення молекулярних іонів в електронно-збуджених станах. Генерація останніх сприяє фрагментації молекулярних іонів по різних каналах, аж до зникнення їх ліній в мас-спектрах.

Повністю позбавитись енергії збудження, що запасається молекулярним іоном під час його утворення, неможливо внаслідок невідповідності його рівноважної структури рівноважній структурі вихідної молекули.

На сьогодні розроблені та широко використовуються ряд «м'яких» методів іонізації, до яких відносяться польова іонізація [1], поверхнева іонізація [2] і лазерна десорбція та іонізація на поверхні поруватого кремнію. Останній метод (в англомовній літературі Desorption Ionization on Porous Silicon, DIOS) був запропонований ще в 1999 році [3] і знайшов широке застосування в фармакології та хімії полімерів, в тому числі біополімерів [4]. В ньому як підкладка для іонізації молекул використовувався нанопоруватий кремній з середнім розміром пор 2–100 нм, на поверхні яких присутні наноструктурні утворення різних форм та розмірів. Відомо, що в областях, прилеглих до нерегулярностей структури поверхні, створюються електростатичні поля, які можуть спричинити іонізацію адсорбованих молекул (адмолекул). Ці поля виникають не як результат прикладеної зовні напруги, а генеруються атомами поверхні та об'ємної фази твердотілого зразка [5].

Результати та їх обговорення

В даній статті методами квантової хімії досліджуються шляхи фрагментації молекулярного іона піридоксину (ПД) та механізм утворення протонованого молекулярного іона піридоксину $[\text{ПД}+\text{H}]^+$ при лазерній десорбційній іонізації на поверхні поруватого кремнію.

Усі розрахунки проведено в рамках теорії функціонала густини [6, 7] з обмінно-кореляційним функціоналом B3LYP [8] в базисі 6-31 G**.

На рис. 1 зображена рівноважна структура кластера складу $\text{Si}_{89}(\text{OH})_{43}\text{H}^*_{39}$, який моделює пірамідальне утворення (ПУ) на поверхні поруватого кремнію. Символом H^*

позначені псевдоатоми водню, які вводяться по периферії кластера, що межує з об'ємною фазою для урахування її впливу. Вільні зв'язки атомів кремнію, розміщені на бокових гранях піраміди, насичували одною або двома гідроксильними групами. Така будова кластера (наявність силанольних груп) є наслідком методу отримання поруватого кремнію з водних розчинів [9]. При контакті кристалічного кремнію з водним розчином плавикової кислоти його поверхня насичується воднем, який приєднується до поверхневих атомів Si з незкомпенсованими валентностями. Після витримки оброблених зразків на повітрі на протязі декількох діб окремі ділянки їх поверхні, які покриті групами $\equiv\text{SiH}$ та $>\text{SiH}_2$, трансформуються – водень десорбується, поверхня окиснюється і в ІЧ-спектрах з'являються смуги поглинання силоксанових груп.

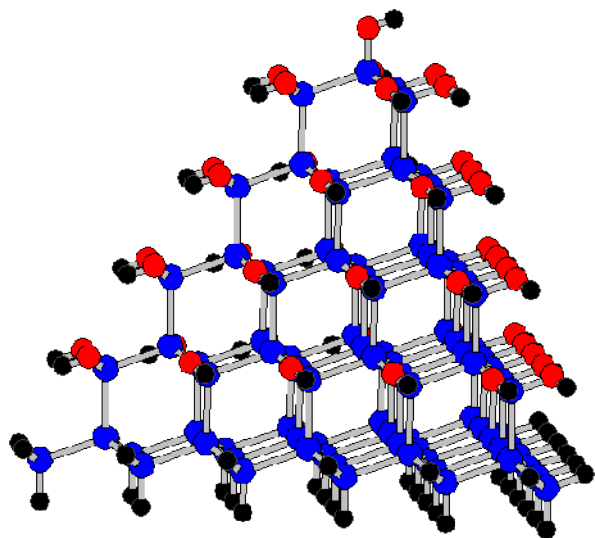


Рис. 1. Рівноважна структура пірамідального утворення на поверхні поруватого кремнію.

Аналіз зарядового розподілу в ПУ показує, що на атомах кремнію, які знаходяться всередині піраміди, заряд в середньому майже нульовий, що свідчить про ковалентність зв'язку між ними, в той час як атоми кремнію бокових граней несуть досить суттєвий позитивний заряд (Q). Його величина залежить від кількості силанольних груп, зв'язаних з атомами кремнію, і зростає від $\sim 0,50$ до $\sim 0,52$ ат.од. при переході від ізольованих силанольних груп до силандіольних. На атомах кисню термінальних гідроксильних груп локалізується негативний заряд, сягаючий величини $-0,6$ ат.од. Таке альтернування заряду призводить до генерації в околі піраміди електростатичного потенціалу (ρ), максимуми і мінімуми якого віддалені один від одного на відстань, порівняну з довжинами хімічних зв'язків (рис. 2). Внаслідок адсорбції на ПУ, що розглядається, органічні молекули знаходяться під значним орієнтуючим і поляризаційним впливом поверхні. Ступінь цього впливу визначається різницею енергій молекули в рівноважному стані на нескінченно великій відстані від поверхні і в тій конфігурації, яку вона набуває в адсорбційному комплексі ($\Delta E_{\text{стр}}$). Розрахунки, виконані для молекули піридоксину (ПД), показують, що ця різниця складає $5,3$ кДж/моль.

Рівноважна структура адсорбційних комплексів молекули ПД на поверхні ПУ розрахована при різному її розміщенні відносно піраміди. Найбільш стійкими серед них виявились ті, в яких молекула ПД локалізована на самій вершині піраміди. На рис. 3 наведена рівноважна структура найбільш стійкого адсорбційного комплексу (ПУ·ПД), зв'язування в якому забезпечується утворенням водневого зв'язку між однією із спиртових груп адмолекули та силанольною групою, розміщеною на вершині піраміди. Енергія адсорбції в даному випадку складає $28,6$ кДж/моль, а перенос електронної густини з молекули ПД на піраміду незначний ($0,04$ ат.од.).

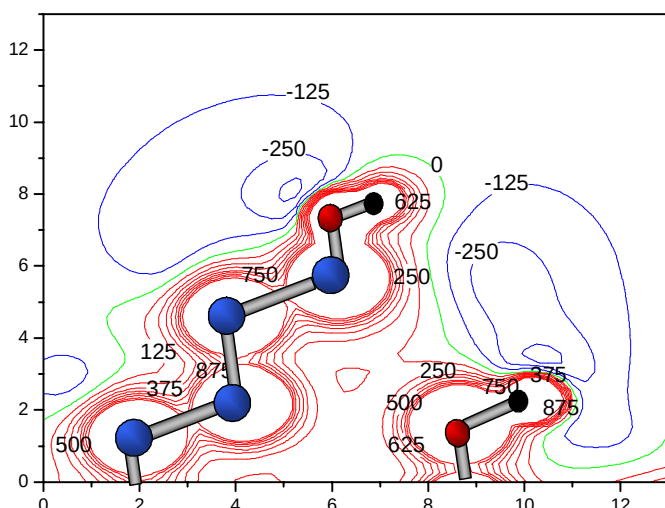


Рис. 2. Розподіл електростатичного потенціалу в околі пірамідального утворення. Значення потенціалу наведені в кДж/моль.



Рис. 3. Рівноважна структура найбільш стійкого адсорбційного комплексу ПУ·ПД.

Оскільки молекула ПД в розчині зазвичай існує в вигляді піридоксин гідрохлориду (ПД·НСІ), була розглянута також структура адсорбційного комплексу ПД·НСІ на пірамідальному утворенні (див. рис. 4). Порівняння рис. 3 і 4 показує, що рівноважна будова адсорбційних комплексів ПУ·ПД і ПУ·ПД·НСІ практично ідентична. Однак в адсорбційному комплексі ПУ·ПД·НСІ водневий зв'язок $\equiv\text{Si}-\text{O}(\text{H})\cdots\text{O}$ скорочується на 0,02 Å порівняно з комплексом ПУ·ПД, в результаті чого енергія адсорбції зростає до 36,2 кДж/моль. При цьому довжина зв'язку $=\text{N}\cdots\text{HCl}$ скорочується до 1,13 Å, в той час як у вільній молекулі ПД·НСІ вона складає 1,18 Å. Такі структурні зміни в молекулі ПД·НСІ призводять до того, що різниця її енергії в рівноважному стані і в конфігурації, яку вона приймає в адсорбційному комплексі, сягає 31,8 кДж/моль.

Наявність в DIOS мас-спектрі піридоксину [10] лінії протонованого молекулярного іона $[\text{ПД}+\text{H}]^+$ високої інтенсивності, з одного боку, свідчить про його високу стійкість в порівнянні з молекулярним іоном ПД^{++} , а з іншого, спонукає до розгляду можливого механізму його утворення. Для цього скористаємось даними щодо структури ПД·НСІ в рівноважному стані та у складі адсорбційного комплексу ПУ·ПД·НСІ. Останній розглянемо у двох зарядових станах, електрично нейтральному та в стані $[\text{ПУ}\cdot\text{ПД}\cdot\text{НСІ}]^+$. Довжина зв'язку $\text{H}-\text{Cl}$ в молекулі піридоксин гідрохлориду складає 1,706 Å, а заряд на атомі хлору $-0,45$ ат.од. В адсорбційному комплексі ПУ·ПД·НСІ цей зв'язок видовжується до 1,796 Å з одночасним зростанням величини Q на атомі хлориду до $-0,59$ ат.од.



Рис. 4. Рівноважна структура найбільш стійкого адсорбційного комплексу ПУ·ПД·НСІ.

На рис. 5 наведений просторовий розподіл електронної густини, обумовленої вищою зайнятою молекулярною орбіталлю (ВЗМО) в нейтральному адсорбційному комплексі [ПУ·ПД·НСІ]. З нього видно, що при іонізації цього комплексу електрон покидає тільки атом хлору. Прямі розрахунки зарядженого адсорбційного комплексу [ПУ·ПД·НСІ]⁺⁺ засвідчили, що заряд на атомі хлору стає рівним +0,41 ат.од., а відстань Н...СІ зростає до 2,13 Å. Тобто є всі підстави стверджувати, що атом хлору відщеплюється від адсорбційного комплексу [ПУ·ПД·НСІ]⁺⁺ і на поверхні поруватого кремнію залишається протонований адсорбційний комплекс [ПУ·ПД·Н]⁺. Про відщеплення саме атома хлору в нейтральному стані, а не у вигляді СІ⁺ чи СІ⁻ свідчать прямі розрахунки залежності заряду на атомі хлору від відстані Н...СІ в адсорбційному комплексі [ПУ·ПД·НСІ]⁺⁺.

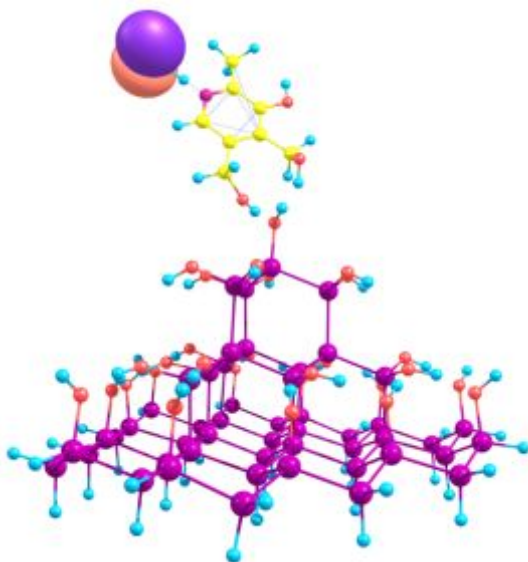


Рис. 5. Просторовий розподіл електронної густини, обумовлений ВЗМО адсорбційного комплексу [ПУ·ПД·НСІ].

Властивості ізолюваних молекул, а також адсорбційних комплексів можна досить обґрунтовано розділити на колективні та одноелектронні. Колективні властивості залежать від сукупності електронів системи, що розглядається. До них відносяться рівноважна просторова будова, повна енергія, енергія зв'язування у випадку адсорбційного комплексу. Оскільки колективні властивості залежать від взаємодії всіх електронів між собою та з ядрами, для їх опису потрібно використовувати повну хвильову функцію усієї системи. Одноелектронні властивості залежать від стану

окремих електронів, як, наприклад (що дуже важливо в нашому випадку) потенціал іонізації, який чисельно дорівнює енергії ВЗМО, взятої з протилежним знаком.

З рис. 6, де наведена структура ВЗМО розглянутого пірамідального утворення видно, що при дії електромагнітного випромінювання на поверхню поруватого кремнію з таким ПУ після його іонізації позитивний заряд в основному локалізується на вершині піраміди. Внаслідок цього, в околі областей локалізації позитивного заряду будуть генеруватися електростатичні поля високої напруги, що сприяє взаємодії з нуклеофільними функціональними групами адсорбованих молекул. Такі поля створюються також біля ПУ на поверхні пористого кремнію і за відсутності на них заряду, про що свідчить рис. 7, на якому наведено розподіл абсолютного значення напруженості електростатичного поля, отриманий із розподілу електростатичного потенціалу згідно співвідношення $|\vec{E}| = |\text{grad}\rho|$. З рис. 7 видно, що напруженість електростатичного поля в околі незарядженого ПУ достатня для іонізації адсорбованої молекули за механізмом польової іонізації. Незалежно від того, що відбувається раніше – іонізація ПУ з подальшою адсорбцією молекули ПД, чи іонізація молекули ПД електростатичним полем ПУ, позитивний заряд в комплексі [ПУ·ПД] цілком концентрується на адмолекулі, про що свідчить рис. 8.

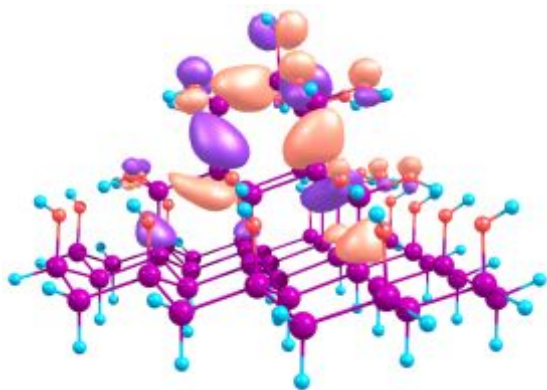


Рис. 6. Просторовий розподіл електронної густини, обумовлений ВЗМО пірамідального утворення на поверхні поруватого кремнію.

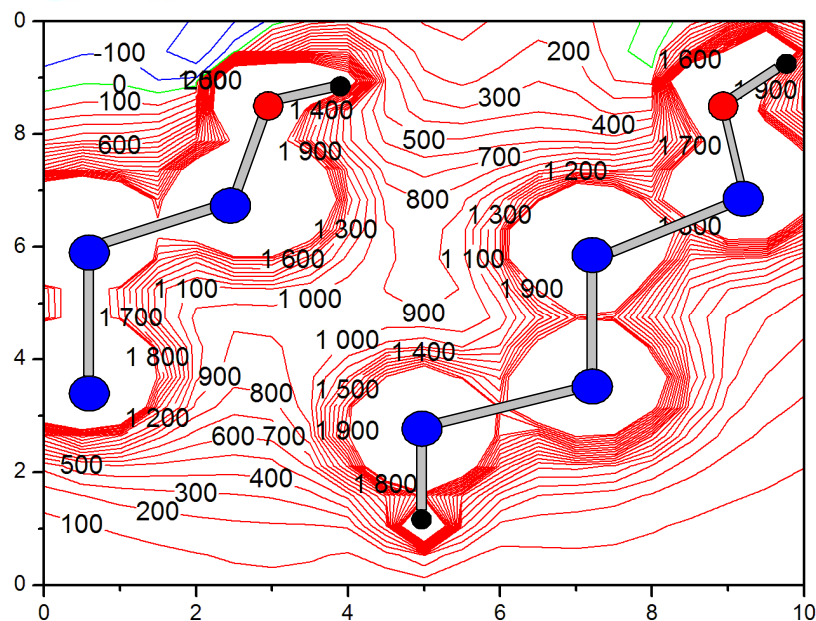


Рис. 7. Напруженість електростатичного поля (в 10^9 В/м) в околі пірамідального утворення на поверхні поруватого кремнію.

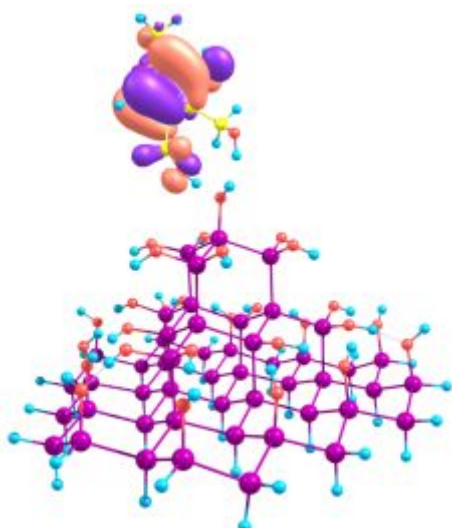


Рис. 8. Просторовий розподіл електронної густини, обумовлений ВЗМО адсорбційного комплексу [ПУ·ПД].

При інтерпретації мас-спектрометричних даних стосовно інтенсивностей ліній фрагментарних іонів здебільшого виходять з енергій дисоціації (E_{dis}) хімічних зв'язків в молекулярних чи протонуваних іонах, які для випадку піридоксину наведені на рис. 9 та 10. На цих рисунках позначкою “+” вказані ті фрагменти, на яких локалізується позитивний заряд. Значення E_{dis} отримані із розрахунків повних енергій фрагментів в різних зарядових та спінових станах (табл. 1), утворення яких можливе при розривах екзоциклічних зв'язків в іонах PD^{++} та $[PD+H]^+$. Співставляючи дані рис. 9 та 10, можна дійти висновку, що міцність всіх розглянутих зв'язків в протонованому іоні $[PD+H]^+$ вища, ніж в молекулярному. Це може служити непрямым доказом причин відсутності ліній останнього в мас-спектрі піридоксину. Можна вважати також, що лінії фрагментарних іонів обумовлені розривом зв'язків молекулярного іона PD^{++} .

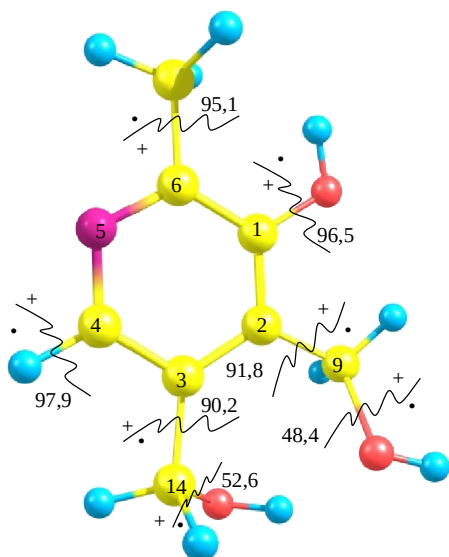


Рис. 9. Енергії розриву екзоциклічних зв'язків в молекулярному іоні PD^{++} . Позначками “+” та “•” відмічені ті фрагменти, на яких локалізується позитивний заряд та неспарений електрон при дисоціації відповідного зв'язку (див. текст).

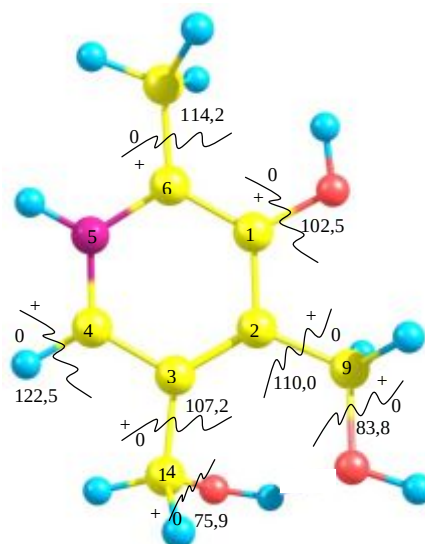
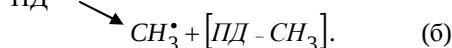
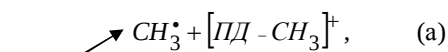


Рис. 10. Енергії розриву екзоциклічних зв'язків в протонованому молекулярному іоні $[PD+H]^+$. Позначками “+” та “0” відмічені ті фрагменти, які утворюються в зарядженому або нейтральних станах при дисоціації відповідного зв'язку.

Оскільки найбільш інтенсивною лінією уламкових іонів в DIOS мас-спектрі піридоксину є лінія іона $[ПД-CH_3]^+$, то на прикладі розриву відповідного С–С зв'язку розглянемо можливі шляхи фрагментації іона $ПД^{++}$, для якого можлива реалізація двох каналів



Із даних, наведених в табл. 1. випливає, що сума енергій фрагментів, які утворюються при розпаді по каналу (а), нижча відповідного значення для каналу (б), тобто позитивний заряд локалізується на більш масивному фрагменті $[ПД-CH_3]^+$. Для пояснення відносних інтенсивностей ліній фрагментарних іонів, крім енергій розриву відповідних екзоциклічних зв'язків в молекулярному іоні, слід скористатися даними про їх довжину в молекулі ПД та в іоні $ПД^{++}$, які наведені в табл. 2. З цих даних видно, що при розриві зв'язку С(6)–С(19) з утворенням зарядженого фрагмента $[ПД-CH_3]^+$ реалізується франк-кондонівський перехід на гілку перерізу поверхні потенціальної енергії, яка відповідає притяганням вздовж зв'язку С(6)–С(19) (див. рис. 11, а) (довжина цього зв'язку в іоні $ПД^{++}$ складає 1,522 Å, в той час як в молекулі ПД – 1,516 Å). При розриві інших зв'язків, які приводять до утворення фрагментів $[ПД-CH_2OH]^+$ та $[ПД-OH]^+$ реалізується інша ситуація, тобто відбувається франк-кондонівський перехід на гілку перерізу поверхні потенціальної енергії, яка описує відштовхування, тобто відповідні зв'язки в молекулярному іоні коротші, ніж в молекулі (рис. 11, б).

Таблиця 1. Повні енергії фрагментів в різних зарядових та спінових станах, які можуть утворюватись при розриві екзоциклічних зв'язків в молекулярному та протонованому іоні піридоксину

Фрагмент	Заряд	
	0	1
COH ₃ (3)*	-23,313	-23,027
[П-COH ₃]	-85,943	-85,644
[(П+H)-COH ₃]	-86,526	-86,313
COH ₃ (2)*	-23,312	-23,027
[П-COH ₃]	-85,940	-85,631
[(П+H)-COH ₃]	-86,538	-86,309
OH (1)*	-16,474	-15,886
[П-OH]	-92,779	-92,487
[(П+H)-OH]	-93,382	-93,1606
CH ₃ (6)*	-7,3668	-7,008
[П-CH ₃]	-101,888	-101,596
[(П+H)-CH ₃]	-102,519	-102,249
OH (14)*	-16,474	-15,886
[П-OH]	-92,813	-92,557
[(П+H)-OH]	-93,400	-93,203
OH (9)*	-16,4740035	-15,886
[П-OH]	-92,8102265	-92,563
[(П+H)-OH]	-93,4265098	-93,190
H (4)*	-0,5012	0,0000
[П-H]	-108,731	-108,457
[(П+H)-H]	-109,346	-109,1015

*Вказаний номер атома в ароматичному циклі молекули ПД, від якого відривається відповідний фрагмент. Нумерація атомів наведена на рис. 9 та 10

Таблиця 2. Довжини екзоциклічних зв'язків у ізольованій молекулі ПД, її молекулярному іоні ПД⁺, у складі адсорбційного комплексу в нейтральному [ПУ·ПД] та іонізованому станах [ПУ·ПД]⁺

Довжини зв'язків, Å	ПД	ПД ⁺	[ПУ·ПД]	[ПУ·ПД] ⁺
R[C(6)–C(19)]	1,516	1,522	1,527	1,526
R[C(1)–O(7)]	1,422	1,366	1,424	1,404
R[C(2)–C(9)]	1,528	1,521	1,520	1,531
R[O(9)–O(10)]	1,484	1,462	1,484	1,413
R[C(3)–C(14)]	1,540	1,526	1,530	1,527
R[C(14)–O(15)]	1,483	1,465	1,461	1,456
R[C(4)–H(23)]	1,113	1,099	1,106	1,107

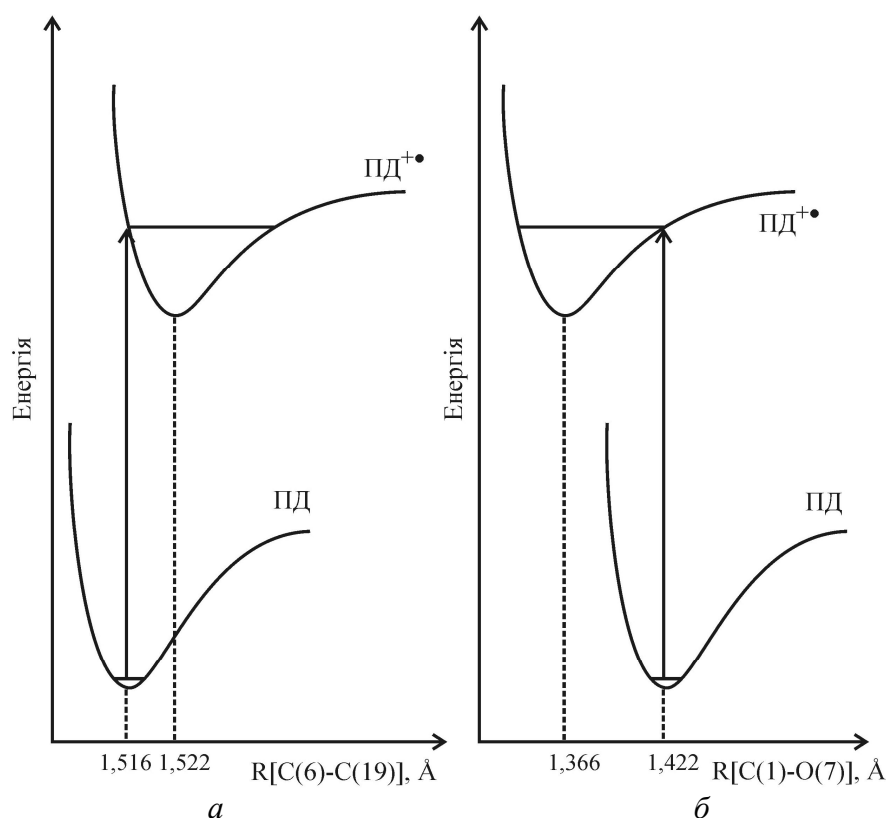


Рис. 11. Схема франк-кондонівських переходів при розриві зв'язку C(6)–C(19) (а) та зв'язку C(1)–O(7) (б).

Висновок

Таким чином, виконані розрахунки дозволяють стверджувати, що в околі пірамідальних утворень на поверхні поруватого кремнію створюються електростатичні поля, напруженість яких достатня для іонізації адсорбованих молекул. Після їх іонізації позитивний заряд цілком локалізується на фрагменті адсорбційного комплексу, який відповідає адмолекулі. Протонований молекулярний іон [ПД+Н]⁺ формується при відщепленні атома хлору від іонізованого молекулярного комплексу [ПУ·ПД·НСl]⁺.

Енергії дисоціації усіх екзоциклічних зв'язків в протонованому іоні [ПД+Н]⁺ вищі, ніж в молекулярному іоні ПД⁺. Відносну інтенсивність ліній улаmkових іонів в мас-спектрі піридоксину можна пояснити, приймаючи до уваги, крім енергій дисоціації відповідних зв'язків, також і те, на яку гілку перерізу потенціальної енергії відбувається перехід при іонізації молекул.

Література

1. Физические основы полевой масс-спектрометрии / Э.Н. Король, В.В. Лобанов, В.А. Назаренко, В.А. Покровский. – К.: Наук. думка. – 1978. – 196 с.
2. Зандберг Э.А., Ионов Н.И. Поверхностная ионизация. – М.: Наука, – 1969. – 432 с.
3. Wei J., Buriak J.M., Siuzdak G. Desorption-ionization mass spectrometry on porous silicon // Nature. – 1999. – V. 399. – P. 243–246.
4. Desorption/ionization on silicon (DIOS) mass spectrometry: background and application / G. Warren, S. Zhouxin, M.G. Finn, G. Siuzdak // Intern. J. Mass Spectrom. – 2003. – V. 226. – P. 107–116.
5. Роль электростатических взаимодействий в адсорбции на поверхности твердых оксидов / В.В. Лобанов, Ю.И. Горлов, А.А. Чуйко, В.М. Пинчук, Ю.С. Синеккоп, Ю.И. Якименко. – К.: ТОО «Век+», 1999. – 238 с.
6. Kohn W., Sham L.J. Self-consistent equations including exchange and correlation effects // Phys. Rev. A., – 1965. – V. 140, N 4. – P. 1133–1138.
7. Bader R.F.W. Atoms in molecules. A quantum theory. // Oxford: Oxford Univ. press – 1990. – 438 p.
8. Becke A.D. Density-functional thermochemistry. 3. The role of exact exchange // J. Chem. Phys. – 1993. – V. 98. – P. 5648–5652.
9. Canham L.T. Silicon quantum wire array fabrication by electrochemical and chemical dissolution of wafers // Appl. Phys. Lett. – 1991. – V. 57. – P. 1046–1048.

ФРАГМЕНТАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО ИОНА ПИРИДОКСИНА И МЕХАНИЗМ ОБРАЗОВАНИЯ ПРОТОНИРОВАННОГО ИОНА ПИРИДОКСИНА НА ПОВЕРХНОСТИ ПОРИСТОГО КРЕМНИЯ

**М.И. Терebinская, И.В. Шмиголь, А.М. Дацюк, В.В. Лобанов,
В.А. Покровский**

*Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины,
ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03164, Украина*

*Методом теории функционала плотности с обменно-корреляционным функционалом B3LYP в базисе 6-31 G** исследованы механизм образования протонированного молекулярного иона пиридоксина пути его фрагментации, а также молекулярного иона пиридоксина при лазерной десорбции/ионизации на поверхности пористого кремния.*

FRAGMENTATION OF PYRIDOXINE MOLECULAR ION AND MECHANISM OF FORMATION OF PROTONATED PYRIDOXINE ION AT THE POROUS SILICON SURFACE

**M.I. Terebinska, I.V. Shmygol, A.M. Datcyuk, V.V. Lobanov,
V.A. Pokrovskiy**

*Chuiko Institute of Surface Chemistry, National Academy of Sciences of Ukraine,
17 General Naumov Str. Kyiv, 03164, Ukraine*

*The mechanism of formation of both pyridoxine molecular-ion and protonated pyridoxine molecular-ion and ways of their fragmentation under laser desorption/ionization at the surface of porous silicon were studied by means of density functional theory (B3LYP functional, basis 6-31 G**).*