

02;14

## Фрагментация молекулы валина электронным ударом

© В.С. Вукстич, Л.Г. Романова, И.Г. Мегела, А.В. Папп,  
А.В. Снегурский<sup>†</sup>

Институт электронной физики НАН Украины, Ужгород, Украина  
<sup>†</sup> E-mail: snegursky.alex@gmail.com

Поступило в Редакцию 1 мая 2016 г.

Методом масс-спектрометрического анализа исследовано образование ионных продуктов однократной и диссоциативной ионизации молекулы валина ( $C_5H_{11}NO_2$ ) электронами высоких (11.5 MeV) и низких (менее 150 eV) энергий. Получены масс-спектры исследуемой молекулы и припороговые функции выхода ее ионных фрагментов, для которых определены абсолютные значения энергий появления. Проведенный анализ изменений масс-спектров молекулы валина, облученной при дозах излучения 5 и 20 kGy, по сравнению с масс-спектром необлученных молекул показывает, что высокоэнергетическое облучение приводит к необратимым изменениям в структуре части исходных молекул.

DOI: 10.21883/PJTF.2017.09.44571.16322

Взаимодействие высокоэнергетического ионизирующего излучения с биологическими молекулами, безусловно, представляет значительный интерес с точки зрения анализа его влияния на процессы, протекающие в клетках живых организмов. Кроме того, изучение такого взаимодействия весьма информативно как для изучения его негативного влияния на клетки живых организмов, вызывающего генные мутации и способствующего новообразованиям в человеческом организме, так и для поиска возможных терапевтических эффектов при радиологическом лечении ряда серьезных заболеваний. В этом плане молекулы аминокислот как структурные элементы белков живых организмов могут служить важными объектами подобных исследований.

Ранее в работе [1] исследовалось образование ионных фрагментов при взаимодействии электронов больших (порядка 10 MeV) и малых (до 150 eV) энергий с молекулой пролина и были получены масс-спектры молекул пролина, облученного электронами при указанных энергиях, потенциал ионизации исходной молекулы и потенциал по-

явления ее основного ионного фрагмента. Также были определены основные продукты фрагментации молекул, было установлено, что взаимодействие высокоэнергетических электронов с указанными молекулами не вносит существенных изменений в механизм ее распада, вызывая тем не менее стойкие изменения в структуре части исходных молекул.

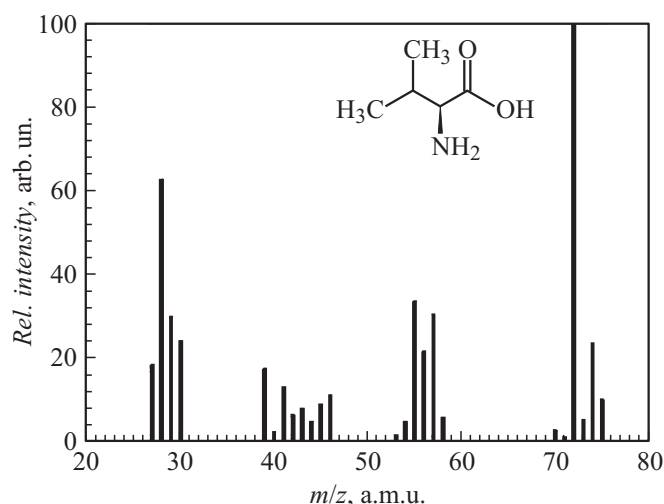
Данная работа посвящена масс-спектрометрическому исследованию фрагментации молекул валина электронами. Валин — алифатическая  $\alpha$ -аминокислота, одна из восьми не синтезируемых человеческим организмом аминокислот, необходима для роста и синтеза тканей тела, мышечной координации; азотного обмена; регулирования нервных процессов, стабилизации гормонального фона [2]. Наиболее полно процессы фрагментации молекул валина под действием ионизирующего излучения (как электронного, так и фотонного) исследовались в ряде работ, выполненных в зарубежных исследовательских центрах (см., например, [3–6]). В указанных работах были получены масс-спектры исследуемых молекул и описаны каналы диссоциации, приводящие к появлению основных ионов в масс-спектре, в частности, сообщалось, что присутствие молекул воды, связанных с исходными молекулами, снижает эффективность их фрагментации [5]. Отметим, что, согласно спецификации производителя образцов валина (Sigma Aldrich, чистота 0.999, № CAS72-18-4), присутствие молекул  $H_2O$  в исследуемом объекте исключалось. Экспериментальные и расчетные данные по потенциалам появления фрагментов молекул валина при их диссоциации электронным ударом приведены в [3], однако такие данные отсутствуют в базе атомных и молекулярных данных Национального института стандартов (НИСТ) США [7].

В работе приводятся результаты исследования фрагментации исходных молекул валина под воздействием электронного удара с использованием техники пересекающихся молекулярного и электронного пучков и масс-спектрометрического анализа продуктов взаимодействия. Положительно заряженные ионы анализировались по отношению их массы к заряду с помощью модернизированного магнитного масс-спектрометра МИ-1201, описание которого можно найти в нашей предыдущей работе [8].

Стоит отметить, что данный масс-спектрометр характеризуется высокой чувствительностью и разрешающей способностью в широком диапазоне исследуемых масс  $m$  (точнее, отношения массы к заряду —

$m/z$ ). В качестве источника пучка молекул валина использовался эффузионный источник с резистивным нагревом ампулы, содержащей порошок рабочего вещества, обеспечивавший плотность исследуемых молекул в ионном источнике масс-спектрометра на уровне  $10^{10}$  mol/cm<sup>3</sup>. Температура источника молекул контролировалась цифровым термометром и не превышала 120°C, что обеспечивало оптимальные параметры формирования молекулярного пучка, исключало термическое разложение рабочего вещества в источнике и образование кластеров в молекулярном пучке. Пучок низкоэнергетических электронов (10–150 eV) формировался с помощью трехэлектродной электронной пушки с возможностью стабилизации тока пучка электронов с энергетической неоднородностью не хуже 0.2–0.5 eV. Положительные ионы, возникающие в области взаимодействия указанных пучков, направлялись в анализатор масс-спектрометра, где они разделялись по отношению массы к заряду и регистрировались электрометрическим каналом. Система детектирования полезного сигнала, его циклического накопления во времени, обработки и визуализации в режиме реального времени управлялась персональным компьютером и обеспечивала измерение масс-спектров исследуемых молекул и энергетических зависимостей выхода ее ионных фрагментов.

Процедура экспериментальных измерений состояла из ряда последовательных этапов. Прежде всего, установка вводилась в оптимальный режим генерации электронного и молекулярного пучков, после чего производилась запись масс-спектра молекул валина в широком диапазоне масс при энергии ионизирующих электронов 70 eV (рис. 1), что является общепринятым в технике масс-спектрометрии органических молекул, поскольку для большинства молекул этого типа сечение однократной ионизации электронным ударом достигает своего максимального значения именно в этой области энергий [5]. Затем, исходя из анализа полученного масс-спектра, нами фиксировались пики, соответствующие выходу ионных фрагментов исходной молекулы с наибольшей интенсивностью пиков в спектре, и измерялись зависимости выхода указанных ионов от энергии электронов вблизи порога. Последняя изменялась в автоматическом режиме с шагом 0.1 eV, а полученные функции диссоциативной ионизации исходной молекулы обрабатывались по методу наименьших квадратов, описание которого можно найти, в частности, в наших предыдущих работах (см., например, [9]). Калибровка энергетической шкалы электронов осуществлялась путем измерения порогов функций ионизации атомов аргона и молекулы азота

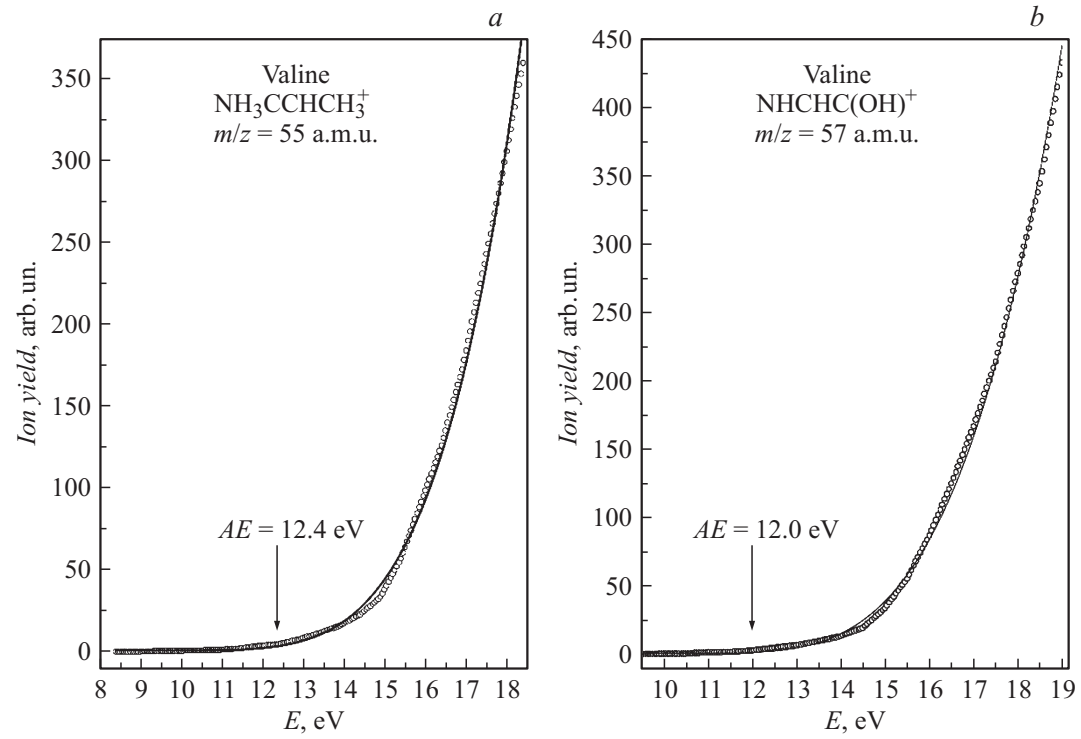


**Рис. 1.** Масс-спектр необлученных молекул валина. Вставка — структурная формула молекулы.

и их сравнения с известными из литературы данными [9], точность определения энергии электронов составляла  $\pm 0.1$  eV.

На рис. 1 приведен масс-спектр молекулы валина, который иллюстрирует общую картину выхода фрагментов исследуемой молекулы  $C_5H_{11}NO_2$ . В целом полученный нами масс-спектр подобен приводимым в базе данных НИСТ для валина, D- и DL-валина [5]. Основное отличие состоит в более высоком выходе ионов в диапазоне масс 27–30 a.m.u. Пик, соответствующий выходу материнского иона, в спектре отсутствует, что характерно для масс-спектров других алифатических аминокислот и связано с низкой устойчивостью молекулярного иона, образуемого при ионизации. Основной канал диссоциации молекулы валина при электронном ударе, как и для большинства  $\alpha$ -аминокислот, обусловлен разрывом C–C $_{\alpha}$ -связи, в результате которого образуется ион с массой  $m/z = 72$  a.m.u., т. е. наиболее вероятный процесс диссоциации молекулы валина обусловлен отщеплением нейтральной карбоксильной группы.

Нами были измерены начальные участки функций выхода основных фрагментов необлученных молекул валина. Некоторые из них представлены на рис. 2, a–d. По методике [9] был определен потенциал



**Рис. 2.** Начальные участки функций выхода основных ионных фрагментов молекул валина:  $a - m/z = 55$ ,  $b - m/z = 57$ ,  $c - m/z = 72$ ,  $d - m/z = 74$  a.m.u.

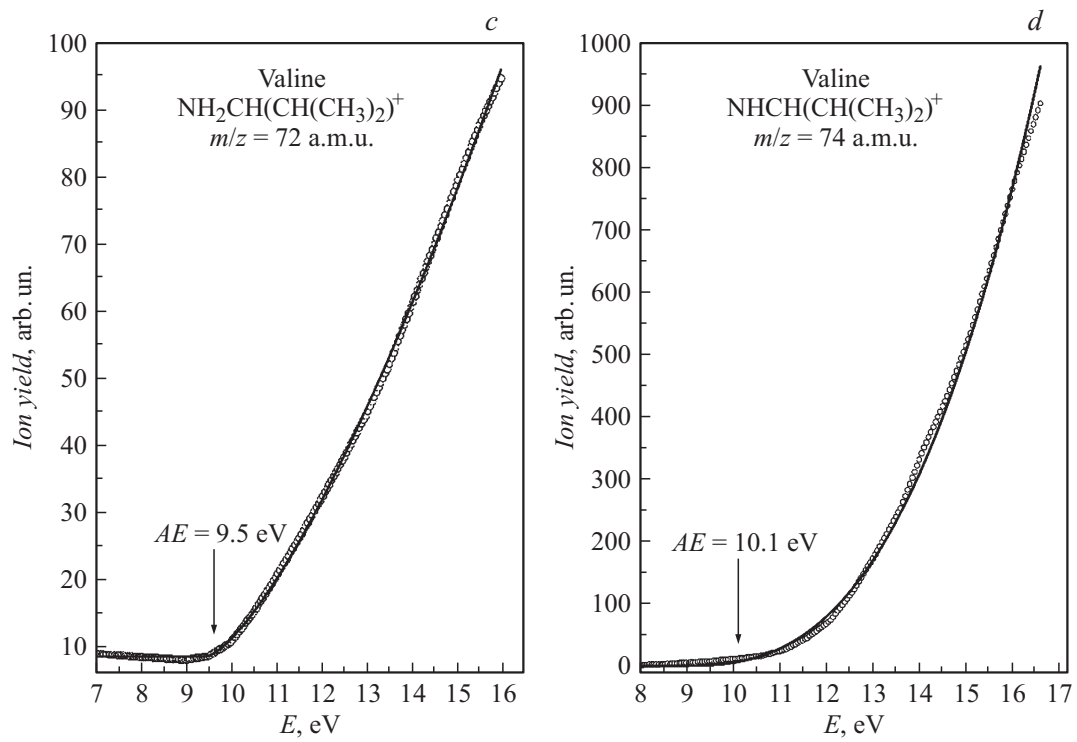


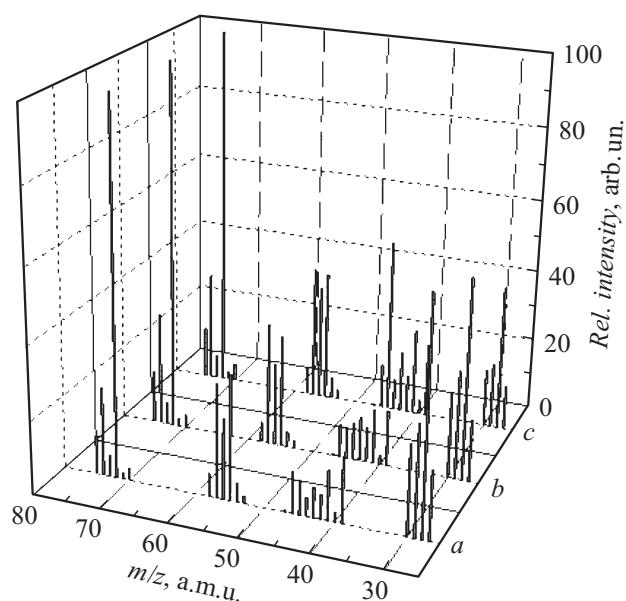
Рис. 2 (продолжение).

Сравнение интенсивностей основных пиков масс-спектров (приведенных к пику массой  $m = 72$  а.м.у., rel.u.) для необлученного и облученных образцов молекулы валина

Масса, а.м.у.	Атомарный состав иона	Доза облучения, kGy		
		0	5	20
27	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> , HCN	18.7	16.9	12.5
28	CH <sub>2</sub> N	63.0	54.9	40.1
29	CH <sub>3</sub> N	30.0	29.7	18.1
30	CH <sub>4</sub> N	24.5	23.0	15.9
39	C <sub>3</sub> H <sub>3</sub>	17.7	15.4	20.3
41	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub>	13.5	14.9	24.1
42	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub>	6.8	9.7	10.3
43	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	8.3	12.3	16.8
44	CO <sub>2</sub>	5.2	10.3	8.6
45	CHO <sub>2</sub>	9.4	8.2	48.3
46	CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	11.5	9.2	12.5
55	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> N, C <sub>4</sub> H <sub>7</sub>	33.9	30.8	36.2
56	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> NO, C <sub>4</sub> H <sub>8</sub>	21.9	22.6	31.9
57	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> NO, C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> N, C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	30.7	33.3	37.0
58	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> NO	6.2	5.6	7.3
72	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> N	100	100	100
74	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> NO <sub>2</sub>	24.0	31.3	30.6
75	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>	10.4	14.4	12.5

появления доминирующего фрагмента масс-спектра C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>N<sup>+</sup> с массой  $m/z = 72$  а.м.у., абсолютное значение которого составило 9.5 eV, а также потенциалы появления фрагментов с  $m/z = 55$  (C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>N<sup>+</sup>, C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>), 57 (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>NO<sup>+</sup>, C<sub>2</sub>HO<sub>2</sub><sup>+</sup>) и 74 а.м.у. (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NO<sub>2</sub><sup>+</sup>), пики которых имеют заметную интенсивность в масс-спектре. Их абсолютные значения составляют 12.4, 12.0 и 10.1 eV соответственно.

Для более детального изучения влияния ионизирующего излучения на фрагментацию молекул валина нами были получены масс-спектры этих молекул после их взаимодействия с высокоэнергетическим пучком электронов, который генерировался ускорителем электронов — микротроном М-30. Молекулы валина в виде мелкокристаллического порошка облучались электронным пучком энергией 11.5 MeV при двух



**Рис. 3.** Масс-спектры необлученных (*a*) и облученных (дозы: *b* — 5 kGy, *c* — 20 kGy) молекул валина.

дозах облучения — 5 kGy (интегральный поток —  $1.56 \cdot 10^{13}$  e/cm<sup>2</sup>) и 20 kGy (интегральный поток —  $6.24 \cdot 10^{13}$  e/cm<sup>2</sup>). В подобном эксперименте неизбежным является присутствие тормозного излучения, которое также вносит определенный вклад в результирующий процесс. Во избежание термической деградации образца, температура образца во время облучения контролировалась медь-константановой термопарой. Неоднородность поля облучения в месте нахождения образца не превышала 1%.

Облученные на микротроне образцы исследовались нами на указанном выше магнитном масс-спектрометре МИ1201 с использованием описанной методики. Масс-спектры молекул валина, подвергшегося указанным дозам облучения, сопоставлялись с исходным масс-спектром необлученного вещества. Отметим, что временной промежуток между облучением образца на микротроне и измерением его масс-спектра на установке с магнитным масс-спектрометром составлял более 300 h.



На рис. 3 приведены масс-спектры необлученного валина (*a*) и облученного дозами 5 kGy (*b*) и 20 kGy (*c*). Масс-спектры образцов, подвергшихся облучению, подобны контрольному (для необлученной молекулы), однако интенсивности пиков некоторых фрагментов оказываются иными (см. таблицу). Величины интенсивностей пиков ионов для облученных и необлученного образцов приведены к значению интенсивности доминирующего пика в масс-спектре (при соблюдении одинаковых условий испарения образца в эффузионном источнике и ионизации в ионном источнике).

В результате облучения высокоэнергетическими электронами снижается выход ионов в диапазоне массовых чисел 27–30 а.е.м., соответствующих заряженным фрагментам, образующимся при разрыве двух скелетных С–С-связей у  $C_\alpha$  с одновременным переносом атомов водорода. Уменьшение выхода этих фрагментов может свидетельствовать об отщеплении аминогруппы у части молекул в результате облучения. Одновременно наблюдается повышение удельной доли фрагментов с высокими массовыми числами. Так, увеличивается вероятность отщепления изопропил-радикала  $(CH_3)_2CH$ , в результате которой образуется ион с  $m/z = 74$  ( $C_2H_4NO_2^+$ ). Кроме того, заметно увеличивается доля фрагментов с  $m/z = 41, 43, 45, 56, 57$ , два из которых соответствуют отщеплению терминальных фрагментов молекулы:  $(CH_3)_2CH$  с  $m/z = 43$  и карбоксильной группы с  $m/z = 45$ . Образование ионов с  $m/z = 56, 57$  возможно при элиминировании нейтральных частиц  $CO_2, H_2O$  и  $NH_3$ , формирование которых возможно при участии функциональных групп молекулы и переносе атомов водорода.

Анализ изменений масс-спектров молекул валина, облученного высокоэнергетическими электронами дозами 5 и 20 kGy, показывает, что взаимодействие высокоэнергетических электронов с молекулой валина не приводит к появлению новых пиков в масс-спектре, однако вызывает заметные изменения в эффективности имеющихся каналов диссоциативной ионизации молекулы. При общей тенденции к элиминированию функциональных групп наиболее вероятным оказывается отщепление аминогруппы.

Таким образом, можно заключить, что нами масс-спектрометрическим методом исследована фрагментация молекул валина электронным ударом как малых (70 eV), так и высоких (11.5 MeV) энергий. Впервые получены масс-спектры данных молекул при указанных энергиях. Показано, что облучение приводит к разрушению части молекул, степень которого зависит от полученной дозы облучения.

## Список литературы

- [1] Вукстич В.С., Романова Л.Г., Мегела И.Г. и др. // Письма в ЖТФ. 2014. Т. 40. В. 20. С. 39–46.
- [2] Ward J.F. *Advances in Radiation Biology*. V / Ed. J.T. Lett, H. Adler. New York: Academic Press, 1977. P. 181–239.
- [3] Papp P., Shchukin P., Kočíšek J., Matejčík Š. // *J. Chem. Phys.* 2012. V. 137. P. 105101.
- [4] Jochims H.-W., Schwell M., Chotin J.-L. et al. // *Chem. Phys.* 2004. V. 298. P. 279–297.
- [5] Deniřl S., Mähr I., Ferreira da Silva F. et al. // *Eur. Phys. J. D.* 2009. V. 51. P. 73–79.
- [6] Weinberger N., Ralser S., Renzler M. et al. // *Eur. Phys. J. D.* 2016. V. 70. P. 91–98.
- [7] National Institute of Standards, Standard Reference Database: Chemistry Webbook. <http://webbook.nist.gov>
- [8] Вукстич В.С., Имре А.И., Снегурский А.В. // ПТЭ. 2011. № 2. С. 66–72.
- [9] Vukstich V.S., Imre A.I., Romanova L.G., Snegursky A.V. // *J. Phys. B.* 2010. V. 43. P. 185208.