

ФОТОЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ В РАСТВОРЕ НЕАРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТ ПРИ КОМНАТНОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ

© 2025 г. Е.Л. Терпугов*, С.Н. Удальцов**, О.В. Дегтярева*.#

*Институт биофизики клетки Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Институтская ул., 3, Пущино Московской области, 142290, Россия

**Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Институтская ул., 2/2, Пущино Московской области, 142290, Россия

#E-mail: olga_degt@mail.ru

Поступила в редакцию 23.10.2024 г.

После доработки 06.11.2024 г.

Принята к публикации 20.11.2024 г.

Впервые продемонстрировано, что водные растворы неароматических аминокислот, таких как L-аргинин гидрохлорид, L-лизин гидрохлорид и глицин, могут излучать флуоресценцию и послесвечение при возбуждении УФ-видимым светом при комнатной температуре. Послесвечение люминесценции отличается от обычной флуоресценции слабой интенсивностью и большой длительностью излучения. Наличие кратковременной и долгоживущей флуоресценции у нетрадиционных люминофоров указывает на двойную природу флуоресценции и существование разных по природе возбужденных состояний. Обнаруженная корреляция в форме спектров кратковременной и долгоживущей флуоресценции позволяет предположить, что послесвечение люминесценции соответствует термоактивированной замедленной флуоресценции, возникающей через механизм реконверсии из самого низкого триплетного состояния T_1 в самое низкое синглетное состояние S_1 . Дальнейшие исследования помогут пролить света на понимание биофизики фотоиндуцированных процессов в биологических системах.

Ключевые слова: неароматические флуоресцирующие аминокислоты, собственная флуоресценция, послесвечение люминесценции при комнатной температуре, вода, ненасыщенный раствор.

DOI: 10.31857/S0006302925010029, EDN: LXZNDY

Недавно было показано, что отдельные неароматические аминокислоты в концентрированных водных растворах или агрегированном состоянии способны излучать флуоресцентный сигнал в видимом диапазоне, который не проявляется в мономерной форме [1–3]. Накопленные за последнее время данные показывают, что такого рода флуоресценция возникает не только у аминокислот, но также у белков и других природных полимеров, и в действительности является общим свойством множества других органических соединений [1, 4–9]. Эта флуоресценция связана с агрегацией мономеров, не имеющих в своем составе ароматических остатков, которые становятся центрами излучения при возбуждении светом на длинноволновой границе УФ-диапазона. Подобного рода флуоресценция наблюдается у карбонилсодержащих соединений, в том числе у органических красителей [10, 11]. Поэтому высказываются предположения о том, что карбонилы, а именно двойная карбонильная связь C=O, при-

существующая во всех аминокислотах, являются вероятным источником автофлуоресценции. Электронные переходы $\pi-\pi^*$, как известно, наблюдаются в соединениях, в структуре которых несущий неподеленную электронную пару гетероатом соединен двойной π -связью с соседним атомом. Типичные переходы $\pi-\pi^*$ наблюдаются для группы C=O, которая присутствует в составе COOH-группы природных протеиногенных аминокислот. Определяющая роль в формировании излучения оптически активных агрегатов отводится перекрыванию электронных облаков при кластеризации, но это не рассматривается в качестве единственной причины наблюдаемого явления [12]. Относительно природы наблюдаемого эффекта флуоресценции в биомолекулах, вызванной агрегацией, в литературе было высказано несколько предположений: что такой эффект может быть обусловлен делокализацией электронов по сети водородных связей [1], нековалентными взаимодействиями, опосредованными водородными

связями [8], переносом протонов через водородные связи [13] и др. Хотя сам факт существования необычного излучения у неароматических аминокислот уже не вызывает сомнения, молекулярное происхождение этого феномена остается все еще неизвестным.

Интересно, что в твердом состоянии природные неароматические аминокислоты обладают способностью не только флуоресцировать, но и фосфоресцировать. Первоначально триплетная эмиссия была обнаружена в работе [2]. В частности, в образцах L-лизина, L-серина и L-изолейцина при времени задержки 0.1 мс авторам удалось зарегистрировать эмиссию с максимумами при 524/513/507 нм, что соответствовало фосфоресценции, наблюдавшейся при комнатной температуре, – редкий феномен даже для ароматических чистых органических соединений. В целом, фосфоресценция неароматических аминокислот практически не изучена, поскольку традиционно триплетная эмиссия считалась в значительной степени свойством твердого состояния и люминесцентное поведение агрегата игнорировалось, если раствор не был эмиссионным [14].

Среди биохимиков широко распространено мнение, что в растворенном состоянии все органические соединения проявляют только кратковременную (мгновенную) флуоресценцию. Как известно, в органических молекулах с ароматическими группами возбужденные электронные состояния соответствуют переходам из синглетного состояния. Переход с триплетного состояния в основное синглетное состояние оказывается запрещенным в соответствии с правилами отбора, и переход из возбужденного в основное состояние происходит через метастабильное триплетное состояние, в связи с чем триплетное состояние в кристаллах оказывается долгоживущим и проявляется во вторичном свечении в виде фосфоресценции [15, 16]. Для фосфоресценции красителей характерна большая длительность послесвечения, достигающая десятки миллисекунд, что превышает длительность флуоресценции ($\sim 10^{-9}$ – 10^{-8} с) более чем в 10^5 раз [15]. Полагают, что в органических красителях способности фосфоресцировать обычно благоприятствует закрепление молекул в «жестких средах», а потому фосфоресценция в растворе наблюдается крайне редко, поскольку возбужденное триплетное состояние легко гасится столкновительным взаимодействием, высокой температурой и растворенным кислородом. Обычно фосфоресценция органических соединений наблюдается при низкой температуре или в условиях инертного газа.

Интересно, что недавние эксперименты с природными соединениями, не являющимися традиционными органическими красителями (например, целлюлоза, крахмал, полиаминокислоты

ϵ -L-лизин-(ϵ -поли-PLL)) показали, что эти соединения, находясь в растворе, практически не люминесцировали, в то время как в кристаллическом состоянии они эффективно фосфоресцировали при комнатной температуре с временем жизни до микросекунд [2, 17]. Очевидно, что механизм люминесценции нетрадиционных люминофоров сильно отличается от механизма, примененного к π -сопряженным системам, и этот механизм еще предстоит установить. Раскрытие механизма этого загадочного феномена имеет много возможностей как для понимания фотофизики люминесценции, так и практического использования в бифотонных приложениях и биофизических исследованиях внутри- и межмолекулярной динамики аминокислот [12].

В настоящей работе в продолжение предыдущих исследований [18–20] для получения большей информации о фотоиндуцированном поведении протоиногенных неароматических аминокислот нас интересовало потенциальное присутствие долгоживущих флуоресцентных состояний моногидрохlorida L-аргинина (L-Arg·HCl), моногидрохlorida L-лизина (L-Lys·HCl) и глицина в слабо концентрированном состоянии. В данной работе показано, что в условиях атмосферного давления и при комнатной температуре исследованные соединения демонстрировали короткоживущую и замедленную флуоресценцию, поведение которой зависело от свойств микросреды (молекулярной концентрации, длины волны возбуждения и «старения» раствора).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реактивы. Химически чистые образцы глицина (Gly, Sigma-Aldrich, США), L-лизина моногидрохlorida (L-Lys·HCl, Sigma-Aldrich, США) и L-аргинина моногидрохlorida (L-Arg·HCl, «Реанал», Венгрия) растворяли в деионизованной воде (MilliQ H₂O, ~18 МОм) при комнатной температуре. Деионизованная вода была получена на системе NANOpure Diamond ultrapure (Barnstead ThermoLyne, США). Дополнительно для того, чтобы исключить присутствие в растворах микрочастиц, готовые растворы образцов пропускали через фильтр (Millex'CV с размером пор 0.22 мкм). Концентрации аминокислот составляли: [L-Lys·HCl] = 0.5–1.00 М, [L-Arg·HCl] = 0.01–1.25 М, [Gly] = 1.0–1.5 М, pH ~6.8. Глицин исследовали в свежеприготовленных растворах и так называемых «состарившихся» образцах, т. е. образцах, выдержаных при комнатной температуре в течение месяца в запечатанном, защищенном от доступа света состоянии.

Сканирование длин волн излучения и возбуждения. Спектры излучения и возбуждения снимали на флуоресцентном спектрофотометре Lumina

Fluorescence (Thermo Scientific, США) в кварцевой кювете с длиной оптического пути 10 мм при комнатной температуре. При проведении измерений разрешающая способность щели возбуждения и излучения составляла 5 нм. Напряжение на фотоумножителе было установлено равным 800 В, а скорость сканирования – на уровне 120 нм/мин. Сканирование возбуждения проводили в диапазоне от 250 до 400 нм, а сканирование эмиссии – в диапазоне от 320 до 600 нм. Для каждой пробы измерения повторяли не менее трех раз, фон (воздух или H_2O) вычитали из среднего значения. Поскольку флуоресценция чрезвычайно чувствительна к присутствию примесей, для предотвращения появления возможного артефактного свечения в отношении используемых кювет соблюдали особую предосторожность по отношению к загрязнению, для чего в качестве контроля использовали образец с деионизованной водой. Все спектры были получены после внесения поправок на изменения интенсивности возбуждающего света и чувствительность детектора к длине волны по всему спектру.

Фосфоресценция. Для зарегистрированных максимумов возбуждения снимали соответствующие спектры испускания, меняя при этом время задержки между возбуждением и испусканием, чтобы выявить как замедленную флуоресценцию, так и возможную фосфоресценцию образца. Эмиссионные спектры записывали в диапазоне сканирования от 320 до 700 нм, используя время задержки после закрытия затвора возбуждения и до начала измерения 1 и 3 мс. Измерения проводили в кварцевой кювете при комнатной температуре.

Обработка данных. Данные обрабатывали с помощью программы Origin версии 6.0 и компьютерных программ, входящих в программное обеспечение каждого прибора. Полученные спектры усредняли по пяти экспериментам.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как уже было упомянуто выше, нетипичное поглощение в УФ-области на длине волны $\lambda \sim 280$ нм обнаружено у неароматических аминокислот в концентрированных водных растворах, порошкообразном и кристаллическом состояниях. При освещении УФ-видимым светом эти природные аминокислоты могут излучать эмиссию в оптическом диапазоне (300–500 нм), обусловленную агрегатами. В настоящей, как и предыдущей работе, спектры возбуждения и флуоресценции аргинина и лизина надежно регистрировали в минимальной концентрации 10 мМ. Однако послесвечение (или замедленную флуоресценцию) детектировали в концентрации не менее 300 мМ, используя задержку по времени 3 мс, но не 1 мс.

Последняя не давала какого-либо значимого сигнала при малых концентрациях. Помимо зависимости от концентрации и длины волны возбуждения обычной флуоресценции, в исследуемых растворах наблюдали концентрационно-зависимую и зависимую от длины волны возбуждения замедленную флуоресценцию. Вид полученных спектров фотоиндцированной флуоресценции и фосфоресценции исследуемых аминокислот представлен на рис. 1 и 2.

На рис. 1а представлены кривые спектров излучения аргинина в концентрации 300 мМ при освещении УФ-светом с длиной волны 280 нм, записанные в режиме флуоресценции и фосфоресценции. Видно, что наблюдаемые спектры люминесценции представляют собой разные по интенсивности широкие полосы (рис. 1а). Интенсивность сигнала, регистрируемого в режиме фосфоресценции (рис. 1а, кривая 2) была намного слабее (в ~40 раз) интенсивности обычной флуоресценции (рис. 1а, кривая 1). В спектре мгновенной флуоресценции наблюдается пик при 389 нм с плечом на 394 и 432 нм (рис. 1б, кривая 1), что согласуется с данными работы [2]. На врезке видно, что появление дополнительных пиков происходит от перекрывания полос, обусловленных присутствием разных агрегированных форм аргинина. Слабый по интенсивности спектр замедленной флуоресценции не имеет выраженного максимума (рис. 1б, кривая 2), а пик в районе 424 нм определяется посредством подходящей экстраполяции спектра гауссовой кривой (рис. 1б, кривая 3) и обусловлен одной из форм, присутствующей в спектре обычной флуоресценции. В спектрах двойного излучения следует отметить близость формы кривых, коротковолновый край которых оказывается более крутым, чем длинноволновый (см, например, рис. 1в). На рис. 1г представлены спектры замедленной флуоресценции L-лизина·HCl в разной концентрации – 10 мМ (кривая 1) и 1.0 М (кривая 2). Видно, что интенсивность излучения растет пропорционально концентрации лизина, что напрямую связано с увеличением вязкости раствора и образованием агрегатов. Это, в свою очередь, предполагает прямую связь между агрегацией и уникальным проявлением двойственной природы флуоресцентной эмиссии. Однако нельзя исключать другие факторы, которые могут способствовать спектроскопическим эффектам, наблюдаемым в растворе исследуемых аминокислот.

Следует отметить, что в глицине способность излучать флуоресценцию, как замедленную, так и обычную, проявлялась только при «старении» раствора, причина этого явления остается все еще неизвестной и требует дальнейшего изучения.

Спектроскопические эксперименты показали, что замедленная (долгоживущая) флуоресценция

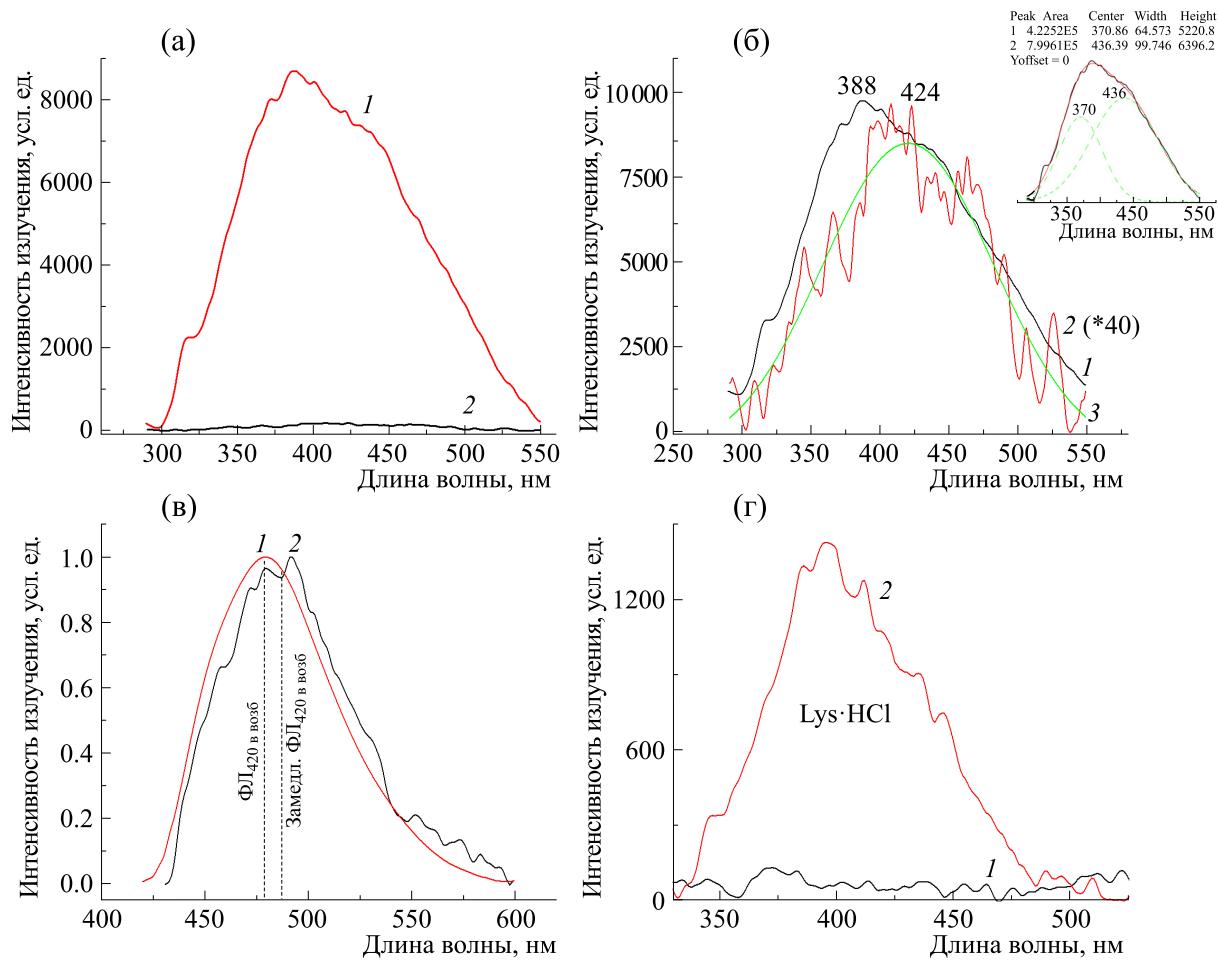


Рис. 1. Спектры флуоресценции L-аргинина·HCl и L-лизина·HCl. (а) – Спектры L-аргинина·HCl при концентрации раствора 300 мМ для задержки по времени $\Delta t = 0$ (спектр обычной (мгновенной) флуоресценции (кривая 1)) и $\Delta t = 3$ мс (спектр замедленной флуоресценции записан спустя 3 мс после возбуждения, $\lambda_{\text{возб}} = 280$ нм (кривая 2)). (б) – Ордината для каждого спектра (кривые взяты из рис. 1а) отдельно масштабирована для удобства визуализации. (в) – Нормализованные спектры испускания кратковременной (кривая 1) и замедленной (кривая 2) флуоресценции были получены для растворов L-аргинина·HCl в концентрации 300 мМ. Длину волны возбуждения $\lambda_{\text{возб}} = 420$ нм с временем экспозиции 5 с и $\Delta t = 3$ мс использовали со спектром испускания замедленной флуоресценции. (г) – Спектр испускания замедленной флуоресценции был получен для растворов L-лизина·HCl в концентрации 10 мМ (кривая 1) и 1.0 М (кривая 2). Длину волны возбуждения $\lambda_{\text{возб}} = 310$ нм с временем экспозиции 5 с и $\Delta t = 3$ мс использовали со спектром испускания замедленной флуоресценции L-лизина·HCl.

аналогично обычной (мгновенной) флуоресценции проявляет зависимость от длины волны возбуждения. Такая выраженная зависимость от длины волны возбуждения происходит в нарушение установленного правила Вавилова–Каши [15, 16], когда коротковолновая полоса излучения возникает из коротковолнового спектра возбуждения, а длинноволновая полоса излучения – из длинноволнового спектра возбуждения. Подобное «сдвиговое» поведение флуоресцентного излучения вызвано изменением длины волны возбуждения на красном крае спектра поглощения. Это довольно редкое явление даже для традиционных флуорофоров, таких как органические красители (см. обзорную работу [21] и ссылки в

ней), и в них оно первоначально наблюдалось только в жестких и вязких средах. Относительно природы зависящей от концентрации и возбуждения эмиссии неароматических аминокислот высказываются предположения о том, что в действительности зависящая от длины волны возбуждения флуоресценция возникает не из самого мономера, а из его самоагрегированной формы (форм) [2, 3].

Наша предыдущая работа подтвердила наличие разного вида излучающих молекулярных структур в растворе неароматических аминокислот [18, 19]. Появлению такого разнообразия молекулярных образований может также способствовать присутствие в среде УФ-видимого света,

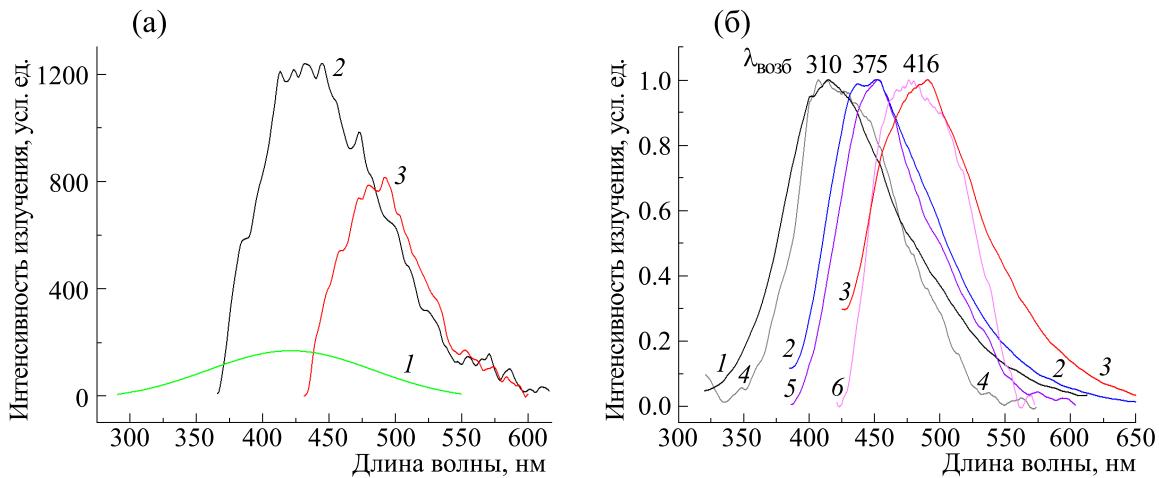


Рис. 2. Спектры послесвечения аминокислот при разных длинах волн возбуждения. (а) – Спектры замедленной флуоресценции L-аргинина·HCl, кривые 1–3 записаны соответственно при длинах волн возбуждения $\lambda_{\text{возб}} = 280, 355$ и 420 нм с временем задержки $\Delta t = 3$ мс и временем экспозиции 5 с; использованная концентрация L-аргинина·HCl составляла 300 мМ. (б) – Нормализованные спектры обычной (кривые 1–3) и замедленной (кривые 4–6) флуоресценции глицина, записанные соответственно при длинах волн возбуждения $\lambda_{\text{возб}} = 310, 375$ и 416 нм. Для записи спектров замедленной флуоресценции использовали время задержки $\Delta t = 3$ мс и экспозицию длительностью 5 с. Используемая концентрация глицина составляла 750 мМ.

в том числе зондирующего излучения, который вдалеках от насыщения растворах неароматических аминокислот может индуцировать образование димеров, ассоциатов и зародышей кристаллов [18, 19]. Помимо способности фотонов вызывать электронное возбуждение в хромофорах, свет индуцирует в среде осциллирующее электрическое поле, которое может влиять на частоту колебаний связанных электронов, изменять внутренние характеристики диполей в результате смещения связанных зарядов и производить дипольные переходы [22]. Аминокислоты, как известно, обладают помимо постоянного дипольного момента наведенным дипольным моментом, т. е. под действием света дипольный момент возбужденного состояния больше, чем дипольный момент основного состояния (см., например, работу [23]). Следовательно, возбужденное состояние мономеров аминокислот более полярно по сравнению с основным состоянием, и для стабилизации системы в окружении возбужденного мономера должна произойти соответствующая перестройка. В то же время свет, помимо эффектов поляризации, может вызывать специфические взаимодействия аминокислот между собой и/или с молекулами воды, приводящие к образованию водородных связей и кластерных структур. И то, и другое может влиять на их спектральные характеристики в возбужденном состоянии [15]. Тонкие изменения в молекулярной конформации и упаковке могут привести к различиям в оптических свойствах и различным фотофизическим эффектам.

На рис. 2 показаны кривые спектров послесвечения используемых аминокислот. Спектры замедленной флуоресценции аргинина при разных длинах волн возбуждения (355 и 420 нм) записаны с задержкой по времени $\Delta t = 3$ мс, т. е. спустя 3 мс после возбуждения. Как и в случае возбуждения растворов при $\lambda_{\text{возб}} = 280$ нм, интенсивность сигнала замедленной флуоресценции при $\lambda_{\text{возб}} = 355$ нм и $\lambda_{\text{возб}} = 420$ нм была слабее обычной флуоресценции в 15 и 22 раза соответственно. Как видно, эффективность замедленной флуоресценции зависит от длины волны возбуждения. В аргинине, как и в лизине и глицине, наиболее сильный сигнал производило возбуждение светом на длине волны 355 нм (рис. 2а, кривая 2). Длинноволновое возбуждение не производило заметного сигнала (результаты не показаны). В то же время в этих экспериментах обращает на себя внимание факт того, что для всех исследованных образцов зависимые от $\lambda_{\text{возб}}$ профили спектров замедленной флуоресценции демонстрировали относительно незначительные изменения в положении пиков и плечах в сравнении со спектрами обычной флуоресценции (см., например, рис. 2б).

Эти результаты показывают, что действительно, наблюдаемое долгоживущее излучение является другой формой флуоресценции. Ранее подобное явление было описано для органических красителей [15], когда излучение происходило не с триплетного уровня T_1 , как в случае фосфоресценции, а с синглетного уровня S_1 в результате обратной интеркомбинационной конверсии с

уровня T_1 на уровень S_1 (см. рис. 3). В этом случае самое низкое возбужденное триплетное состояние энергетически очень близко к основному синглетному состоянию.

Как уже было отмечено выше, фотофизические процессы в органических красителях с циклическими группами после поглощения света включают не только традиционную флуоресценцию, но также долгоживущую флуоресценцию и фосфоресценцию, что обусловлено сложностью электронных структур их возбужденных состояний. В красителях первые возбужденные электронные состояния соответствуют синглетному S_1 и триплетному T_1 термам. Флуоресценция наблюдается при излучательном переходе из первого синглетного состояния в основное $S_1 \rightarrow S_0$ (рис. 3). Радиационный переход из триплетного состояния в основное синглетное состояние $T_1 \rightarrow S_0$ запрещен по спину, а синглет-синглетный переход $S_1 \rightarrow S_0$, наоборот, разрешен. В связи с этим триплетное электронное состояние оказывается долгоживущим и проявляется во вторичном свечении как фосфоресценция, когда электрон в возбужденном триплетном состоянии излучательно релаксирует в основное состояние, испуская фотон света меньшей энергии. Обычно полоса фосфоресценции смещена в сторону длинных волн. Распад возбужденного триплетного состояния в основное состояние возможен также через процесс реконверсии (обратной интеркомбинационной конверсии), когда триплетное возбужденное состояние переходит в противоположное синглетное состояние без излучения. В этом случае тепловая энергия используется для преобразования электрона из триплетного возбужденного состояния в синглетное возбужденное состояние ($T_1^* \rightarrow S_1$), где он затем излучается в событии флуоресценции $S_1 \rightarrow S_0$ [15, 24, 25]. Этот процесс называется замедленной флуоресценцией 1-го типа [15] или термоактивированной замедленной флуоресценцией [24, 25] и характеризуется неизменным спектром флуоресценции. Большая длительность триплетного состояния, превышающая в 10^4 – 10^6 раз время жизни основного состояния в S_1 ($\tau = 10^{-9}$), и создает тот медленно исчерпывающийся резерв, который аномально затягивает исчезновение флуоресцирующих молекул после выключения света.

Таким образом, образцы исследованных неароматических аминокислот продемонстрировали в концентрированных растворах послесвечение с неизменным по сравнению с флуоресцентным спектром, называемое замедленной флуоресценцией. Реализация такого рода люминесцентного процесса при комнатной температуре в условиях окружающей среды предполагает кластеризацию нетрадиционных люминофоров и ригидность

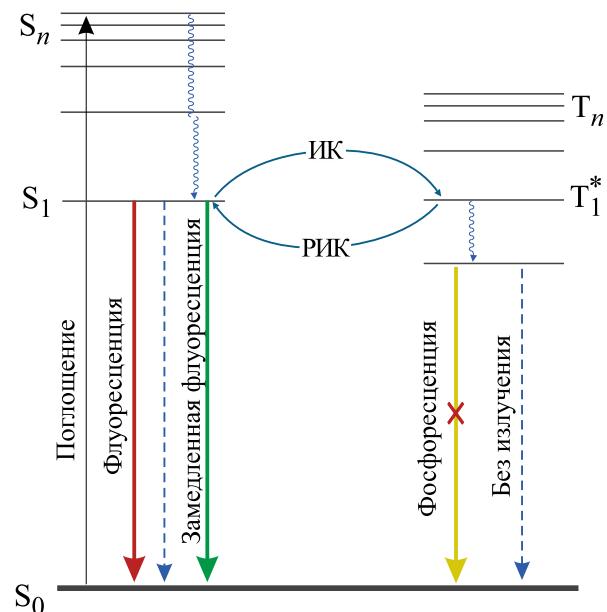


Рис. 3. Упрощенное изображение диаграммы Яблонского, представляющей фотофизические процессы кратковременной (обычной) флуоресценции и замедленной флуоресценции. Сокращения: ИК – интерконверсия, РИК – реинконверсия, т. е. обратная интеркомбинационная конверсия.

окружения. Последняя устанавливается через электростатические взаимодействия, водородо- и координационное связывание, которые могут увеличивать молекулярную конформационную ригидность в ионных системах [24–26]. Как известно, в воде аминокислоты существуют в виде цвиттерионов с двумя функциональными группами COO^- и NH_3^+ , участвующими как в электростатических взаимодействиях, так и в образовании водородных связей. Такие сильные взаимодействия не только создают жесткую среду, ограничивая молекулярные движения, но и подавляют безизлучательные переходы триплетных экситонов, тем самым обеспечивая долгоживущую флуоресценцию, возникающую через механизм реконверсии из самого низкого триплетного состояния T_1 в самое низкое синглетное состояние S_1 .

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе впервые продемонстрировано послесвечение неароматических аминокислот L-аргинина гидрохлорида, L-лизина гидрохлорида и глицина при комнатной температуре в водных растворах. Этот процесс наблюдали наряду с обычной флуоресценцией, основным отличием которого была малая интенсивность и большая длительность излучения. Наличие двойной флуоресценции указывает на существование у нетра-

диционных люминофоров разных по природе возбужденных состояний.

Обнаружена корреляция в форме спектров по-слесвещения и обычной флуоресценции, что соответствует термоактивированной замедленной флуоресценции, возникающей через механизм реконверсии из самого низкого триплетного состояния T_1 в самое низкое синглетное состояние S_1 , обычно реализующейся у органических красителей в жесткой среде, которой не являются используемые растворы. Во всяком случае, этот интересный факт требует дальнейшего изучения.

Полученные результаты важны для дальнейшего понимания фотоиндуцированных процессов в биомолекулах и могут быть полезны для разработки приложений в биомедицинской и оптоэлектронной областях.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают свою благодарность за помощь в работе сотрудникам Н.К. Призовой и Л.М. Хайбулаевой. Работа была выполнена с использованием оборудования Сектора оптической микроскопии и спектрофотометрии ЦКП ПНЦБИ РАН (<http://www.ckp-rf.ru/ckp/670266/>).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Shukla A., Mukherjee S., Sharma S., Agrawal V., Kishan K. V. R., and Guptasarma P. A novel UV laser induced visible blue radiation from protein crystals and aggregates: scattering artifacts or fluorescence transitions of peptide electrons delocalized through hydrogen bonding? *Arch. Biochem. Biophys.*, **428** (2), 144–153 (2004). DOI: 10.1016/j.abb.2004.05.007
- Chen X., Luo W., Ma H., Peng Q., Yuan W. Z., and Zhang Y. Prevalent intrinsic emission from nonaromatic amino acids and (poly)aminoacids. *Sci. China Chem.*, **61** (3), 351–359 (2018). DOI: 10.1007/s11426-017-9114-4
- Homchaudhuri L. and Swaminathan R. Novel absorption and fluorescence characteristics of L-lysine. *Chem. Lett.*, **30** (8), 844–845 (2001).
- del Mercato L. L., Pompa P. P., Maruccio G., Torre A. D., Sabella S., Tamburro A. M., Cigolani R., and Rinaldi R. Charge transport and intrinsic fluorescence in amyloid-like fibrils. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **104** (46), 18019–18024 (2007). DOI: 10.1073/pnas.0702843104
- Chan F. T. S., Kaminski Schierle G. S., Kumita J. R., Bertroncini C. W., Dobson C. M. and Kaminski C. F. Protein amyloids develop an intrinsic fluorescence signature during aggregation. *Analyst.*, **138** (7), 2156–2162 (2013). DOI: 10.1039/C3AN36798C
- Zhang H., Zhao Z., McGonigal P. R., Ye R., Liu S., Lam J. W. Y., Kwok R. T. K., Yuan W. Z., Xie J., Rogach A. L., and Tang B. Z. Clusterization-triggered emission: Uncommon luminescence from common materials. *Materials Today*, **32**, 275–292 (2020). DOI: 10.1016/j.mattod.2019.08.010
- Guptasarma P. Solution-state characteristics of the ultraviolet A-induced visible fluorescence from proteins. *Arch. Biochem. Biophys.*, **478** (2), 127–129 (2008). DOI: 10.1016/j.abb.2008.08.002
- Ye R., Liu Y., Zhang H., Su H., Zhang Y., Xu L., Hu R., Kwok R. T. K., Wong K. S., Lam J. W. Y., Goddard III W. A., and Tang B. Z. Non-conventional fluorescent biogenic and synthetic polymers without aromatic rings. *Polym. Chem.*, **8** (10), 1722–1727 (2017). DOI: 10.1039/c7py00154a
- Pinotsi D., Buell A. K., Dobson C. M., Kaminski Schierle G. S., and Kaminski C. F. A label-free, quantitative assay of amyloid fibril growth based on intrinsic fluorescence. *Chem. Bio. Chem.*, **14** (7), 846–850 (2013). DOI: 10.1002/cbic.201300103
- Hong Y., Lam J. W. Y., and Tang B. Z. Aggregation-induced emission: Phenomenon, mechanism and applications. *Chem. Commun.*, **29**, 4332–4353 (2009). DOI: 10.1039/B904665H
- Homchaudhuri L. and Swaminathan A.G. Near ultraviolet absorption arising from lysine residues in close proximity: a probe to monitor protein unfolding and aggregation in lysine-rich proteins. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **77** (4), 765–766 (2004). DOI: 10.1246/bcsj.77.765
- Liao P., Huang J., Yan Y., and Tang B. Z. Clusterization-triggered emission (CTE): one for all, all for one. *Mater. Chem. Front.*, **5** (18), 6693–6717 (2021). DOI: 10.1039/D1QM00808K
- Pinotsi D., Grisanti L., Mahou P., Gebauer R., Kaminski C.F., Hassanali A., and Kaminski Schierle G. S. Proton transfer and structure-specific fluorescence in hydrogen bond-rich protein structures. *J. Am. Chem. Soc.*, **138** (9), 3046–3057 (2016). DOI: 10.1021/jacs.5b11012
- Zhao W., He Z., and Tang B. Z. Room-temperature phosphorescence from organic aggregates. *Nat. Rev. Mater.*, **5** (12), 869–885 (2020). DOI: 10.1038/s41578-020-0223-z
- Теренин А. Н. *Фотоника молекул красителей и родственных органических соединений* (Наука, Ленинград, 1967).
- Lakowicz J. R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3rd edition, Ed. by J. R. Lakowicz (Springer, Berlin., Germany, 2006).
- Luo X., Tian B., Zhai Y., Guo H., Liu S., Li J., Li S., James T. D., and Chen Z. Room-temperature phosphorescent materials derived from natural resources. *Nat. Rev. Chem.*, **7** (11), 800–812 (2023). DOI: 10.1038/s41570-023-00536-4
- Дегтярева О. В., Афанасьев В. Н., Хечинашвили Н. Н., Терпугов Е. Л. Структура и свойства L-лизина монохлорида и L-глицина в жидкой фазе при воз-

- действии оптическим излучением низкой интенсивности. *Современные проблемы науки и образования*, **4**, 288 (2013). URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=10010>.
19. Terpugov E. L., Kondratyev M. S. and Degtyareva O. V. Light-induced effects in glycine aqueous solution studied by Fourier transform infrared-emission spectroscopy and ultraviolet-visible spectroscopy. *J. Biomol. Struct. Dynamics*, **39** (1), 108–117 (2020). DOI: 10.1080/07391102.2020.1717628
 20. Terpugov E. L., Udal'tsov S. N., and Degtyareva O. V. Study of the Spectral Characteristics of L-Lysine and L-Arginine Using UV-VIS Spectroscopy and Steady-State and Synchronous Fluorescence Spectroscopy. *Bio-physics*, **66** (5), 726–732 (2021). DOI: 10.1134/S0006350921050250
 21. Demchenko A. P. The red-edge effects: 30 years of exploration. *Luminescence*, **17** (1), 19–42 (2002). DOI: 10.1002/bio.671
 22. Борн М. и Вольф Э. М. *Основы оптики* (Наука, М., 1973).
 23. Khanarian G. and Moore W. J. The Kerr effect of amino acids in water. *Austral. J. Chem.*, **33** (8), 1727–1741 (1980). DOI: 10.1071/CH9801727
 24. Dou X., Zhou Q., Chen X., Tan Y., He X., Lu P., Sui K., Tang B. Z., Zhang Y., and Yuan W. Z. Clustering-triggered emission and persistent room temperature phosphorescence of sodium alginate. *Biomacromolecules*, **19** (6), 2014–2022 (2018). DOI: doi.org/10.1021/acs.biomac.8b00123
 25. Xiao G., Fang X., Ma Yu-J., and Yan D. Multi-mode and dynamic persistent luminescence from metal cytosine halides through balancing excited-state proton transfer. *Adv. Sci. (Weinh)*, **9** (16), e2200992 (2022). DOI: 10.1002/advs.202200992
 26. Zhang P., Zhang S., Yang J., Li P., and Li H. Clusterization-triggered room temperature phosphorescence supramolecular assembly with extraordinary stimulus-responsive features from nonaromatic amino acids. *Chemistry – Eur. J.*, **29** (38), e202300371 (2023). DOI: 10.1002/chem.202300371

UV-Visible Light-Induced Luminescence Processes in Non-Aromatic Amino Acids Solution at Room Temperature

E.L. Terpugov*, S.N. Udal'tsov**, and O.V. Degtyareva*

*Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia

**Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul. 2/2, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia

We demonstrate for the first time that aqueous solutions of non-aromatic amino acids such as L-arginine hydrochloride, L-lysine hydrochloride and glycine can simultaneously emit fluorescence and afterglow upon excitation with UV-visible light at room temperature. The luminescence afterglow differs from conventional fluorescence by its weak intensity and long emission duration. The presence of short-lived and long-lived fluorescence in non-traditional luminophores indicates a dual nature of fluorescence and the existence of excited states of different natures. The detected correlation in the shape of short-lived and long-lived fluorescence spectra suggests that the luminescence afterglow corresponds to thermally activated delayed fluorescence arising through the mechanism of reconversion from the lowest triplet state T_1 to the lowest singlet state S_1 . Further studies will help to shed light on the understanding of the biophysics of photoinduced processes in biological systems.

Keywords: non-aromatic fluorescent amino acids, intrinsic fluorescence emission, afterglow luminescence at room temperature, water, unsaturated solution