

УДК 543.51

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФРАГМЕНТНЫХ ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ИОНОВ [M-16]⁻, [M-17]⁻, [M-18]⁻ И [M-19]⁻ ИЗ АЛИФАТИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТ¹

Щукин П.В., Муфтахов М.В.

Институт физики молекул и кристаллов УНЦ РАН, pavel@anrb.ru

Введение

Недавние исследования процессов взаимодействия пептидов со свободными электронами показали, что основным механизмом распада биомолекул при электронных энергиях ниже потенциалов ионизации является диссоциативный захват электронов (ДЗЭ) [1]. Это открытие инициировало проведение множества работ по изучению реакций резонансного присоединения электронов различными биологически значимыми соединениями, в частности молекулами аминокислот. Для последних были выявлены характерные фрагментативные процессы, связанные с отрывом нейтральных фрагментов массой 16, 17, 18 и 19 а.е.м. Интерпретация образующихся в этом случае отрицательных ионов (ОИ) не тривиальна, поскольку они могут ассоциироваться с [M-OH_n]⁻ и [M-NH_m]⁻ (n=0..3, m=2..4) изобарными ионами. Вместе с тем, важность их идентификации заключается в том, что они формируются в результате разрыва N-C_α и C_α-O связей, играющих ключевую роль в процессах образования пептидных молекул. В настоящей работе мы исследовали процессы ДЗЭ для молекул глицина (Gly), аланина (Ala) и валина (Val) с целью определения элементного состава и структуры отрицательных ионов [M-16]⁻, [M-17]⁻, [M-18]⁻ и [M-19]⁻, а также выявления каналов фрагментации, в которых они образуются.

Эксперимент и расчет

Масс-спектры отрицательных ионов аминокислот были получены на магнитном масс-спектрометре МИ-1201В (г. Сумы, Украина), модифицированном для исследования отрицательных ионов [2]. Эксперимент проводился при следующих условиях: разрешение по энергии электронов Δε ~ 0.3÷0.4 эВ, электронный ток I ~ 0.5 μА, разрешение по массам R_{1/10} ≈ 1500, образцы испарялись при температурах: глицин (88°C), аланин (85°C) и валин (80°C). Шкала энергии электронов калибровалась по максимуму резонансного пика ионов SF₆⁻/SF₆ (~ 0 eV).

Термохимический баланс диссоциативных реакций (энергии появления ОИ (AE_{calc})) оценивался из энтальпий образования реагентов и продуктов, полученных из квантовохимических вычислений методом V3LYP/6-311+G(3df,3p). Расчеты проводились с использованием компьютерной программы PC GAMESS [3].

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 представлены кривые эффективного выхода (КЭВ) распадаемых ионов в функции от электронной энергии. Как видно, кривые однотипных ионов из Ala и Val схожи друг с другом, но отличаются от КЭВ ионов из Gly. Причина этого расхождения, вероятно, заключается в алкильной боковой группе, отсутствующей в Gly.

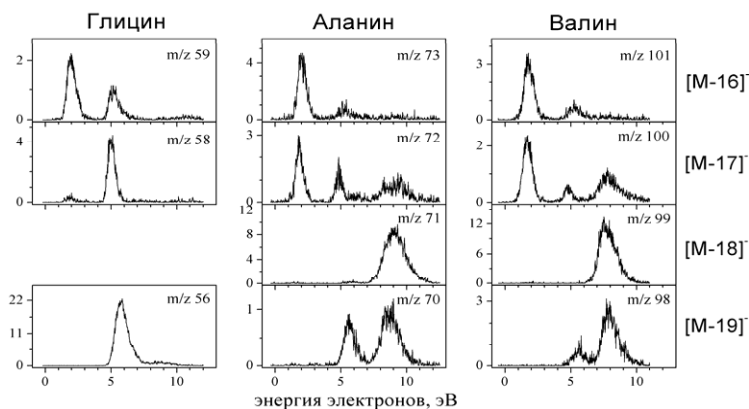


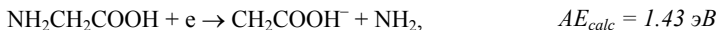
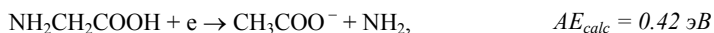
Рис. 1. Кривые эффективного выхода избранных ОИ из Gly, Ala и Val.

Ионы [M-16]⁻. Как отмечалось в работе [4], в глицине в области 2 эВ данные ионы соответствуют $[M-NH_2]^-$, поскольку $[M-O]^-$ могут генерироваться только при высоких энергиях. Рассчитанная нами энергия появления ионов $[M-O]^-$ образующихся простым разрывом связи



подтверждает данный вывод. Возможно также образование перегруппировочных ионов $[M-O]^-$, со структурами $NH_2CH_2CHO^-$ и $NH_2CH=CHOH^-$. Энергетический порог реакций в этом случае меньше, и составляет $AE_{calc} = 8.25$ эВ и $AE_{calc} = 8.63$ эВ, соответственно. Однако, образование данных ионов в низкоэнергетичном резонансе также невозможно.

Ионы $[M-NH_2]^-$ могут формироваться посредством Н-сдвига или реакции простого разрыва $C_\alpha-N$ связи:



Оба значения AE_{calc} удовлетворяют измеренной энергии появления первого резонансного пика ионов $[M-16]^-/Gly$ ($AE_{exp} = 1.62 \pm 0.1$ эВ). Но мы отдаем предпочтение реакции простого разрыва связи, которая требует меньшего времени и, следовательно, более вероятна из-за конкуренции между диссоциацией и автонеутрализацией ионов.

Ионы $[M-19]^-$. Ранее в работе [4] пик $[M-19]^-$ в масс-спектрах Gly был отнесен к ионам $[M-H-H_2O]^-$, которые в области энергий 5.7 эВ образуются последовательной фрагментацией молекулярных ионов



Мы рассчитали энергию появления ионов $NH=CHCO^-$ $AE_{calc} = 4.02$ эВ. Полученное значение не противоречит экспериментально оцененному энергетическому порогу $AE_{exp} = 5.05 \pm 0.1$ эВ.

Ионы $[M-17]^-$. Рассмотренные выше ионы $[M-16]^- / [M-NH_2]^-$ и $[M-19]^- / [M-H-H_2O]^-$ были использованы в качестве реперов для идентификации ионов $[M-17]^-$ и $[M-18]^-$. На рис. 2 представлены участки масс-спектров Gly, Ala и Val, с указанием энергии электронов, при которых записывались массовые пики. Опираясь на значения масс реперов, мы установили элементный состав рассматриваемых ионов (см. рис. 2). Ионы $[M-17]^-$ из Gly в районе 1.7 эВ идентифицированы как $C_2O_2H_2^- / [M-NH_3]^-$, а в области 5 эВ как $C_2ONH_4^- / [M-OH]^-$. Подобную процедуру мы проделали для Ala и Val. Однако, для этих двух объектов ситуация менее ясна.

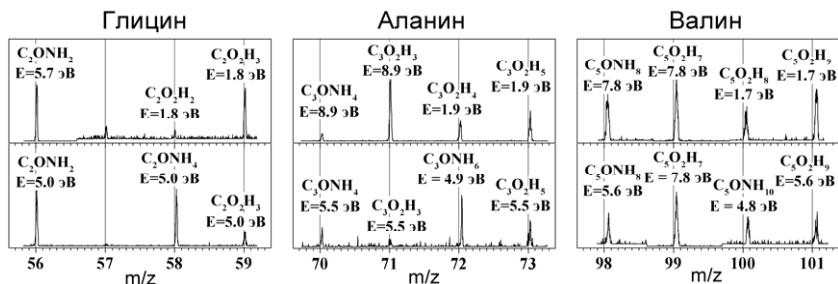
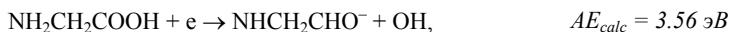
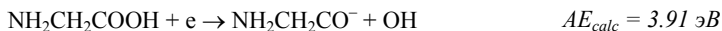


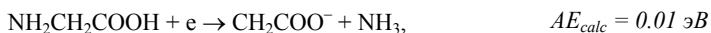
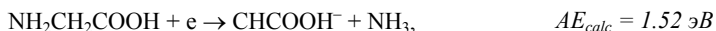
Рис. 2. Фрагменты масс-спектров ОИ глицина, аланина и валина (см. текст).

Ионы $[M-OH]^-/Gly$ могут генерироваться в двух реакциях,



энергетические пороги которых, согласуются с экспериментальной энергией появления ионов $AE_{exp} = 4.65 \pm 0.1 \text{ эВ}$

Для перегруппировочных ионов $[M-NH_3]^-$ возможны следующие фрагментативные каналы



Но, с позиции энергетики, вторая реакция предпочтительнее, т.к. лучше согласуется с измеренным энергетическим порогом $AE_{exp} = 1.35 \pm 0.15 \text{ эВ}$.

Отсутствие температурной зависимости ионов $[M-NH_3]^-$ в аланине (в глицине она наблюдается) мы связываем с новым каналом распада, который в глицине не реализуется.



Однако данный вопрос остается открытым, из-за недостатка информации об электронном средстве образующихся ионов $CH_2=CHCOOH^-$.

Ионы $[M-18]^-$. Элементный состав ионов $[M-18]^-$ показан на рис. 2. В Ala и Val мы связываем их с $[M-NH_4]^-$ типом. В глицине пик $[M-18]^-$ является изотопным пиком ионов $[M-OH]^-$, что следует из соотношения их интенсивностей и положений на шкале m/z .

В Ala могут реализоваться две наиболее вероятные структуры ионов $[M-18]^-$: CH_2CHCOO^- и CH_2CCOO^- . Рассчитанный энергетический порог ионов CH_2CHCOO^- для случаев образования нейтральных фрагментов $NH_2 + 2H$, $NH_2 + H_2$ и $NH_3 + H$ составил 6.16, 1.62 и 1.61 эВ, соответственно, что согласуется с измеренной энергией появления $AE_{exp} = 7.3 \pm 0.1 \text{ эВ}$ интенсивного пика. Вычисленные энергии появления ионов CH_2CCOO^- образующихся в паре с аналогичными незаряженными частицами составили 7.74, 3.2 и 3.19 эВ, соответственно. Отсюда видно, что формирование ионов CH_2CCOO^- с нейтральными осколками $NH_2 + 2H$ энергетически не выполнимо.

Литература

1. B. Boudaiffa, P. Cloutier, D. Hunting, M.A. Huels, L. Sanche, Science 287 (2000) 1658.
2. В.А.Мазунов и др., Масс-спектрометрия 3(1) (2006) 11.

3. A.A.Granovsky, PC GAMESS v.7.1, <http://classic.chem.msu.su/gran/gamess/index.html>
4. Y.V. Vasil'ev *et al.* J. Am. Chem. Soc. 128 (2006) 5506.

¹ Работа выполнена при поддержке «Фонда содействия отечественной науке» и РФФИ (грант № 08-03-91101)