УДК 539.19

М.І. Шафраньош, І.Ю. Хмара, М.І. Суховія, М.С. Головня, І.І. Шафраньош
Ужгородський національний університет, 88000, Ужгород, вул. Волошина, 54
e-mail: ivanshafr@gmail.com

ФРАГМЕНТАЦІЯ МОЛЕКУЛ ЦИТОЗИНУ ПІД ДІЄЮ ЕЛЕКТРОННОГО УДАРУ

Методом електронного і молекулярного пучків, що перетинаються, та квантово-хімічним методом AM1 виконані дослідження фрагментаційних процесів в молекулі цитозину, викликаних електронним ударом. Приведені ймовірні схеми фрагментації цитозину, абсолютні величини парціальних перерізів іонізації та їх енергетичні залежності. Показано, що величина сумарного перерізу утворення позитивно заряджених фрагментів в 3,7 раз перевищує переріз утворення молекулярного іону. Проведено розрахунки параметрів молекули цитозину та її іонів.

Ключові слова: молекула цитозину, електрон, переріз іонізації, позитивний іон.

Вступ

Основи нуклеїнових кислот: цитозин, аденін, тимін, урацил та гуанін відносяться до числа найважливіших біомолекул. Їх виняткова біологічна значущість дала потужний поштовх для системних досліджень непружних взаємодій цих молекул з вторинними електронами, які утворюються у значній кількості в речовині при дії випромінювання різних видів (γ- промені, електрони, іони тощо) [1-6]. Особлива роль в цих взаємодіях відводиться процесам іонізації, які започатковують ланцюг деструктивних змін на молекулярному рівні біоструктур. При енергіях іонізуючих електронів, що перевищують енергію іонізації молекули, ймовірне утворення іона в електронно-збудженому стані. Дисипація енергії цього стану, головним чином, проходить двома шляхами – радіаційним, із зміною електронної конфігурації, або не радіаційним за рахунок перетину потенціальних поверхонь. Отже, збуджений іон може перейти в основний стан з надлишком коливальної енергії. В той же час при перетині потенціальних поверхонь перехід іону в основний стан не є єдино можливим. Якщо енергія збудженого стану іона є достатньою для його розпаду, то з'являється можливість його фрагментації із цього стану. У відповідності до класичних схем фрагментації [7], що побудовані на основі мас-спектрометричних досліджень складних молекул, під дією електронного удару у молекулі відбувається двоелектронний перехід. В результаті цього утворюються збуджені позитивні молекулярні іони (т. зв. „материнські" іони), які мають великий надлишок енергії. У подальшому „материнські" іони розпадаються, продукуючи при цьому заряджені та нейтральні фрагменти. Розпад може відбуватися у кількох напрямках і до тих пір, поки внутрішня енергія зарядженого фрагменту буде достатньою для подальшої фрагментації. Таким чином, представляється важливим детально дослідити процес фрагментації цитозину під дією електронного удару, що і є метою даного дослідження.

Експеримент та метод розрахунку

Експериментальні дослідження були виконані в умовах пучків електронів та молекул цитозину, що перетинаються.

Техніка та методика експерименту детально описані в наших попередніх роботах [8, 9]. Пучок досліджуваних молекул отримується за допомогою термічного ефузійного джерела багатоканального типу та системи колімуючих щілин. Температура ефузійного джерела з препаратом цитозину в процесі вимірювань не переви-

щувала 405 К, яка є нижчою за температуру його фрагментації. Препарат для досліджень був виготовлений компанією Sigma-Aldrich (чистота 99%).

В якості джерела електронів використовувалася п'ятиелектродна гармата із катодом, виготовленим із торованого вольфраму. Електрони пучка, що пройшли область зіткнень, уловлювалися циліндром Фарадея, який знаходився під негативним потенціалом. Виміри проводилися при силі струму пучка електронів ~$5\cdot10^{-6}$А і енергетичній неоднорідності електронів на піввисоті їх енергетичного розподілу $\Delta E_{½}$ ~0,3 еВ. Електронна гармата розміщувалася у поздовжньому магнітному полі з індукцією B = $1{,}2\cdot10^{-2}$ Тл. Калібрування енергетичної шкали електронів здійснювалося за резонансним піком утворення іонів SF^{-6}, енергетичне положення якого визначало нуль шкали.

Іони, що утворилися в області перетину електронного та молекулярного пучків, витягувались електричним полем і направлялися для мас-спектрометричного аналізу за відношенням m/z (m і z-відповідно маса і заряд іона). Для цієї мети були використані мас-спектрометр МИ 1201 (для запису мас-спектрів) та лабораторний макет мас-спектрометра з відхиленням іонів на 180° (для вимірів енергетичних залежностей парціальних перерізів іонізації). Експериментальні виміри здійснювалися в два етапи: на першому етапі записувались мас-спектри молекул при енергії бомбардуючих електронів 95 еВ та проводилася ідентифікація ліній мас-спектрів; на другому етапі вивчалися енергетичні залежності перерізів утворення заряджених фрагментів молекули цитозину для вибраного відношенням m/z. Абсолютні величини парціальних перерізів іонізації визначалися шляхом їх нормування на абсолютні величини повних перерізів іонізації [8].

Приведені в роботі дані про перерізи утворення позитивних іонів отримані шляхом усереднення результатів п'яти вимірів. Відносні похибки вимірів становлять: 12% – для енергетичних залежностей перерізів іонізації; 21% – для абсолютних величин.

Для теоретичного моделювання процесів фрагментації молекули цитозину під дією електронного удару був використаний квантово-хімічний метод AM1 [10, 11], який входить у пакет програм HyperChem 8.1 [12]. Пакет містить програми, що забезпечують можливість квантово-хімічного розрахунку хімічних частинок речовини методами неемпіричної і напівемпіричної квантової хімії. Метод AM1 є покращенням методу MNDO, що дозволяє провести більш якісні розрахунки електронної структури, повної енергії теплоти утворення частинок та оптимізувати їх геометрію. В проведених розрахунках AM1 використовувався в режимі оптимізації всіх структурних параметрів з нормою градієнта < 0,01.

Результати досліджень та їх обговорення

Мас-спектр цитозину при енергії бомбардуючих електронів 95 еВ приведений на рис. 1, де по осі абсцис показано відношення маси іона до його заряду в системі атомних одиниць, а по осі ординат – струм утворених іонів у відносних одиницях.

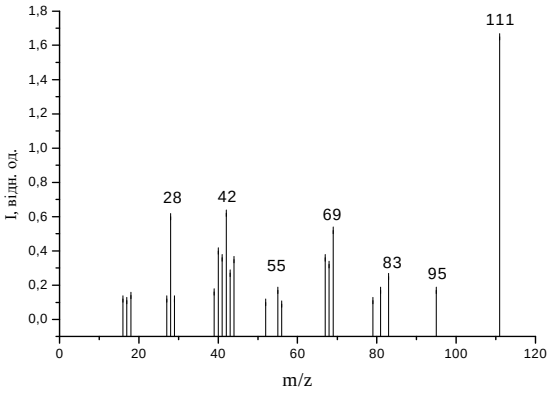

Рис. 1. Мас-спектр молекул цитозину.

Схеми фрагментації молекули цитозину та її напрямки можна представити таким чином:

1) молекулярний іон втрачає нейтральний фрагмент *HNCO* (43 атом. од.) і утворює заряджений фрагмент $C_3H_4N_2^+$ (m/z = 68), про що свідчить інтенсивна лінія у мас-спектрі. Особливістю цитозину

є те, що його молекулярний іон з помітною ймовірністю може втратити радикал *NCO* (m/z = 42), утворюючи таким чином заряджений фрагмент $C_3H_5N_2^+$ (m/z = 69). Відповідна лінія є інтенсивною у мас-спектрі цитозину. У подальшому новоутворені іони втрачають фрагмент *CN*, що у випадку цитозину приводить до появи іонів $C_2H_3N^+$ (m/z = 41) або $C_2H_2N^+$ (m/z = 40);

2) молекулярний іон, втрачаючи нейтральний фрагмент $C_3H_5N_2$, утворює нестійкий заряджений фрагмент $CHNO^+$, який із втратою атома водню переходить у стабільний іон CNO^+ (m/z = 42 атом. од.);

3) цитозин характеризується наявністю бокової – амінної групи. Іони цієї групи у спектрі представлені лінією малої інтенсивності. Натомість інтенсивну лінію m/z = 42 можна трактувати як іонні фрагменти $CH_2N_2^+$, які включають амінну групу;

4) наявність інтенсивної лінії при m/z = 28 у мас-спектрі частково можна пояснити розпадом автоінізаційних станів молекули з утворенням іонів *CO* та нейтральних залишків;

5) присутність малоінтенсивних ліній на приведеному мас-спектрі в околі інтенсивних ліній можна трактувати проявом ізотопного складу іонів, а також відщепленням атомів водню від іонів у процесі їх фрагментації.

Приведені схеми уявляються найбільш вірогідними, однак не виключається перебіг фрагментації також за іншими схемами.

Дані про абсолютні перерізи утворення заряджених фрагментів молекули цитозину приведені в табл. 1. Її аналіз показує, що домінантним процесом в утворенні позитивних іонів цитозину є утворення молекулярного іона (переріз за порядком величини 10^{-16} см^2), що свідчить про достатню стійкість цитозину до електронного удару. Це дуже значимий факт для такої складної молекули, як цитозин, коли найбільший парціальний переріз іонізації характеризує утворення молекулярного іону. Багато складних молекул не мають стійких молекулярних іонів. Водночас слід звернути увагу на величину сумарного перерізу утворення інших фрагментів, який в 3,7 раз перевищує переріз утворення молекулярного іону.

Як видно із рис. 2, енергетична залежність перерізу утворення молекулярного іона (крива 2), в загальних рисах (поріг іонізації, енергії максимумів), подібна до енергетичної залежності повного перерізу іонізації (крива 1). Натомість для зарядженого фрагменту молекули $C_3H_5N_2^+$ (m/z = 69), поріг його утворення та положення максимального перерізу зсуваються в область більш високих енергій. Зокрема, поріг утворення іонного фрагменту цитозину ($C_3H_5N_2^+$, m/z = 69), становить 10,8 ± 0,2 еВ.

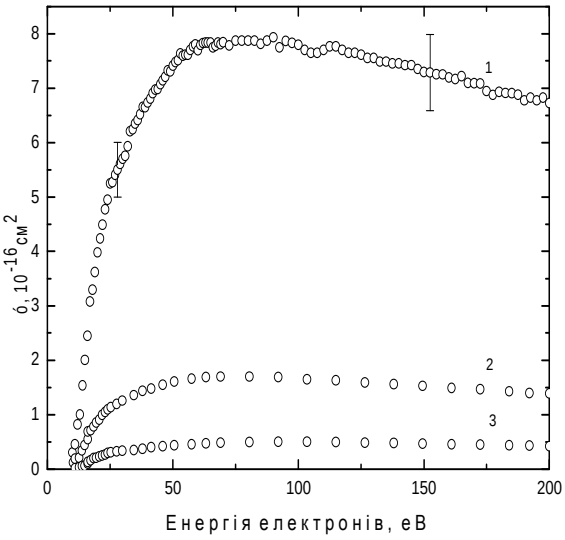

Рис. 2. Залежності абсолютних величин перерізів утворення позитивних іонів цитозину від енергії електронів: 1 – всі іони; 2 – молекулярний іон; 3 – іонний фрагмент $C_3H_5N_2^+$ (m/z = 69).

За допомогою методу AM1 нами були проведені теоретичні розрахунки довжин зв'язків у молекулі, молекулярному іоні та в інших заряджених фрагментах цитозину.

При цьому ми вважали, що розрив звя'зків у молекулярному іоні та заряджених фрагментах буде відбуватися там, де сума довжин зв'язків найбільша з усіх можливих варіантів, а сила взаємодії найменша. Було встановлено, що найбільш ймовірно молекулярний іон цитозину

Таблиця 1

Абсолютні величини перерізів утворення позитивних іонів молекул цитозину та їх фрагментів при енергії електронів 95 еВ

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

розпадається на нейтральний фрагмент CNO і іонний фрагмент $C_3H_5N_2^+$ (m/z = 69 а.о.м.), від якого в свою чергу відірветься атом водню H з утворенням позитивно зарядженого фрагменту $C_3H_4N_2^+$ (m/z = 68 а.о.м.). Дані табл. 1 свідчать, що перерізи утворення іонізованих фрагментів CO^+ та CH_2N^+ є одними із найбільших. В той же час, експериментально розділити ці два фрагменти є неможливо, так як вони мають однакове відношення m/z = 28 атом. од. Натомість, теоретичний розгляд схем фрагментації показує, що утворення фрагмента CO^+ буде переважаючим.

Висновки

Експериментально визначені абсолютні величини перерізів утворення позитивних іонів біологічно важливої молекули цитозину під дією повільних електронів. Показано, що величина сумарного перерізу утворення позитивно заряджених фрагментів в 3,7 раз перевищує переріз утворення молекулярного іону. Представлені ймовірні схеми фрагментації молекули цитозину. Результати квантово-хімічного розрахунку добре узгоджуються з даними експерименту. Показано, що модельний опис фрагментації біомолекули дає можливість розділити утворення двох позитивно заряджених фрагментів, які мають однакове відношення m/z.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Суховия М.И., Шафраньош И.И. О возбуждении азотистых оснований нуклеиновых кислот низкоэнергетическими электронами // В кн.: Механизмы радиационного поражения и восстановления нуклеиновых кислот. – Пущино-на-Оке, 1980. - С. 51.
2. Суховия М.И., Славик В.Н., Шафраньош И.И., Шимон Л.Л. Особенности взаимодействия молекул оснований нуклеиновых кислот с электронами малых энергий // Биополимеры и клетка. - 1991. - 7, вып.6. – С. 77-82.
3. Aflatooni K., Gallup G.A. and Burrow P.D. 1998 J. Phys. Chem. 102 6205.
4. Feil S., Gluch K., Matt-Leuber S., Scheier P., Limtrakul J., Probst M., Deutsh H., Becker K., Stamatovic A. and 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.
5. Aflatooni K. Total dissociative electron attachment cross sections for molecular constituents of DNA / K. Aflatooni, A.M. Scheer, P.D. Burrow // J. Chem. Phys. - 2006. - V. 125. - P. 054301-1 – 054501-5.

6. Афросимов В.В., Басалаев А.А., Морозов Ю.Г., Панов М.Н., Смирнов О.В., Тропп Э.А. Фрагментация молекул аденина и урацила при захвате электронов в столкновении с ионами. - ЖТФ. 2012, т. 82. выпуск 5, - С. 16-23.
7. Полякова А.А. Молекулярный масс-спектральный анализ органических соединений / Полякова А.А. – Москва: Химия, 1993. – 248 с.
8. Shafranyosh I.I., Sukhoviya M.I., Shafranyosh M.I. Absolute cross sections of positive and negative ion production in electron collision with cytosine molecules // J.Phys.B. 2006, v.39. P. 4155- 4162.
9. Шафраньош М.І. Перерізи дисоціативної іонізації в процесах зіткнень електронів з молекулами тиміну та урацилу // Науковий вісник Ужгородського ун-ту. Серія Фізика. – 2009. - Вип. 25. - С. 208-213.
10. Dewar M.J.S. The MNDO method. Approximations and parameters / M.J.S. Dewar, W. Thiel // J. Am. Chem. Soc. – 1977 - V. 99, N 15. - P. 4899-4914.
11. Dewar M.J.S. AM1: A general purpose quantum mechanical molecular model / M.J.S. Dewar, E.G. Zoebish, E.E. Headly, J.J. Stewart // J. Am. Chem. Soc. – 1985. – V. 107, N 13. – P. 3902-3909.
12. Hypercube Inc, 419 Phillip St, Waterloo, Ont, Canada N2L 3X2 (519)725-4040Info 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/

Стаття надійшла до редакції 03.04.13

M.I. Shafranyosh, I.Yu. Khmara, M.I. Sukhoviya, M.S. Golovnja, I.I. Shafranyosh
Uzhhorod National University, 88000, Uzhhorod, Voloshin Str., 54, Ukraine

FRAGMENTATION OF CYTOSINE MOLECULES UNDER ELECTRON IMPACT

By means of crossing electronic and molecular beams and the quantum-chemical method AM1, there are made the investigations of fragmentation processes in a cytosine molecule; these processes are caused by an electron impact. There are given the probable schemes of cytosine fragmentation, absolute values of ionization partial sections and their energetic dependences. It is shown that the value of the total section of formation of positively charged fragments is 3.7 times larger than the section of the molecular ion formation. There are made the calculations of the parameters of the cytosine molecule and its ions.

Keywords: cytosine molecule, electron, cross section of ionization, positive ion.

М.И. Шафраньош, И.Ю. Хмара, М.И. Суховия, М.С. Головня, И.И. Шафраньош
Ужгородский национальный университет, 88000, Ужгород, ул. Волошина, 54

ФРАГМЕНТАЦИЯ МОЛЕКУЛ ЦИТОЗИНА ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭЛЕКТРОННОГО УДАРА

Методом пересекающихся электронного и молекулярного пучков и квантово-химическим методом AM1 выполнены исследования фрагментационных процессов в молекуле цитозина, инициированных электронным ударом. Приведены вероятные схемы фрагментации цитозина, абсолютные величины парциальных сечений ионизации и их энергетические зависимости. Указано, что величина суммарного сечения образования положительно заряженных фрагментов в 3,7 раза превышает сечения образования молекулярного иона. Проведен расчет параметров молекулы цитозина и ее ионов.

Ключевые слова: молекула цитозина, электрон, сечение ионизации, положительный ион.