ЖУРНАЛ ФИЗИЧЕСКОЙ ХИМИИ, 2023, том 97, № 7, с. 1019–1031

СТРОЕНИЕ ВЕЩЕСТВА И КВАНТОВАЯ ХИМИЯ

УДК 539.186.2

РЕЗОНАНСНЫЙ ЗАХВАТ ЭЛЕКТРОНОВ МОЛЕКУЛАМИ УРАЦИЛА, ЦИТОЗИНА И ИХ 5-МЕТИЛ- И 5-ГИДРОКСИМЕТИЛПРОИЗВОДНЫХ

© 2023 г. М. В. Муфтахов[a],*, Р. Ф. Туктаров[a]

[a]Институт физики молекул и кристаллов – обособленное структурное подразделение федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, 450075, Россия

**e-mail: LMSNI@anrb.ru*

Поступила в редакцию 23.11.2022 г.
После доработки 11.01.2023 г.
Принята к публикации 12.01.2023 г.

Исследованы электронно-индуцированные реакции с урацилом, тимином, 5-гидроксиметилурацилом, цитозином, 5-метилцитозином и 5-гидроксиметилцитозином. Обнаружена идентичность процессов образования отрицательных ионов в исследованных объектах. Некоторые особенности формирования масс-спектров гидроксиметилпроизводных связаны с отрывом и разрушением заместителей. Определены сечения ионов $[M-H]^-$ в области энергий <3 эВ: для урацилов эти значения находятся в диапазоне $(1.1–2.6) \times 10^{-18}$ см^2, для цитозинов – в диапазоне $(3.6–5.0) \times 10^{-19}$ см^2.

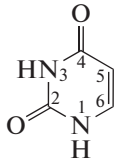
Ключевые слова: масс-спектрометрия, резонансный захват электронов, отрицательные ионы, урацил, цитозин, тимин, 5-метилцитозин, 5-гидроксиметилурацил, 5-гидроксиметилцитозин

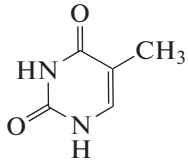
DOI: 10.31857/S000445372307018X, **EDN:** SLMRON

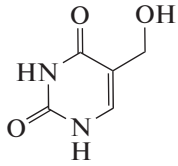
Некоторые азотистые основания входят в состав нуклеиновых кислот, поэтому процессы с участием отрицательных ионов из этих малых молекул представляют интерес для многих разделов биологии, медицины и т.д. Начиная с 2000 года исследования резонансных процессов образования отрицательных ионов (ОИ) из пуринов и пиримидинов [1–6] были связаны с выяснением роли вторичных процессов в живых организмах, происходящих в результате радиационного облучения. Регистрируемый в масс-спектрах интенсивный ион $[M-H]^-$ в области энергии <3 эВ рассматривался в контексте возможного процесса при взаимодействии вторичных электронов с РНК/ДНК с образованием чрезвычайно реакционного радикала водорода, могущего повредить живые клетки. Целью работ [7, 8] было выяснение механизмов действия галоген-урацилов (как возможных радиосенсибилизаторов) при лечении раковых опухолей посредством лучевой терапии. В [9] выявлялась связь процессов образования отрицательных ионов с антиоксидантными и антитоксическими свойствами некоторых производных аденина, входящих в класс цитокининов. В [10] исследовалась оротовая кислота, которая является витаминоподобным веществом, влияющим на обмен веществ и стимулирующим рост живых организмов. Масс-спектры отрицательных ионов ксантина и его метилпроизводных регистрировались в [11].

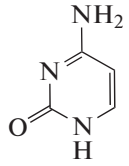
Введение в молекулу оснований тяжелых атомов или групп изменяет электронную и пространственную структуру молекул, что влияет на формирование резонансных состояний молекулярных ионов и на их распад. В масс-спектрах галоген-урацилов были обнаружены интенсивные пики ионов нехарактерных для незамещенных оснований; похожая картина наблюдалась при исследовании других производных. В продолжение исследований электронно-индуцированных реакций в основаниях в настоящей работе изучались 5-гидроксиметилурацил, 5-метилцитозин и 5-гидроксиметилцитозин. Последние два объекта относятся к так называемым минорным основаниям и при замещении цитозина в ДНК влияют на активность генов. 5-гидроксиметилурацил – редкое пиримидиновое основание, входящее в состав ДНК мезокариот. Это соединение является иммуномодулятором клеточного и гуморального ответа и используется для лечения язвенной болезни желудка и при эрозивном поражении кишечника. Для сравнительного анализа также были получены масс-спектры отрицательных ионов урацила, тимина и цитозина. Целью настоящей работы являлось выяснение влияния 5-метил- и 5-гидроксиметил-замещения цитозина и урацила

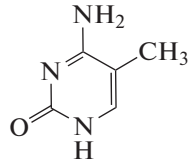
на процессы образования отрицательных ионов в азотистых основаниях для прогнозирования возможных распадных процессов в ДНК и РНК, в состав которых входят исследуемые молекулы, в условиях радиации. Ниже представлены структурные формулы исследуемых соединений:

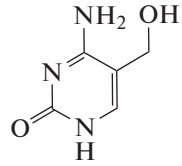

(урацил)


(тимин)


(5-гидроксиметилурацил)


(цитозин)


(5-метилцитозин)


(5-гидроксиметилцитозин)

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Эксперимент выполнен на магнитном масс-спектрометре МИ-1201В (СССР, 1987 г.). Прибор модифицирован для работы с отрицательными ионами [12], но при этом сохранена возможность работы с положительными ионами; блок-схема приведена в [13]. Электроны, эмитируемые катодом, проходят через камеру ионизации, где взаимодействуют с парами образцов, что приводит к образованию ионов. Последние извлекаются из камеры, формируются в пучок, ускоряются, масс-анализируются, регистрируются вторично-электронным умножителем с заземленным первым динодом. В области приемника ионов установлен дополнительный электрод, с помощью которого осуществляется отклонение заряженной компоненты ионного пучка в поперечном электрическом поле и регистрация нейтралей, образующихся выбросом электрона при пролете ионами второй бесполевой области [12]. Для калибровки шкалы электронной энергии использовали кривые выхода ионов SF_6^- из SF_6 (~0 эВ) и $[M-H]^-$ из CH_3COOH (~1.55 эВ, [14]). Методика определения сечения образования фрагментных ионов описана в [15].

Образцы исследованных соединений урацил (Uracil, 98%), тимин (Thymine, 99%), 5-гидроксиметилурацил (5-(Hydroxymethyl)uracil, 97%), цитозин (Cytosine, 97%), 5-метилцитозин (5-Methylcytosine, 99%), 5-гидроксиметилцитозин (4-Amino-5-(Hydroxymethyl)pyrimidin-2-ol, 95%) приобретены в Sigma/Aldrich Chemical Co и в ABCR. Исследуемый образец помещался на дно камеры ионизации, откуда происходило его испарение в результате нагрева. Экспериментальные условия регистрации масс-спектров пиримидинов (в том числе, кривых эффективного выхода ионов как функции от электронной энергии) приведены в подписях к рисункам.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Резонансный захват электронов молекулами исследованных пиримидинов происходит в диапазоне энергии 0–14 эВ и приводит к образованию различных осколочных ионов, рис. 1–6. Для улучшения восприятия ключевых закономерностей по диссоциативному захвату электронов молекулами пиримидинов экспериментальные данные сведены в табл. 1. На рисунках не показаны ионы с m/z = 26, 16 и 1. Источником ионов H^-, NH_2^- и O^- являются вода и аммиак, присутствующие в образцах. Происхождение ионов CN^- требует специального доказательства, поскольку они образуются из всех азотсодержащих органических соединений. Вследствие чего кривые выхода этих ионов частично могут быть обусловлены примесями в образцах. Весь диапазон энергии мы условно разделили на две области, в которых зарегистрированы резонансные пики ионов: низкоэнергетическая (<4.5 эВ) и высокоэнергетическая (>4.5 эВ). Согласно результатам работ [1, 16] короткоживущие молекулярные ионы в области энергии менее 4.5 эВ образуются посредством одночастичных резонансов. Следовательно, в области энергии электронного возбуждения молекул (>4.5 эВ [17]) основным механизмом электронного захвата является двухчастичный резонанс. Распад молекулярных ионов в низкоэнергетической области осуществляется по меньшему числу каналов, чем в остальных областях энергии, но с большей интенсивностью, благодаря ионам $[M-H]^-$. Другие каналы фрагментации молекулярных ионов обусловлены разрывом связей в цикле, а в гидроксиметилпроизводных – также разрушением заместителей.

В ранних исследованиях электронно-индуцированных реакций в азотистых основаниях наиболее полные масс-спектры отрицательных ионов урацила, тимина и цитозина были получены в [2, 3]. В дополнении к экспериментальным данным из этих работ мы обнаружили несколько новых малоинтенсивных ионов благодаря повы-

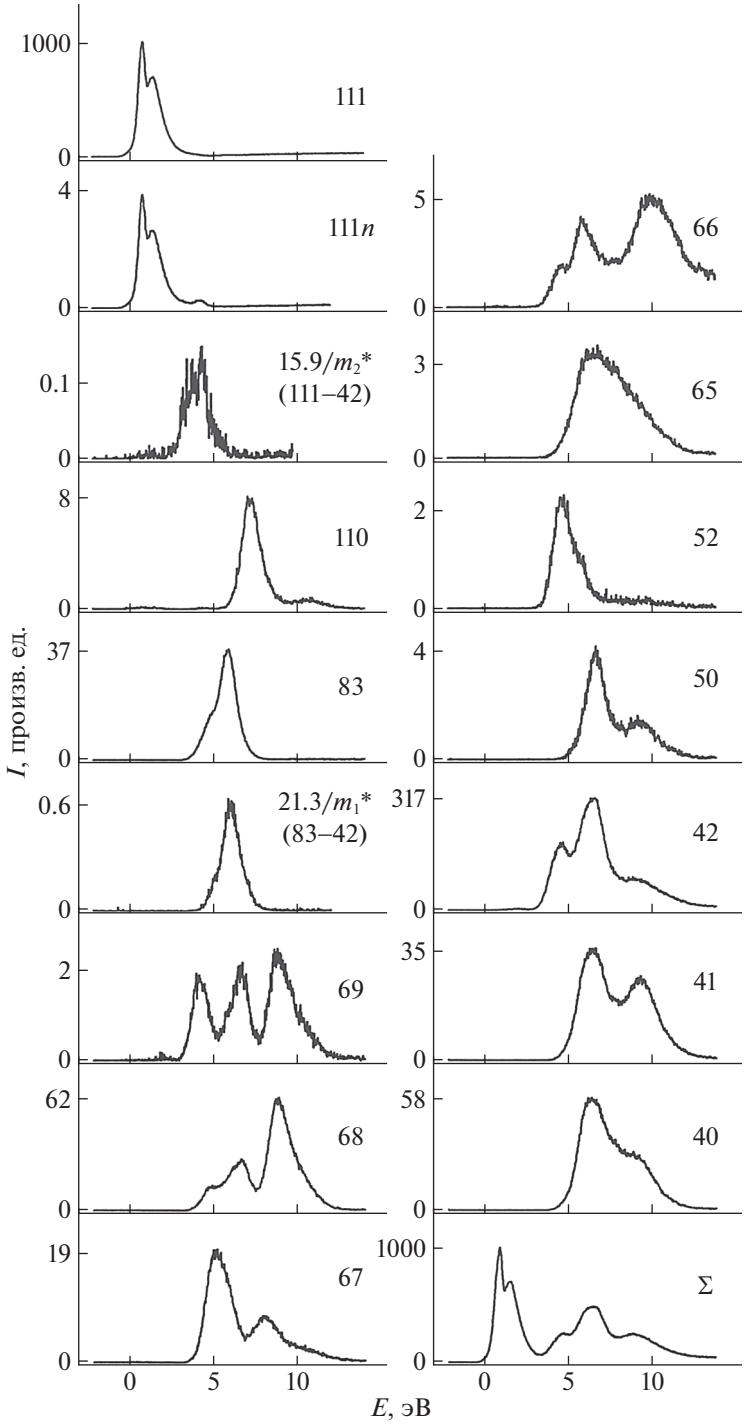


Рис. 1. Кривые эффективного выхода отрицательных ионов в функции от электронной энергии из урацила. На панелях справа указано массовое число (m/z) ионов (кривая выхода нейтралей, обусловленная потерей ионами с m/z 111 электронов во второй бесполевой области масс-спектрометра, отмечена как 111n); на панели со значком "$\sum$" приведен суммарный ток осколочных ионов. Кривая выхода ионов с m/z = 69 в диапазоне энергии 8–12 эВ обусловлена изотопным пиком от ионов с m/z = 68. Интенсивности всех ионов нормированы к интенсивности ионов с m/z = 111 при 1.0 эВ принятой за 1000 единиц и соответствующей сечению образования 2.6×10^{-18} см^2. Получено при условиях: разрешение по энергии электронов $\Delta E_{1/2}$ = 0.46 эВ, температура камеры ионизации $T \sim 121$°C.

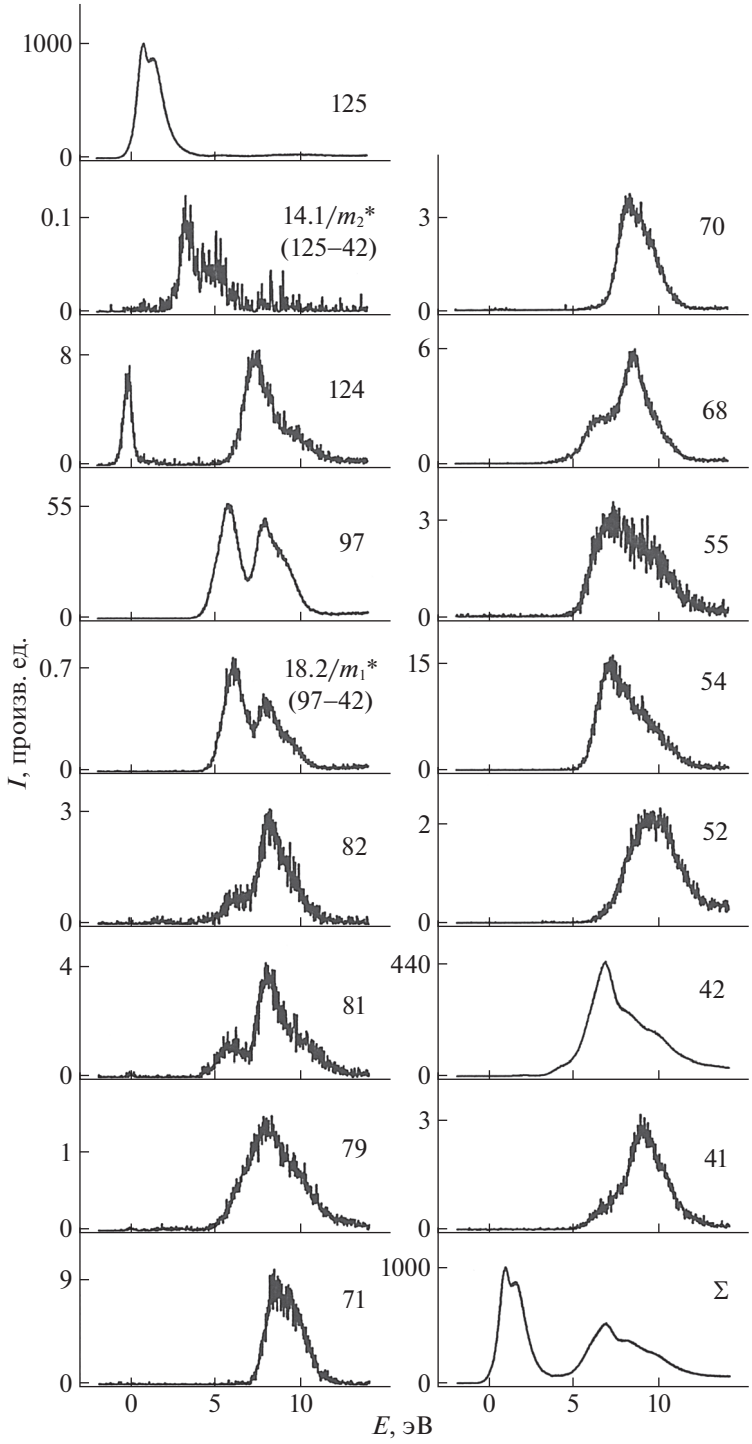


Рис. 2. Кривые эффективного выхода отрицательных ионов в функции от электронной энергии из тимина. На панелях справа указано массовое число (m/z) ионов; на панели со значком "Σ" приведен суммарный ток осколочных ионов. Интенсивности всех ионов нормированы к интенсивности ионов с $m/z = 125$ при 1.0 эВ принятой за 1000 единиц и соответствующей сечению образования 1.1×10^{-18} см^2. Получено при условиях: разрешение по энергии электронов $\Delta E_{1/2} = 0.55$ эВ, температура камеры ионизации $T \sim 119$°C.

шенной чувствительности прибора. Последнее было достигнуто значительным увеличением интенсивности ионизирующих электронов за счет ухудшения их разброса по энергии. Эти объекты эффективно образуют ионы $[M-H]^-$ в низкоэнергетической области, и, согласно результатам

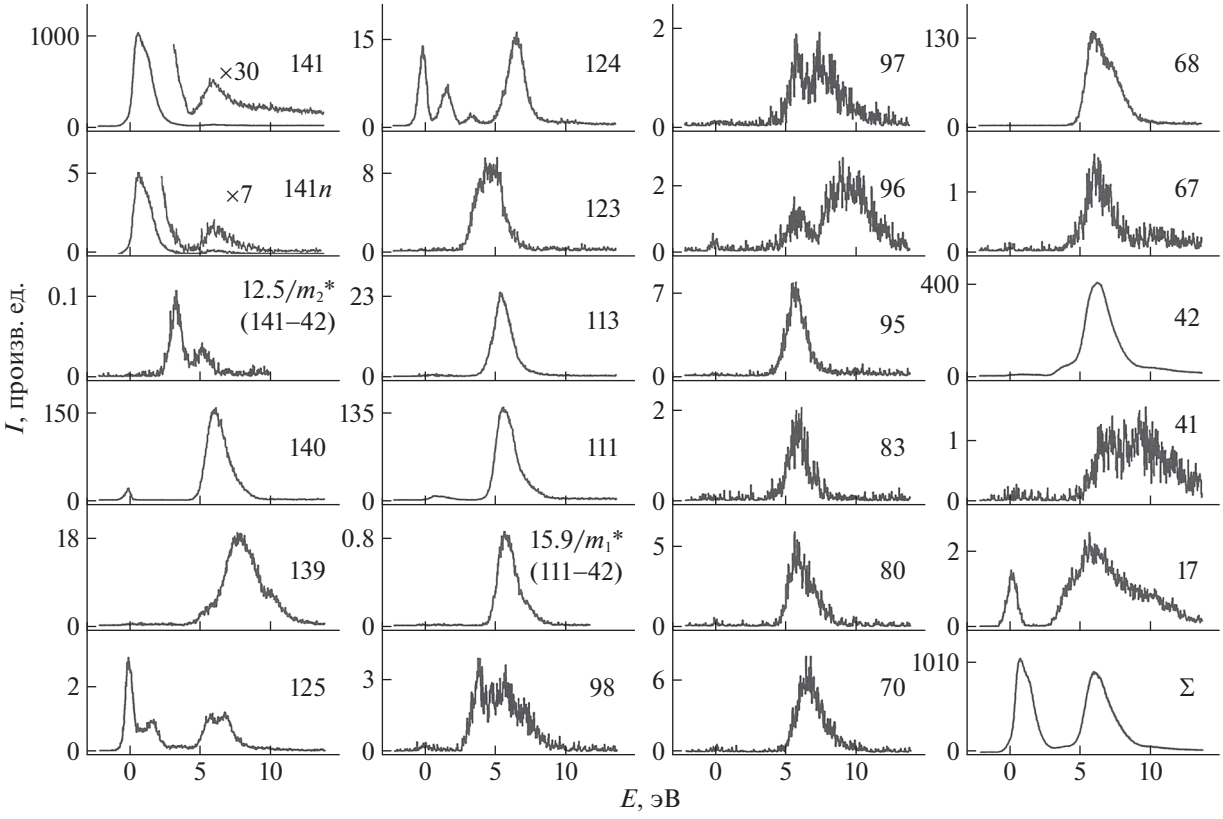


Рис. 3. Кривые эффективного выхода отрицательных ионов в функции от электронной энергии из 5-гидроксиметилурацила. На панелях справа указано массовое число (m/z) ионов (кривая выхода нейтралей, обусловленная потерей ионами с m/z = 141 электронов во второй бесполевой области масс-спектрометра, отмечена как 141n); на панели со значком "Σ" приведен суммарный ток осколочных ионов. Кривая выхода ионов с m/z = 125 в диапазоне энергии ~6–9 эВ обусловлена изотопным пиком от ионов с m/z = 124. Интенсивности всех ионов нормированы к интенсивности ионов с m/z = 141 при 0.86 эВ принятой за 1000 единиц и соответствующей сечению образования 2×10^{-18} см^2. Получено при условиях: разрешение по энергии электронов $\Delta E_{1/2}$ = 0.48 эВ, температура камеры ионизации T ~ 124°C.

[2, 18], сечения ионов составляют 3×10^{-20} м^2 (урацил), 1.2×10^{-19} м^2 (тимин) и 2.3×10^{-20} м^2 (цитозин).

Полученные нами данные по сечениям этих ионов (см. подписи к рис. 1, 2, 4) существенно отличаются в меньшую сторону, причиной чего могут быть различия в методике измерений. Для ионов $[M-H]^-$ из 5-гидроксиметилурацила, 5-метилцитозина и 5-гидроксиметилцитозина также определены сечения (см. подписи к рис. 3, 5, 6). В области высоких энергий резонансные пики ионов $[M-H]^-$ в урациле и тимине слабо проявляются на фоне вторичных процессов. Об их существовании в урациле в диапазоне энергии 4–5 эВ свидетельствует лишь кривая эффективного выхода нейтралей $[M-H]^0$, которая обусловлена потерей ионами $[M-H]^-$ электронов во второй бесполевой области масс-спектрометра (на рис. 1 отмечена как 111n). В низкоэнергетической области они в точности повторяют кривую выхода ионов, но с интенсивностью на два порядка меньше. Здесь ионы образуются вблизи порога, поэтому потеря электрона возможна лишь в результате столкновения ионов с молекулами собственного или остаточного атмосферного газа. В области высоких энергий соотношение интенсивностей пиков ионов и пиков их нейтралей отличается от такового в низкоэнергетической области и свидетельствует о том, что кроме "столкновительного процесса" происходит процесс спонтанного выброса электрона ионами, образовавшимися потерей различных типов H-атомов. Такой же процесс зарегистрирован в 5-гидроксиметилурациле, цитозине и 5-метилцитозине (рис. 3–5). Об образовании ионов $[M-H]^-$ в тимине в области энергии свыше 3 эВ указывает метастабильный пик с кажущейся массой ~14.1 m/z (рис. 2), свидетельствующий об их фрагментации в ионы OCN^- (42 m/z). Аналогичный метастабильный пик был зарегистрирован в масс-спектрах урацила (рис. 1) и 5-гидроксиметилурацила (рис. 3). Из-за малой интенсивности метастабильных пиков не представлялось возможным получить четкие рисунки

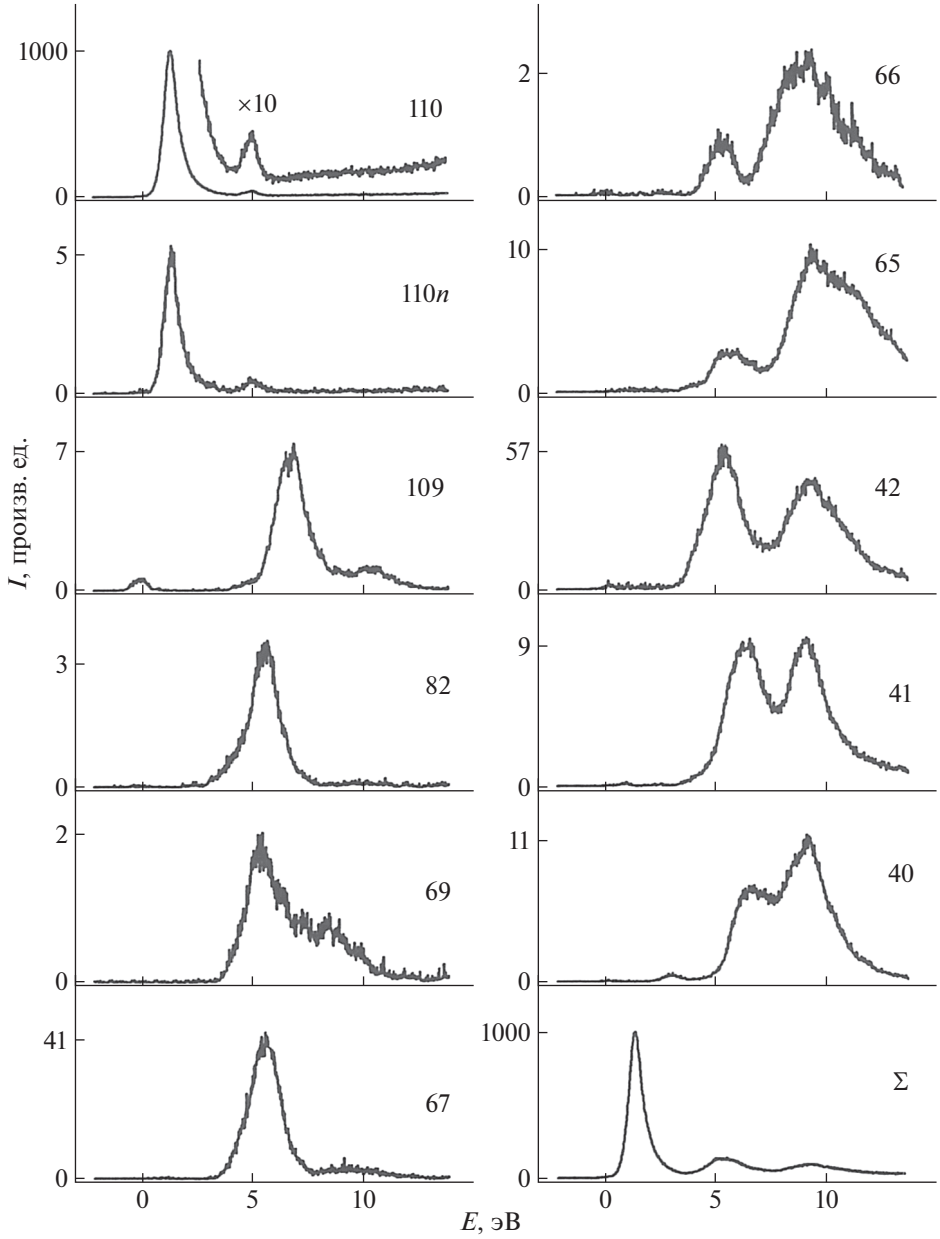


Рис. 4. Кривые эффективного выхода отрицательных ионов в функции от электронной энергии из цитозина. На панелях справа указано массовое число (m/z) ионов (кривая выхода нейтралей, обусловленная потерей ионами с m/z = = 110 электронов во второй бесполевой области масс-спектрометра, отмечена как 110n); на панели со значком "Σ" приведен суммарный ток осколочных ионов. Интенсивности всех ионов нормированы к интенсивности ионов с m/z = 110 при 1.52 эВ принятой за 1000 единиц и соответствующей сечению образования 4.4×10^{-19} см^2. Получено при условиях: разрешение по энергии электронов $\Delta E_{1/2}$ = 0.48 эВ, температура камеры ионизации T ~ 140°C.

участков масс-спектров в области распространенности метастабильных пиков при фиксированной энергии электронов. Их кривые выхода в функции от энергии электронов удовлетворительного качества были получены за счет длительного накопления сигнала.

Ионы OCN^- эффективно образуются в высокоэнергетической области и вносят основной вклад в полный ионный ток. В урацилах он составляет от 48% до 86%, а относительная интенсивность пиков этих ионов в масс-спектрах достигает 32–44%. Аналогичные данные для цитозинов составляют 33–58% (вклад в полный ионный ток) и 6–10% (относительная интенсивность пиков в масс-спектрах). Это позволяет заключить, что в состав обсуждаемых ионов входит карбонильная группа преимущественно из поло-

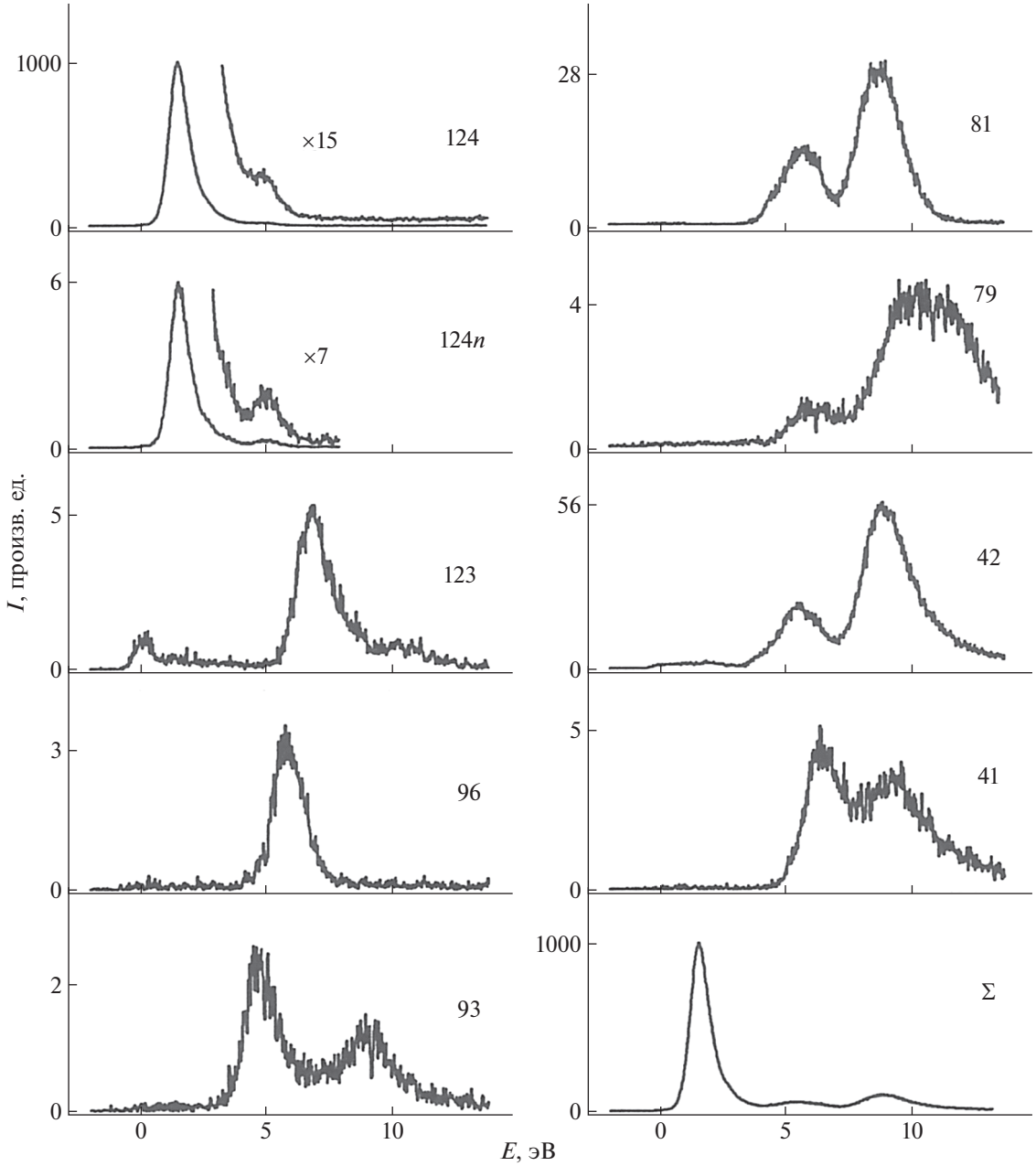


Рис. 5. Кривые эффективного выхода отрицательных ионов в функции от электронной энергии из 5-метилцитозина. На панелях справа указано массовое число (m/z) ионов (кривая выхода нейтралей, обусловленная потерей ионами с $m/z = 124$ электронов во второй бесполевой области масс-спектрометра, отмечена как 124*n*); на панели со значком "Σ" приведен суммарный ток осколочных ионов. Интенсивности всех ионов нормированы к интенсивности ионов с $m/z = 124$ при 1.6 эВ принятой за 1000 единиц и соответствующей сечению образования 3.6×10^{-19} см^2. Получено при условиях: разрешение по энергии электронов $\Delta E_{1/2} = 0.63$ эВ, температура камеры ионизации $T \sim 160$°C.

жения 4 цикла. Для ионов OCN^- родительскими ионами могут быть как молекулярные, так и осколочные ионы, о чем свидетельствуют метастабильные пики в масс-спектрах. Так в масс-спектре 5-гидроксиметилурацила метастабильный пик с кажущейся массой ~15.9 m/z указывает на их частичное образование из ионов $[M-CH_2OH]^-$ (111 m/z), рис. 3, 7. А в масс-спектрах урацила (рис. 1, 7) и тимина (рис. 2, 7) метастабильные пики с кажущимися массами ~21.3 m/z и ~18.2 m/z соответственно свидетельствуют о частичном образовании ионов OCN^- из ионов $[M-H-CO]^-$ (83 m/z и 97 m/z соответственно).

Ионы $[M-H-CO]^-$ образуются во всех исследованных объектах, но как и в случае ионов OCN^- относительная интенсивность их пиков в масс-

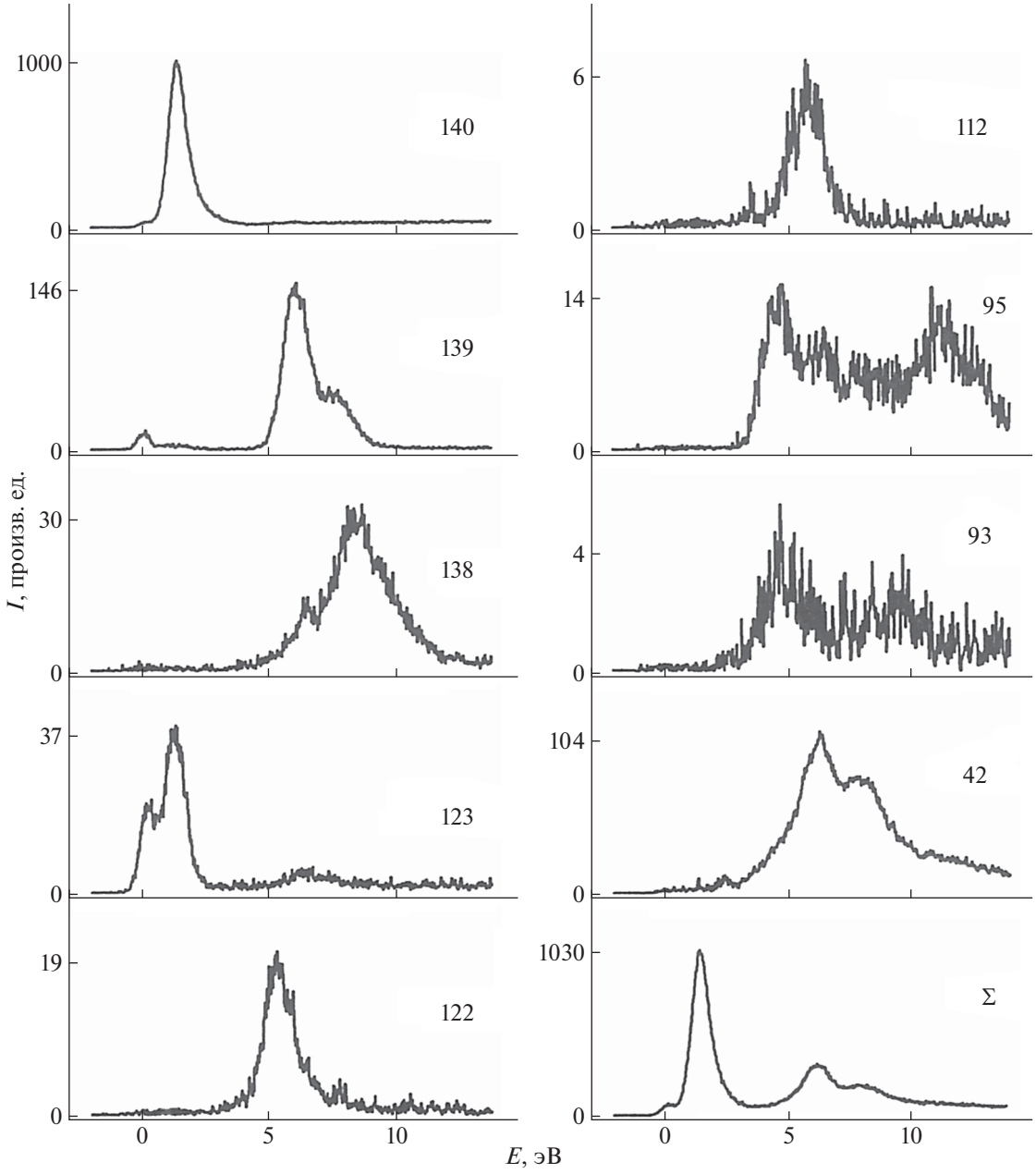


Рис. 6. Кривые эффективного выхода отрицательных ионов в функции от электронной энергии из 5-гидроксиметилцитозина. На панелях справа указано массовое число (m/z) ионов; на панели со значком "Σ" приведен суммарный ток осколочных ионов. Интенсивности всех ионов нормированы к интенсивности ионов с $m/z = 140$ при 1.48 эВ принятой за 1000 единиц и соответствующей сечению образования 5×10^{-19} см^2. Получено при условиях: разрешение по энергии электронов $\Delta E_{1/2} = 0.54$ эВ, температура камеры ионизации $T \sim 197$°C.

спектрах урацилов (2.3–5.5%) выше, чем таковая в цитозинах (0.3–0.5%). Вероятно, в этом процессе отрывается карбонильная группа преимущественно из положения 4 цикла.

При фрагментации молекулярных ионов вместе с H-атомом могут отщепляться и другие атомы и группы атомов. Пики ионов $[M–2H]^–$/$[M–H_2]^–$ зарегистрированы в масс-спектрах всех объектов, но выброс трех атомов водорода (ионы $[M–H_2–H]^–$) характерен только для гидроксиметилпроизводных. Вероятно, источником дополнительно отрываемого H-атома в последнем процессе является OH-группа заместителя. Ионы $[M–H–HNCO]^–$ зарегистрированы только в урацилах, а в тимине и 5-гидроксиметилурациле дополнительно обнаружены аналоги этих ионов

Таблица 1. Энергии (эВ) максимумов кривых эффективного выхода характеристичных ионов пиримидинов

Ионы	Урацил	Тимин	5-Гидроксиметилурацил	Цитозин	5-Метилцитозин	5-Гидроксиметилцитозин
$[M-H]^-$	1/1.6/~4	1/1.6/~4/5.5	0.86/~1.5/6.1	1.52/5.16	1.6/~5	1.48/~6
$[M-2H]^-$	1/4.5/7.3/10.7	7.5/~10	6.2	~4.6/6.9/~9/10.5	6.9/10.5	6.2/~7.9
$[M-3H]^-$			~5.5/7.9/~10.5			~6.5/8.6
$[M-H-CO]^-$	~4.7/6	5.9/8/~9.2	0.84/5.8	~4/5.7	5.9	6
$[M-H_2O]^-$			1.84/3.66/6.9			1.34/~6.5
$[M-H-H_2O]^-$			5			5.4
$[M-NH_3-CH_3]^-$/ $[M-NH_3-CH_2OH]^-$					4.7/9.1	5/9.5
$[M-H-HNCO]^-$/ $[M-CH_3-HNCO]^-$/ $[M-CH_2OH-HNCO]^-$	4.8/~6/6.7/8.84	~6/8.3/~9.6 ~6.4/8.5	4.1/6 6.2/7.6			
$[M-HNCO]^-$/ $[M-NH_2CN]^-$	4.3/6.7			5.5/~8.5		
$[M-2H-HNCO]^-$/ $[M-2H-NH_2CN]^-$	5.2/8.1/~10.5	5.8/8.1/~10	6/8	5.6/9.5	5.8/9	
$[M-3H-HNCO]^-$/ $[M-3H-NH_2CN]^-$	~4.7/6.1/~10		6/9.5	5.5/9.5		
$(CN)_2CH^-$/ $(CN)_2CCH_3^-$/ $(CN)_2CCH_2OH^-$	6.8/~9.5	~6.5/8/~10	5.9	5.8/9.7/~12	6/10/~12	4.7/6.5/~8.5/11.2
OCN^-	4.7/6.6/9.5	~4/6.8/~8.4/~10	~4/6.5/~11	5.6/9.6	5.6/9.2	~4.5/6.3/8
$OC_2H^-/NC_2H_3^-$	6.6/9.5	6.5/9/~10.5	7/9.7	6.6/9.4	6.6/9.5	
$HNC{\equiv}CH^-$/ $HNC{\equiv}CCH_3^-$/ $HNC{\equiv}CHCH_2OH^-$	6.6/~9.5	7.1	6.7	6.8/9.3		

$[M-CH_3-HNCO]^-$ и $[M-CH_2OH-HNCO]^-$ соответственно, где вместо H-атома элиминируется заместитель. В урацилах обнаружен процесс, в котором выброс молекулы HNCO сопровождается выбросом даже двух H-атомов (ионы $[M-2H-HNCO]^-/[M-H_2-HNCO]^-$), а в масс-спектре 5-гидроксиметилурацила зарегистрирован аналог этих процессов, в котором вместо одного из H-атомов отрывается заместитель (ион $[M-H-CH_2OH-HNCO]^-$ (67 m/z), в таблице 1 не приведен). В цитозине и 5-метилцитозине регистрируются аналоги этих ионов $[M-2H-NH_2CN]^-/[M-H_2-NH_2CN]^-$, где в реакции вместо молекулы HNCO элиминируется молекула NH_2CN. Вместе с молекулами $HNCO/NH_2CN$ могут отщепляться до трех атомов водорода, как, например, в урациле, цитозине и 5-гидроксиметилурациле, но реакции выброса упомянутых молекул без сопутствующего отрыва H-атомов или других групп зарегистрированы только в урациле и цитозине (ионы с 69 m/z).

Ионы с 93 m/z обнаружены в производных цитозина и мы предполагаем для них элементный состав $[M-NH_3-CH_3]^-$ и $[M-NH_3-CH_2OH]^-$. Согласно этому предположению, аналогичный процесс в производных урацила маловероятен, поскольку эти ионы возникают выбросом заместителя и молекулы аммиака.

Для образовавшихся в урациле и цитозине ионов с элементным составом $C_3HN_2^-$ (65 m/z) предполагается структура $N{\equiv}CCHC{\equiv}N^-$ по следующей причине. Ионы с 65 m/z не регистрировались в производных урацила и цитозина, но обна-

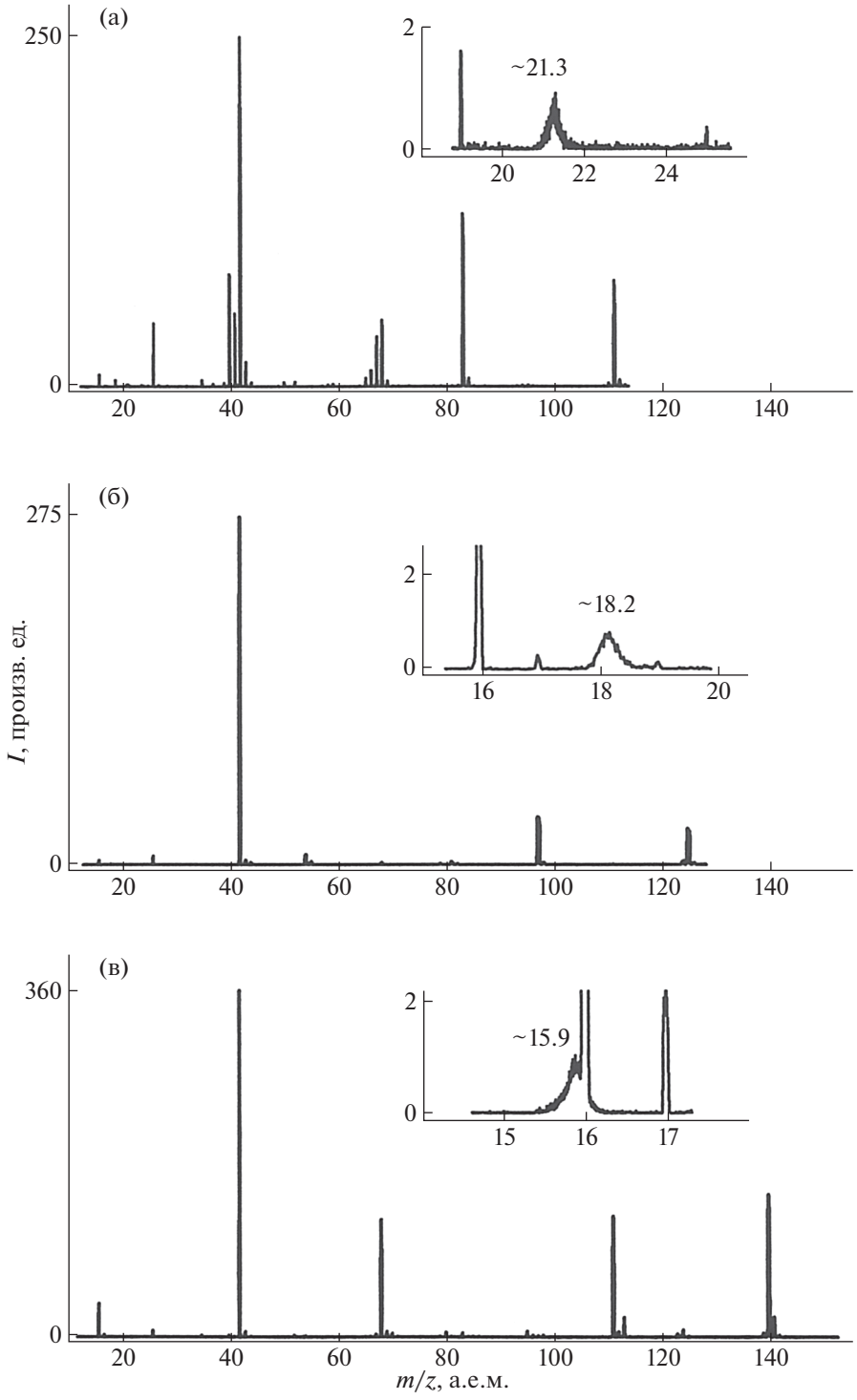


Рис. 7. Масс-спектры отрицательных ионов из урацила (а), тимина (б) и 5-гидроксиметилурацила (в) при энергии электронов 6 эВ. На врезках в увеличенном масштабе показаны области распространенности метастабильных пиков. Условия экспериментов представлены в подписях к рис. 1–3.

ружены их аналоги, где вместо Н-атома присутствует заместитель: 1) ионы $C_4H_3N_2^-$ (79 *m/z*) в тимине и 5-метил-цитозине; 2) ионы $C_4H_3N_2O^-$ (95 *m/z*) в 5-гидроксиметилурациле и 5-гидроксиметилцитозине.

Ионы с 41 *m/z* могут иметь элементный состав $NC_2H_3^-$, а в урациле – дополнительно OC_2H^-. Возможно, что ион с 55 *m/z* в тимине (в таблице 1 не приведен) представляет аналог этих ионов, где вместо Н-атома присутствует метильная группа.

Ионы $HNC{\equiv}CH^-$ (40 *m/z*) образуются глубоким распадом цикла в урациле и цитозине, а в тимине и 5-гидроксиметилурациле обнаружены их аналоги $HNC{\equiv}CCH_3^-$ (54 *m/z*) и $HNC{\equiv}CHCH_2OH^-$ (70 *m/z*) соответственно, где вместо одного из H-атомов присутствует заместитель.

Введение в молекулы новых структурных элементов в качестве заместителей иногда сильно влияет на процессы ионообразования. Однако заметных изменений в масс-спектрах метилпроизводных урацила и цитозина по сравнению с незамещенными основаниями мы не увидели. В ранних исследованиях электронно-индуцированных реакций в тимине ионы CH_3^- и $[M{-}CH_3]^-$ не были обнаружены; аналогичный результат получен и в настоящей работе, в том числе, для 5-метилцитозина. Мы предположительно идентифицировали лишь единичные процессы, в которых отрыв заместителя сопровождается выбросом какой-либо группы (см. текст выше и таблицу 1). При формировании масс-спектров гидроксиметилпроизводных оснований наблюдается большее разнообразие по ионному составу. Во-первых, как и в метилпроизводных регистрируются процессы одновременного отрыва заместителя и другой группы (см. текст выше и таблицу 1); во-вторых, происходит разрушение заместителя разрывом в нем C–O-связи с выделением ионов $[M{-}H_2O]^-$/$[M{-}H{-}HO]^-$ и $[M{-}H{-}H_2O]^-$/$[M{-}H_2{-}HO]^-$ (123 *m/z* и 122 *m/z* в 5-гидроксиметилцитозине, 124 *m/z* и 123 *m/z* в 5-гидроксиметилурациле), а также ионов $[M{-}HO]^-$ (125 *m/z*) и HO^- (17 *m/z*) в последнем соединении (в таблице 1 не приведены). Отметим, что только в 5-гидроксиметилурациле образуется ион $[M{-}CH_2OH]^-$ (111 *m/z*) выбросом заместителя (в таблице 1 не приведен). Кривая выхода этого иона в низкоэнергетической области (рис. 3) содержит паразитный вклад от процесса образования ионов $[M{-}H]^-$ (111 *m/z*) из примеси урацила (рис. 1). Была ли эта примесь изначально в образце или же возникла в результате частичного разложения 5-гидроксиметилурацила при его нагреве в ионизационной камере (~0.5%), нам неизвестно. При исследовании образца 5-гидроксиметилцитозина тоже обнаружена примесь незамещенного основания (~0.6%). Однако здесь кривая выхода малоинтенсивных ионов с 110 *m/z* (на рис. 6 не приведена) полностью соответствует кривой выхода ионов $[M{-}H]^-$ (110 *m/z*) из цитозина. Мы полагаем, что эти примеси не вносят (или почти не вносят) искажений в кривые выхода других ионов.

Обнаружены и другие артефакты, например, – малоинтенсивные пики в области тепловых энергий (~0 эВ) на кривых выхода ионов $[M{-}H]^-$, $[M{-}H_2]^-$ (рис. 1 – 6). Поскольку эти пики регистрировались ниже пороговой энергии соответствующих процессов, в [2, 3] их происхождение объяснялось взаимодействием реперных газов CCl_4 и SF_6 с парами образца. Мы полагаем, что есть и другие причины их появления, поскольку в наших экспериментах эти низкоэнергетические пики регистрировались и в отсутствие реперов. Аналогичные пики наблюдаются на кривых выхода ионов с 125 *m/z*, 124 *m/z,* 17 *m/z* из 5-гидроксиметилурацила (рис. 3) и на кривой выхода ионов с 123 *m/z* из 5-гидроксиметилцитозина (рис. 6). Дополнительные эксперименты показали, что относительная интенсивность этих пиков растет с повышением температуры ионизационной камеры. Возможные причины такого поведения этих пиков следующие: 1) занижение экспериментальной энергии появления относительно пороговой энергии реакций образования ионов обусловлено захватом электронов колебательно-возбужденными молекулами из высокоэнергетического “хвоста” больцмановского распределения молекул по внутренней энергии; 2) наличие примесных ионов в масс-спектрах с большей константой скорости процесса сублимации примеси, чем таковой для исследуемого соединения; 3) частичное разложение соединения и т.д.

Некоторым ионам из урацилов выше не было уделено внимания, поскольку они не представляют характеристические процессы в исследованных основаниях. Для ионов с 50 *m/z* из урацила в [2] предложен элементный состав C_3N^-. Ионы с 52 *m/z* из урацила и тимина могут иметь состав $C_3H_2N^-$ или C_3O^-. Для ионов с 71 *m/z* из тимина в [3] предложен элементный состав $C_2H_3N_2O^-$; возможно, что ионы с 70 *m/z* имеют состав $C_2H_2N_2O^-$. Для ионов с 83 *m/z* и 80 *m/z* из 5-гидроксиметилурацила мы предполагаем элементный состав $C_4H_5NO^-$ и $C_4H_2NO^-$ соответственно.

Полученные результаты исследования процессов образования отрицательных ионов из изолированных молекул пиримидинов не являются исчерпывающими применительно к возможным электронно-индуцированным реакциям в ДНК и РНК, поскольку азотистые основания в составе нуклеиновых кислот окружены другими структурными элементами. Они, например, связаны с фрагментами углеводов, а последние, в свою очередь, связаны с фосфатными группами. Наличие этих связей может внести коррективы в картину разрушения оснований и для их выявления необходимы исследования более сложных структурных единиц ДНК- и РНК-нуклеозидов, нуклеотидов и т.д. Предпринятые нами эксперименты с нуклеотидами не увенчались успехом из-за относительно низкой температуры разложения объектов, но недостаточной для их сублимации в вакууме. Для ряда нуклеозидов нами были получены удовлетворительные результаты, изложенные в

[19–22]. Сравнительный анализ этих результатов с полученными в настоящей работе данными, показывает некоторое различие электронно-индуцированных реакций в азотистых основаниях и нуклеозидах. Наиболее интенсивным процессом в основаниях является разрыв связи C–H в положении 1 цикла с образованием иона $[M–H]^-$ и радикала водорода в низкоэнергетической области. В нуклеозидах реализуется аналог этого процесса при разрыве связи основание–углевод (гликозидная связь) без образования водородного радикала, причем интенсивность этого процесса мала в низкоэнергетической области. Другие различия обусловлены одновременным разрушением основания и углевода без повреждения гликозидной связи или распадом только углевода. В нуклеозидах регистрировался интенсивный процесс выделения ионов $[M–H]^-$ разрывом связи C–H в положении 3 цикла в низкоэнергетической области, однотипный с процессом в основаниях [1]. Но в ДНК эта реакция может быть затруднена из-за наличия водородных связей между основаниями, принадлежащими разным спиралям. Возможно, что H-атомы или их заместители в положении 5 оснований не взаимодействуют или слабо взаимодействуют с соседними элементами в ДНК. Тогда связанные с ними фрагментационные процессы в изолированных основаниях можно рассматривать в качестве модельных процессов для протекающих в нуклеиновых кислотах процессов. Косвенным подтверждением тому являются результаты наших исследований электронно-индуцированных реакций в 5-Br-урациле и 5-Br-дезоксиуридине [23]. В основании наиболее интенсивным процессом фрагментации является выделение ионов Br^- в низкоэнергетической области и его лидирующее положение сохраняется и в нуклеозиде, то есть, наличие углевода в составе молекулы не препятствует этому процессу. Поэтому реакции разрушения заместителя в 5-гидроксиметилурациле и 5-гидроксиметилцитозине, вероятно, могут происходить и в том случае, когда молекулы находятся в составе ДНК. Здесь определенный интерес представляют ионы $[M–HO]^-$ и $[M–H_2O]^-$, образующиеся в области низких энергий, поскольку в клетках источником ионизирующих электронов для них могут быть не только радиация, но и различные биохимические процессы (гидратированные электроны). Абсолютное сечение этих реакций в изолированных основаниях мало (рис. 3, 6), но в ДНК их интенсивность может значительно возрасти из-за отсутствия основных конкурентов – реакций выделения ионов $[M–H]^-$ отрывом H-атомов из положений 1 и 3 цикла основания.

Полученные в настоящей работе данные по электронно-индуцированным реакциям в пиримидинах были проанализированы и в контексте существования похожих процессов при их метаболизме в живых организмах. Утилизация азотистых оснований в клетках происходит в ходе последовательных реакций [24]. Распад цитозина начинается его дезаминированием в урацил, а распад урацила включает в качестве первой стадии восстановление его в 5,6-дигидроурацил. Следовательно, реакции катаболизма цитозина и урацила не могут иметь аналогов среди электронно-индуцированных процессов, в ходе которых не предусмотрена подобная модификация молекул. И детальное изучение энергетических и кинетических характеристик различных стадий распада азотистых оснований в клетках, по-видимому, возможно в модельных экспериментах по ионно-молекулярным взаимодействиям в газовой фазе. Этот же вывод касается и возможных модельных исследований характеристик биохимических превращений 5-метилцитозина и 5-гидроксиметилцитозина в ДНК. В геноме млекопитающих последний образуется из первого в результате его гидроксилирования и далее окисляется до 5-формилцитозина и 5-карбоксилцитозина, которые затем в CpG-сайтах специфически распознаются и удаляются из ДНК [25].

Таким образом, при исследовании электронно-индуцированных реакций с урацилом, цитозином и их производными обнаружена идентичность процессов образования отрицательных ионов. 5-замещение в молекулах почти не влияет на относительную интенсивность ионов в масс-спектрах и их сечение. Вероятная причина наблюдаемого факта кроется в донорной природе заместителей, которые не способствуют эффективному захвату и длительному удержанию добавочного электрона в резонансных состояниях. Некоторые особенности формирования масс-спектров гидроксиметилпроизводных связаны с отрывом и разрушением заместителя. Для 5-гидроксиметилурацила обнаружено большее число таких каналов распада молекулярных ионов, чем для 5-гидроксиметилцитозина. Это может быть связано с различием акцепторных свойств карбонильной и амидной групп в гетероциклах, влияющих на термодинамическую стабильность образующихся ионов. Аналогичные процессы могут происходить в этих модифицированных основаниях в составе ДНК и РНК при их взаимодействии с электронами, источниками которых являются радиация и биохимические реакции в клетках. Таким образом, эти процессы будут вносить дополнительный вклад в распад нуклеиновых кислот. Особое значение они будут иметь при взаимодействии с низкоэнергетичекими электронами в условиях отсутствия конкуренции со стороны интенсивных реакций дегидрирования, происходящих в изолированных основаниях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Burrow P.D., Gallup G.A., Scheer A.M. et al.* // J. Chem. Phys. 2006. V. 124. № 12. P. 124310. https://doi.org/10.1063/1.2181570
2. *Denifl S., Ptasin'ska S., Hanel G. et al.* // Ibid. 2004. V. 120. № 14. P. 6557. https://doi.org/10.1063/1.1649724
3. *Denifl S., Ptasin'ska S., Probst M. et al.* // Phys. Chem. A. 2004. V. 108. P.6562. https://doi.org/10.1021/jp049394x
4. *Gohlke S., Abdoul-Carime H. and Illenberger E.* // Chem. Phys. Lett. 2003. V. 380. № 5–6. P. 595. https://doi.org/10.1016/j.cplett.2003.09.013
5. *Abdoul-Carime H., Langer J., Huels M.A. and Illenberger E.* // Eur. Phys. J. D. 2005. V. 35. P. 399. https://doi.org/10.1140/epjd/e2005-00194-5
6. *Dawley M.M., Tanzer K., Carmichael I. et al.* // J. Chem. Phys. 2015. V. 142. P. 215101. https://doi.org/10.1063/1.4921388
7. *Abdoul-Carime H., Huels M.A., Illenberger E. and Sanche L.* // Int. J. Mass. Spectrom. 2003. V. 228. P. 703.
8. *Denifl S., Matejcik S., Gstir B. et al.* // J. Chem. Phys. 2003. V. 118. P. 4107. https://doi.org/10.1063/1.1540108
9. *Muftakhov M.V., Shchukin P.V.* // Chemical Physics Letters. 2020. V. 739. P. 136967. https://doi.org/10.1016/j.cplett.2019.136967
10. *Муфтахов М.В., Щукин П.В., Хатымов Р.В.* // Журн. физ. химии. 2017. Т. 91. № 9. С. 1534. https://doi.org/10.7868/S0044453717090254
11. *Муфтахов М.В., Туктаров Р.Ф.* // Там же. 2023. Т. 97. № 2. В печати.
12. *Мазунов В.А., Щукин П.В., Хатымов Р.В., Муфтахов М.В.* // Масс-спектрометрия. 2006. Т. 3. № 1. С. 11.
13. *Khvostenko O.G., Shchukin P.V., Tuimedov G.M. et al.* // Int. J Mass Spectrom. 2008. V. 273. P. 69.
14. *Muftakhov M.V., Vasil'ev Yu.V., Mazunov V.A.* // Rapid Commun. Mass Spectrom. 1999. V. 13. P. 1104.
15. *Khatymov R.V., Muftakhov M.V., Mazunov V.A.* // Ibid. 2003. V. 17. P. 2327.
16. *Aflatooni K., Gallup G.A., and Burrow P.D.* // J. Phys. Chem. A. 1998. V. 102. № 31. P. 6205. https://doi.org/10.1021/jp980865n
17. *Isaacson M.* // J. Chem. Phys. 1972. V. 56. № 5. P. 1803. https://doi.org/10.1063/1.1677456
18. *Denifl S., Ptasin'ska S., Cingel M. et al.* // Chem. Phys. Lett. 2003. V. 377. P. 74. https://doi.org/10.1016/S0009-2614(03)01096-0
19. *Муфтахов М.В., Щукин П.В.* // Журн. технической физики. 2018. Т. 88. № 5. С. 770. https://doi.org/10.21883/JTF.2018.05.45907.2425
20. *Muftakhov M.V., Shchukin P.V.* // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2019. V. 33. P. 482.
21. *Muftakhov M.V., Shchukin P.V., Khatymov R.V.* // Radiation Physics and Chemistry. 2021. V. 184. P. 109464. https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2021.109464
22. *Муфтахов М.В., Туктаров Р.Ф.* // Журн. физ. химии. 2023. Т. 97. № 5. В печати.
23. *Shchukin P.V., Muftakhov M.V., Khatymov R.V., and Tuktarov R.F.* // The J. of Chemical Physics. 2022. V. 156. P. 104304. https://doi.org/10.1063/5.0077009
24. *Мецлер Д.* Биохимия. Химические реакции в живой клетке. Т. 3. М.: Мир, 1980. 488 с.
25. *Ефимова О.А., Пендина А.А., Тихонов А.В. и др.* // Экологическая генетика. 2014. Т. 12. № 1. С. 3.