

# Kapitel 5

## Reaktionen von Proteinbausteinen

Nachfolgend werden Resultate der Messung an partiell deuteriertem Glycin vorgestellt und mit bereits veröffentlichten Ergebnissen für nicht deuteriertes Glycin, der einfachsten, achiralen  $\alpha$ -Aminosäure, verglichen.

Daneben folgen in diesem Kapitel Meßergebnisse von Cystein, das eine schwefelhaltige Aminosäure darstellt. Interessant ist hier ein von uns beobachteter Zerfallskanal, der aus energetischen Gründen mit einer Konversion von Cystein zu Alanin verbunden sein muß.

Den Abschluß bilden Experimente mit der essentiellen Aminosäure Tryptophan sowie N-Acetyltryptophan. Bei letztem handelt es sich um eine an der Aminogruppe der Seitenkette acetylierte Form von Tryptophan. Es besitzt daher eine HN-CO-Gruppe und kann als sehr einfaches Dipeptidmodell aufgefaßt werden.

## 5.1 Glycin

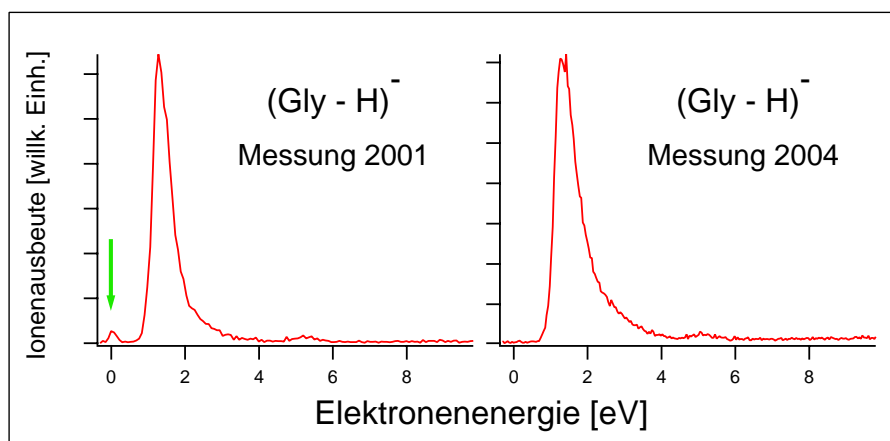
### 5.1.1 Ergänzungen zu früheren Messungen

Glycin (Gly,  $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}$ ) ist die einfachste  $\alpha$ -Aminosäure und dient oft als Modellsystem für größere und komplexere Aminosäuren oder Proteine. Daher wurden in der Vergangenheit eine Vielzahl theoretischer (Lit. [112–124]) und experimenteller (Lit. [121–126]) Arbeiten zum Glycin veröffentlicht. Es besitzt als einzige proteinogene Aminosäure (neben Pyrrolysin) ein *achirales*  $\alpha$ -Kohlenstoffatom.

Einleitend sollen kurz Ergebnisse von DEA-Messungen an Glycin präsentiert werden, die im Jahr 2002 publizierte Daten aus der Diplomarbeit des Verfassers ergänzen [28]. In einer später im Jahr 2003 erschienenen Arbeit von Ptasińska *et al.*, welche ebenfalls die dissoziative Elektronenanlagerung von Glycin zum Thema hatte, wurden unsere Ergebnisse weitestgehend bestätigt [127]. Abweichungen wurden lediglich in den Fragmenten  $(\text{Gly} - \text{H})^-/\text{Gly}$  und  $\text{H}^-/\text{Gly}$  konstatiert:

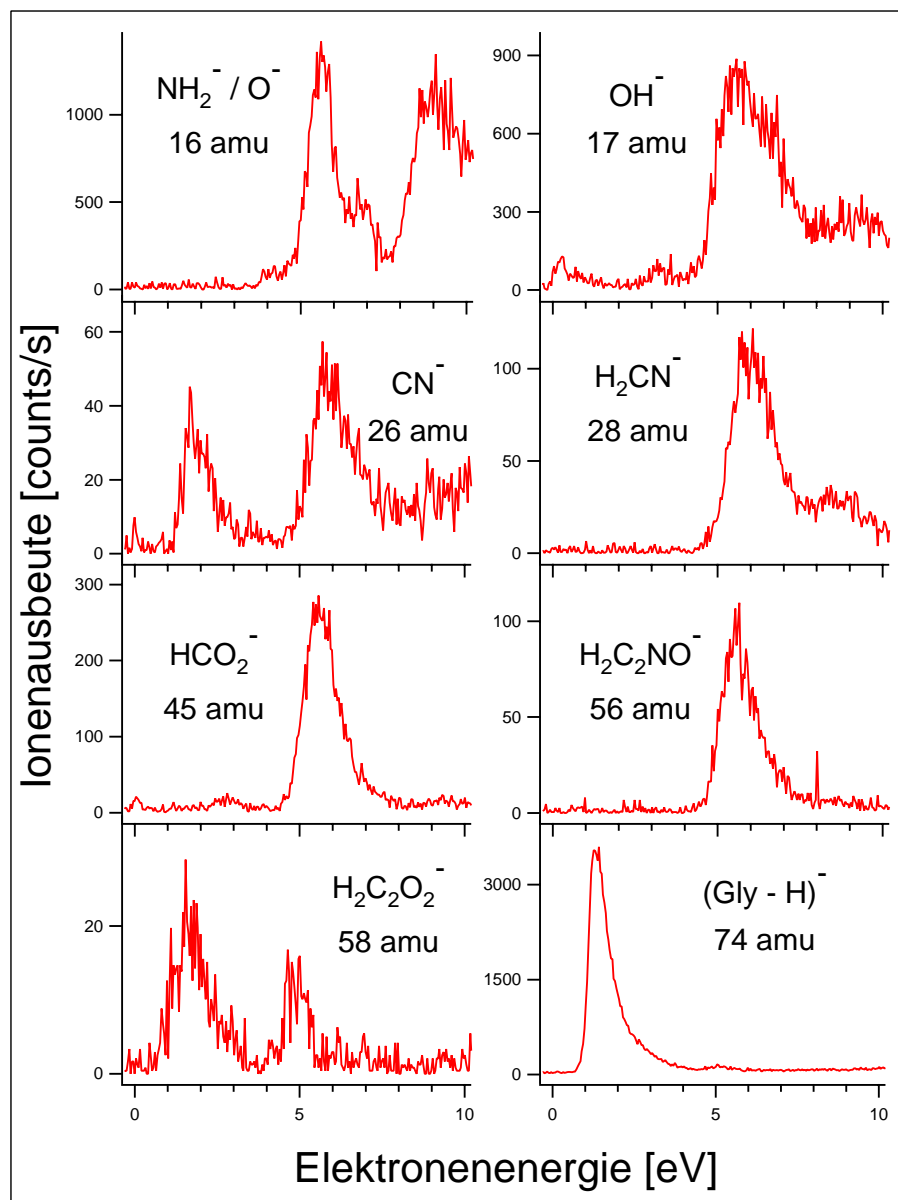
- Die Ionenausbeutekurve des  $(\text{Gly} - \text{H})^-/\text{Gly}$ -Fragments zeigte bei uns neben dem dominanten Signal bei etwa 1.3 eV ein kleineres bei 0 eV (Abbildung 5.1, linkes Spektrum). Die Innsbrucker Gruppe fand an dieser Energieposition in ihrer Nachmessung hingegen *keines*. Durch neuere Messungen unsererseits (2004) stellte sich heraus, daß dieses ebenso wie manche 0 eV Signale anderer Fragmentationen auf die Anwesenheit des Kalibriergases Schwefelhexafluorid zurückzuführen war. Ohne dieses entsteht kein  $(\text{Gly} - \text{H})^-$ -Fragment bei 0 eV (Abb. 5.1, rechtes Spektrum). Vermutlich wird das Signal durch eine Ionen-Molekülreaktion verursacht, in Analogie zum dem in Kapitel 4.4 diskutierten Mechanismus.
- Die zweite Richtigstellung betrifft unsere 2002 dokumentierte Bestimmung der Ionenausbeute von  $\text{H}^-/\text{Gly}$ . Die Messungen zeigten damals ein intensives 0 eV-Signal. Ptasińska *et al.* fanden ein Jahr später in-

dessen bei verschiedenen Elektronenenergien *keine*  $\text{H}^-/\text{Gly}$ -Anionen, was unsererseits 2004 verifiziert werden konnte. Daß wir irrtümlich ein Signal bei 1 amu detektierten lag vermutlich am Zusammenbruch der Massenselektion des Spektrometers, so daß *sämtliche* Ionen den Massenfilter passieren konnten. Folgerichtig würde die IAK von allen vorhandenen Anionen gebildet und insbesondere von  $\text{SF}_6^-$  und  $\text{SF}_5^-$  dominiert werden.



**Abbildung 5.1.** Vergleich der Ionenausbeutekurven der um ein Wasserstoffatom ärmeren Glycinanionen. Im Jahr 2001 wurde ein 0 eV-Peak gemessen (grüner Pfeil), bei aktuellen Messungen (nun in Abwesenheit des Kalibrierungsgases  $\text{SF}_6$ ) konnte dieser nicht mehr festgestellt werden.

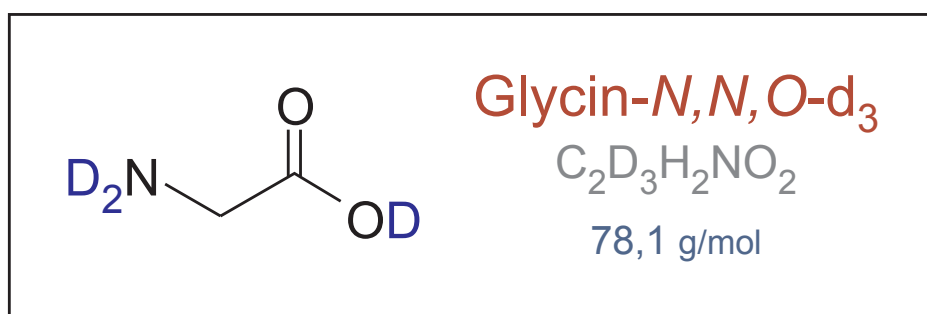
Abbildung 5.2 zeigt zusammenfassend unsere Spektren für Glycin, die in Abwesenheit des Kalibrierungsgases  $\text{SF}_6$  entstanden. Sie dienen vorrangig dem im nächsten Abschnitt behandelten Vergleich mit deuteriertem Glycin. Von einer eingehenden Betrachtung wird hier abgesehen (siehe dazu Lit. [28]).



**Abbildung 5.2.** Überblick aller anionischen Fragmente aus der DEA-Messung an undeutertem Glycin (Spektren von 2004). Eine Diskussion fand bereits in Lit. [28] statt.

### 5.1.2 Deuteriertes Glycin

Das in Abb. 5.3 dargestellte, teildeuterierte Glycin (Gly<sub>D</sub>, Glycin-*N, N, O*-d<sub>3</sub>) sollte dazu dienen, die bereits in Lit. [28] und der Diplomarbeit des Verfassers getroffenen Fragmentzuordnungen des elektronenstimulierten Glycinzerfalls zu konkretisieren und zu vervollständigen.



**Abbildung 5.3.** Struktur des partiell deuterierten Glycins (Glycin-*N, N, O*-d<sub>3</sub>), Summenformel und Molgewicht.

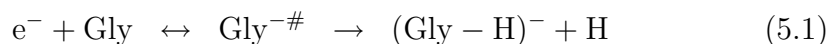
Für einige Anionenfragmente ergaben sich Verschiebungen in ihrer Masse gegenüber undeuteriertem Glycin aufgrund des Austausches von D gegen H. Diese Änderungen stellt Tabelle 5.1 in einer Übersicht dar. In Klammern gesetzte Massen des DEA-stimulierten Zerfalls von Gly<sub>D</sub> sind, verglichen mit den gleichen Massen aus Gly, deutlich schwächer präsent. Es kommt naturgemäß durch die Deuterierung bei vielen Fragmenten zu einer Erhöhung ihrer Masse. Leider kann hier für die meisten keine genauere Analyse vorgenommen werden, da während der Meßzeit an Gly<sub>D</sub> nur ein sehr mäßiger Elektronenstrom einregelbar war. Fast alle Wasserstoff enthaltenen Anionen aus Gly<sub>D</sub> sind nun bei einer höheren Masse zu finden als bei den Messungen mit undeuteriertem Glycin. Dies gilt allerdings nicht streng, d. h. es sind immer noch Ionen bei der Masse zu finden, die bereits in Gly vorhanden ist. Beispielsweise zeigt Gly unter Beschuß mit langsamen Elektronen ein Signal bei 17 amu (OH<sup>-</sup>/Gly) und keine Ionenausbeute bei 18 amu. Bei deuteriertem Glycin ist

das bei 17 amu nur noch schwach ausgeprägt, hingegen ist eines bei 18 amu ( $\text{OD}^-/\text{Gly}_\text{D}$ ) dominant.

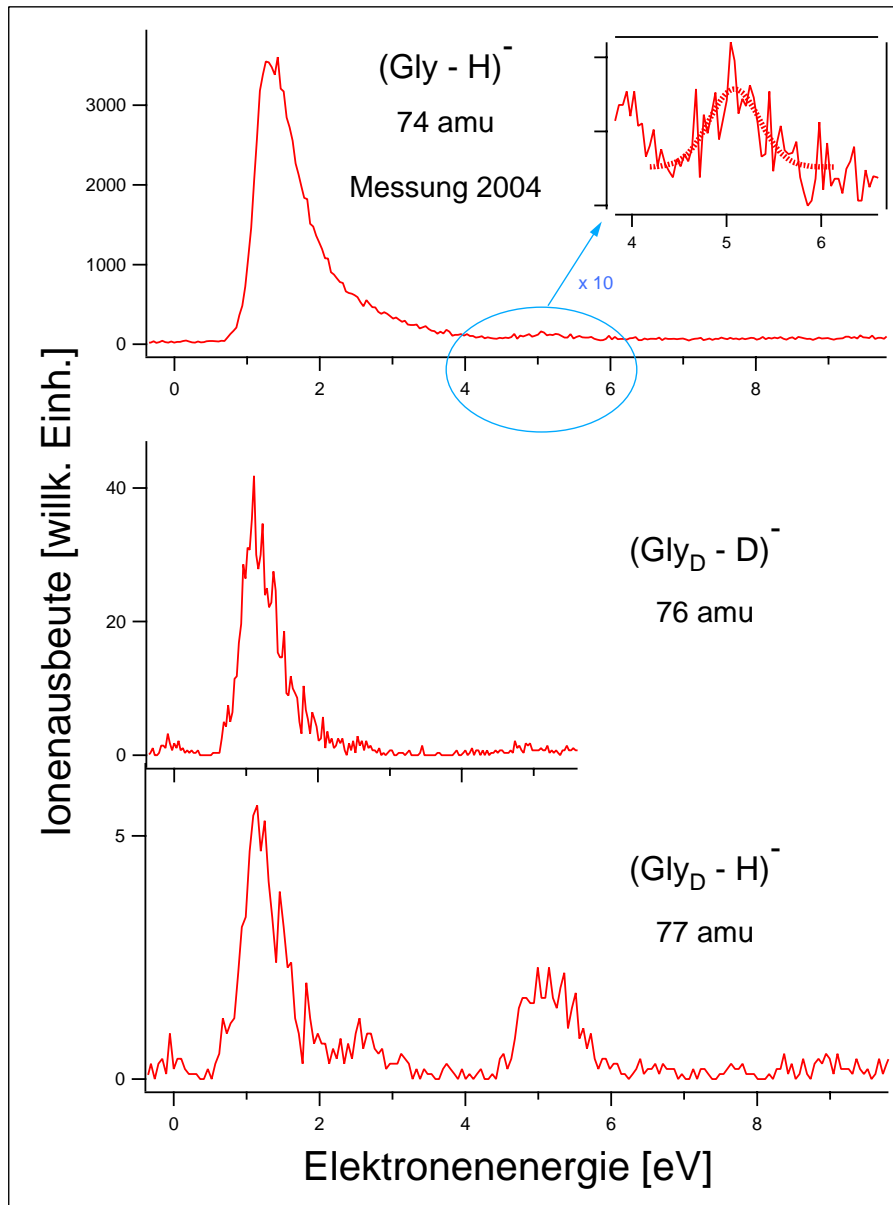
**Tabelle 5.1.** Massen (in amu) der anionischen Fragmente von Glycin im Vergleich mit denen von deuteriertem Glycin (Glycin- $N, N, O$ - $\text{d}_3$ ) sowie Vorschläge für ihre Zusammensetzung. Signale der in Klammern gesetzten Fragmentmassen sind nur wenig ausgeprägt.

Fragmente von Gly		Fragmente von Gly <sub>D</sub>	
16	$\text{O}^-$	16	$\text{O}^-$
17	$\text{OH}^-$	(17)	$\text{OH}^-$
		18	$\text{OD}^-$
26	$\text{CN}^-$	26	$\text{CN}^-$
28	$\text{H}_2\text{CN}^-$	(28)	$\text{H}_2\text{CN}^-$
		29	$\text{HDCN}^-$
45	$\text{HCO}_2^-$	(45)	$\text{HCO}_2^-$
		46	$\text{DCO}_2^-$
56	$\text{H}_2\text{C}_2\text{NO}^-$	(56)	$\text{H}_2\text{C}_2\text{NO}^-$
		57	$\text{HDC}_2\text{NO}^-$
58	$\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_2^-$	(58)	$\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_2^-$
		59	$\text{HDC}_2\text{O}_2^-$
74	$(\text{Gly} - \text{H})^-$	76	$(\text{Gly}_\text{D} - \text{D})^-$
		77	$(\text{Gly}_\text{D} - \text{H})^-$

Trotz der erwähnten Problematik seien hier zumindest Ionenausbeutespektren von Gly<sub>D</sub> aufgeführt, die eine Wasserstoff- bzw. Deuteriumsabstraktion des Muttermoleküls zeigen (Abb. 5.4). Für Glycin wurde diese zum geschlossenschaligen Anion führende und um etwa 1.3 eV liegende Dissoziation



bereits als beherrschender Zerfallskanal mit einem Wirkungsquerschnitt in der Größenordnung von  $\approx 10^{-16} \text{ cm}^2$  identifiziert [28, 127].



**Abbildung 5.4.** *Oben:* Ionenausbeutekurve von  $(\text{Gly} - \text{H})^-$  aus Glycin. Zusätzlich ist in 10facher Vergrößerung der IAK-Teil um 5 eV abgebildet. Die gepunktete Kurve stellt eine angepaßte Gaußfunktion der schwachen Resonanz bei etwa 5.1 eV dar. *Mitte und unten:* IAKs von  $(\text{Gly}_D - \text{D})^-$  und  $(\text{Gly}_D - \text{H})^-$  aus deuteriertem Glycin. Die  $(\text{Gly}_D - \text{D})^-$ -Messung wurde nur bis  $\approx 6$  eV durchgeführt.

Die obere Ionenausbeutekurve in Abb. 5.4 zeigt das auch in Abb. 5.2 dargestellte Spektrum von  $(\text{Gly} - \text{H})^-/\text{Gly}$ . Bei diesem ist neben dem niederenergetischen dominanten Peak im Bereich von etwa 5.2 eV eine schwache Resonanz zu erkennen (Vergrößerung mit angepaßter Gaußfunktion in Abb. 5.4).

Darunter befinden sich Ergebnisse für das Glycin- $N, N, O$ - $\text{d}_3$ . Für 76 amu (mittlere IAK), also bei einer Abspaltung von Deuterium, ist die bei rund 1.2 eV erwartete Resonanz zu erkennen. Eine zusätzliche, bei etwa 5.2 eV liegende Resonanz ist nicht auszumachen, kann aber aufgrund der recht schwachen generellen Signalintensität selbstverständlich nicht ausgeschlossen werden.

Die untere IAK in Abb. 5.4 ist das Ergebnis einer elektroneninduzierten H-Abstraktion ( $(\text{Gly}_\text{D} - \text{H})^-/\text{Gly}_\text{D}$ ). Neben der bei 1.2 eV ist hier besonders die Resonanz bei 5.2 eV bemerkenswert, die hier mit einer hohen Intensität deutlich wird. Würde *nur* die letzte bei 77 amu auftreten, wäre dies ein Beweis einer *selektiven* Wasserstoffabspaltung am Methylenkohlenstoff des Glycins bei 5.2 eV. Tatsächlich zeigen einige von uns aufgenommene Spektren von  $(\text{Gly}_\text{D} - \text{H})^-/\text{Gly}_\text{D}$  keine Ausbeute bei 1.2 eV sondern nur bei 5.2 eV. Diese wurden jedoch unter schlechten apparativen Bedingungen aufgenommen, so daß sich deren Diskussion hier leider verbietet. Gleichwohl kann hier eine ausgeprägte Selektivität beobachtet werden, d. h. bei 1.2 eV werden H oder D am Carboxylkohlenstoff (oder am Stickstoff) abstrahiert, bei 5.2 eV am Methylenkohlenstoff. In Lit. [127] wurde das Intensitätsverhältnis des letzten Signals zu erstem auf rund 1:25 ermittelt. Dieses Verhältnis findet sich auch hier in den Spektren von deuteriertem Glycin wieder.

Eine Erklärung für den beobachteten 1.2 eV Peak wäre beispielsweise, daß die Erwärmung (Energiezufuhr) einen intra- und/oder intermolekularen H/D-Austausch des Glycins begünstigt. Als Konsequenz werden dann auch Deuteriumatome die ehemals von Wasserstoffatomen besetzten Positionen einnehmen und *vice versa*.



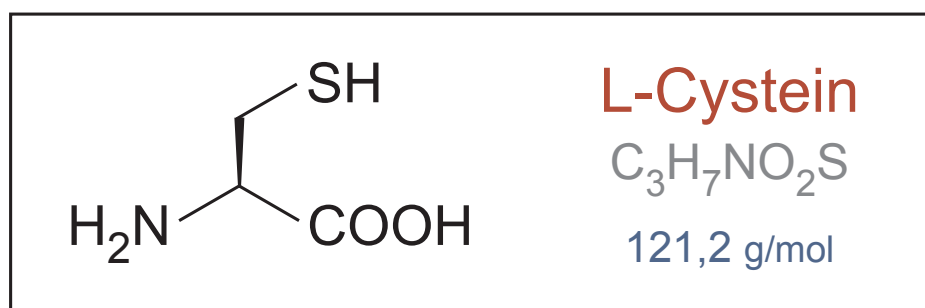
In Lit. [28] wurde die thermodynamische Schwelle der Reaktion (5.1) für den Fall der Lokalisierung der Überschußladung an der Carboxylgruppe mit 1.23 eV bestimmt. Von Aflatooni *et al.* wurde in einem ETS-Experiment ein zwischen 0.8 und 3.5 eV liegender temporärer anionischer Zustand für Glycin bestimmt und der Elektronenanlagerung in ein leeres  $\pi^*$ -Molekülorbital zugeordnet, das sich an der COOH-Gruppe befindet [15]. Für Bindungsbruch und Ladungslokalisation am Stickstoff hingegen beträgt die erforderliche Energie 3.6 eV, für den Methylenkohlenstoff 2.8 eV [28]. Bei der schwachen 5.2 eV-Resonanz ist entsprechend die Bildung jedes dieser drei Anionen thermodynamisch möglich. Aus den dargelegten Gründen wird indes die H-Abspaltung am Methylenkohlenstoff als wahrscheinlichste angesehen.

## 5.2 Cystein

### 5.2.1 Allgemeines

Die Aminosäure Cystein (Cys,  $\text{H}_2\text{N}-\text{CHR}-\text{COOH}$  mit  $\text{R} = \text{CH}_2\text{SH}$ ) mit ihrer reaktiven Sulfhydrylgruppe ist für eine Reihe biologischer Funktionen wie Enzymaktivität oder Gestaltgebung einiger Proteine (Ausbildung von Disulfidbrücken) von Bedeutung [128, 129]. Sie besitzt wie fast alle der proteinogenen Aminosäuren (und im Gegensatz zum Glycin) ein chirales  $\alpha$ -Kohlenstoffatom. Vom Cystein existieren somit zwei Enantiomere, wobei die linksdrehende L-Aminosäure wie bei allen anderen chiralen Aminosäuren die proteinogene Form darstellt und in diesem Experiment Verwendung fand (Abb. 5.5). Im folgenden meint die Bezeichnung Cys oder Cystein also genauer das L-Cystein.

Untersuchungen zur elektronenstimulierten Desorption (ESD) von Anionen von physisorbierten Cystein-Filmen zeigen, daß Elektronen mit Energien bis zu 30 eV effektiv Zerfallsprozesse *via* DEA auslösen können [130]. Allerdings konnten nur Massen mit weniger als 35 amu detektiert werden, da schwerere Fragmente wahrscheinlich nicht genügend kinetische Energie besitzen, die durch die Oberfläche induzierten attraktiven Kräfte (Polarisation)



**Abbildung 5.5.** Struktur des L-Cysteins, Summenformel und Molgewicht.

zu überwinden [131]. Im Gegensatz dazu bieten Gasphasenexperimente, wie bereits ausgeführt, die Möglichkeit, jedes genügend langlebige (in Bezug auf den Nachweis im Spektrometer) Anion zu detektieren. Beispielsweise konnten für Glycin die in der Gasphase detektierten Anionen wie (Gly – H)<sup>–</sup> oder COOH<sup>–</sup> nicht im entsprechenden Oberflächenexperiment nachgewiesen werden [28, 130]. Darüberhinaus ändert die Anwesenheit von Nachbarmolekülen (Lösungsmittel, Oberfläche) meist die Struktur von Aminosäuren. Generell liegen Aminosäuren in Lösung bei neutralem pH-Wert als dipolare Ionen (Zwitterionen) und nicht als ungeladene Moleküle vor [132]. Die Aminogruppe ist protoniert (–NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) und die Carboxylgruppe dissoziiert (–COO<sup>–</sup>). Im Festkörper ist dies gleichermaßen der Fall [133]. In der Gasphase hingegen wird eine neutrale Struktur bevorzugt [119, 126, 134].

### 5.2.2 Ergebnisse

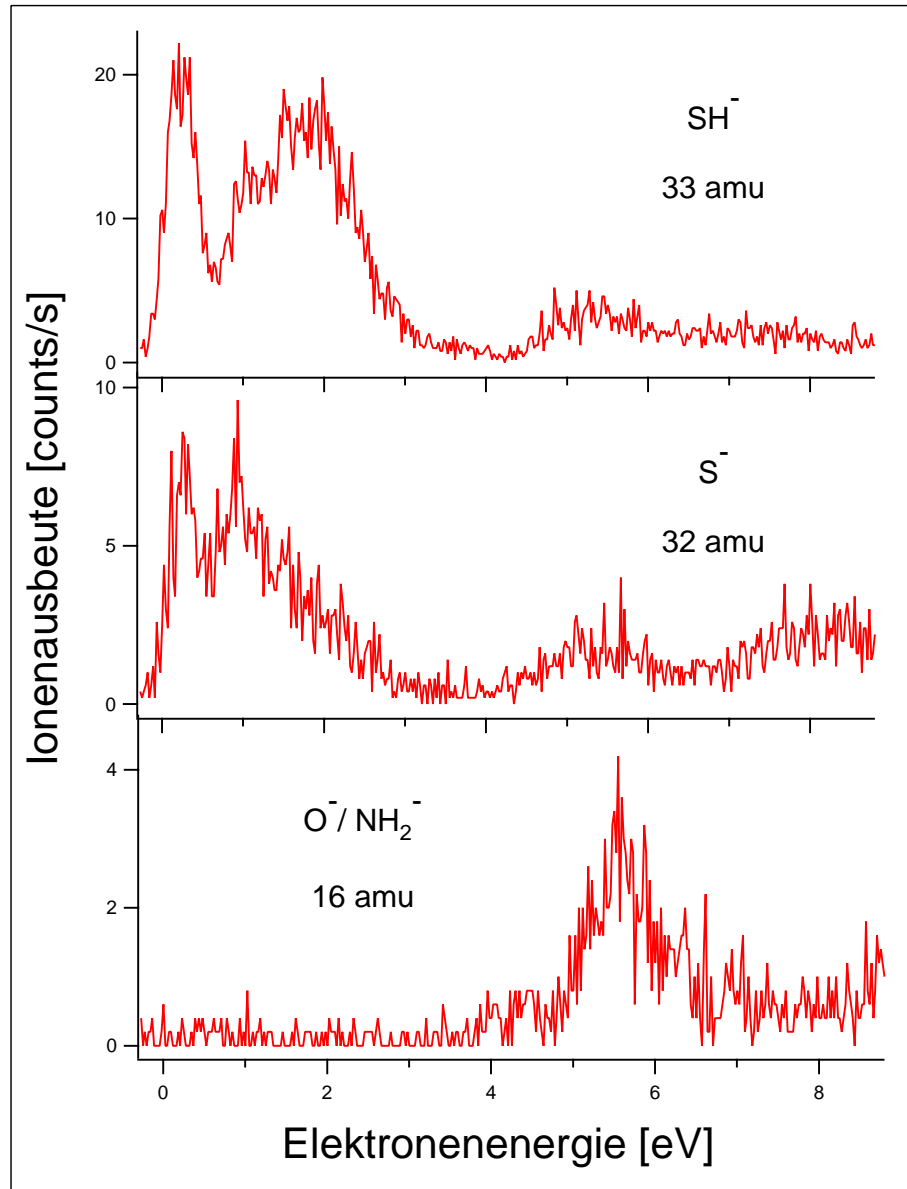
Insgesamt konnten von uns sieben durch DEA erzeugte Fragmentionen identifiziert werden [29]. Die Produktionen O<sup>–</sup> und/oder NH<sub>2</sub><sup>–</sup> (16 amu), S<sup>–</sup> (32 amu) und SH<sup>–</sup> (33 amu) wurden bereits im ESD-Experiment beobachtet, allerdings beschränkt auf Elektronenenergien größer als 4 eV [130]. Die Ergebnisse unseres Experimentes für diese Ionen sind in Abb. 5.6 dargestellt. Tatsächlich könnten die bei 32 und 33 amu detektierten Massen prinzipi-

ell auch den Anionen  $\text{O}_2^-$  respektive  $\text{HO}_2^-$  zugeordnet werden. Diese wurden jedoch nicht in DEA-Experimenten mit anderen Aminosäuren detektiert [28, 130, 135]. Gleichwohl kann ihre Entstehung hier nicht vollständig ausgeschlossen werden.

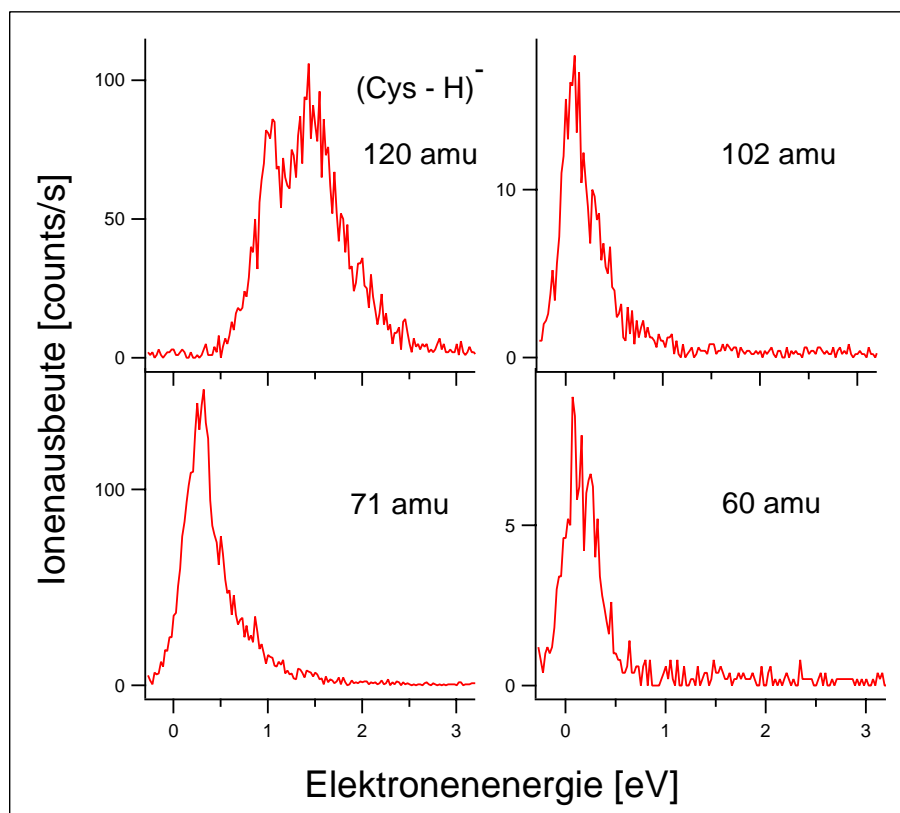
Darüberhinaus fanden wir als schwerere Anionen die Fragmente mit den Massen 120 amu ( $(\text{Cys} - \text{H})^-$ ), 102 amu, 71 amu und 60 amu (Abb. 5.7). Interessanterweise entstehen die leichteren Anionen im gesamten untersuchten Energiebereich, die schwereren hingegen sind auf Energien  $< 3$  eV beschränkt. Diese Beobachtung spiegelt die generelle Verteilungsmöglichkeit der Überschußenergie auf die Fragmente wieder. Beispielsweise kann die Überschußenergie der Reaktion, die das relativ leichte Schwefel- oder Sauerstoffanion liefert, an das schwerere neutrale Fragment abgegeben werden, das dann weitere Zerfallsreaktionen durchlaufen kann. Dem steht eine Reaktion wie die Bildung des um ein Wasserstoff ärmeren Muttermolekülanions  $(\text{Cys} - \text{H})^-$  gegenüber. Die Überschußenergie kann hier in interne Energie des Ions umgewandelt werden, welches allerdings bei 3–4 eV in Bezug auf Dissoziation und Autodetachment instabil wird [16].

Wie bei allen anderen von uns untersuchten Molekülen besteht auch beim Cystein die Gefahr der thermischen Zersetzung, was bei Aminosäuren die Entstehung von  $\text{CO}_2$  zur Folge hätte [136]. Aflatooni *et al.* beobachteten im ETS-Spektrum von Cystein eine Signatur bei 3.59 eV, die sie anwesendem  $\text{CO}_2$  zuordneten [137]. Frühere ET-Messungen mit  $\text{CH}_3\text{SH}$ , das wie Cystein eine SH-Gruppe enthält, zeigen ein breites Charakteristikum um 2.9 eV, das einer Elektronenanlagerung in das  $\sigma^*(\text{CSH})$ -MO zugeordnet wurde [138]. Aus diesem Grund kann die von Aflatooni *et al.* beobachtete Resonanz bei 3.59 eV im ETS von Cystein möglicherweise auch einer Anlagerung in ein entsprechendes  $\sigma^*(\text{CSH})$ -MO des Cysteins entstammen. Somit wäre eine Erklärung über vorhandenes  $\text{CO}_2$  dort hinfällig.

Um das Risiko thermischer Dekomposition zu minimieren, erhitzen wir das Cystein nicht über 390 K und blieben damit 100 K unter der Zersetzungstemperatur. Falls  $\text{CO}_2$  durch Erhitzen in der Apparatur gebildet wer-



**Abbildung 5.6.** Ionenausbeutekurven für Elektronenenergien bis etwa 9 eV von  $\text{SH}^-$ ,  $\text{S}^-$  und 16 amu aus Cystein.

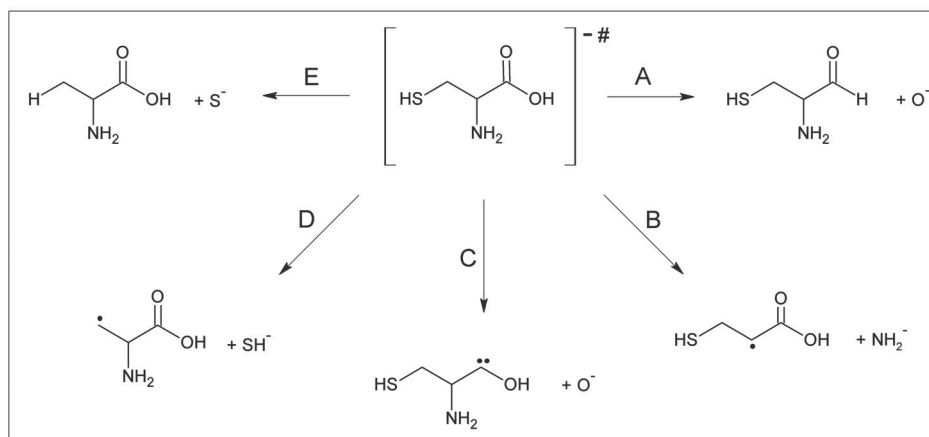


**Abbildung 5.7.** Ionenausbeutekurven für  $(\text{Cys} - \text{H})^-$  und Fragmente mit 102 amu, 71 amu und 60 amu im Energiebereich bis 3 eV aus Cystein.

den würde, sollte seine Signatur ( $O^-$ -Fragment) im unteren Spektrum der Abb. 5.6 zu sehen sein. Im Energiebereich unterhalb von 10 eV liefert  $CO_2$  zwei bei 4.4 und 8.2 eV liegende Resonanzen, wobei letztere etwa dreimal intensiver erscheint als erste. Diese Eigenheit läßt sich jedoch nicht in unserem Spektrum erkennen. In der IAK des 16 amu-Fragments ist nur ein schwacher Peak bei 4.4 eV auszumachen, bei 8.2 eV dagegen kein etwa dreifach größerer Beitrag. Somit ergibt sich kein Hinweis auf vorhandenes  $CO_2$ .

Ein  $O^-$ -Fragment kann das Ergebnis einer Spaltung der  $C=O$ -Doppelbindung oder einer konzertierten Reaktion entsprechend den Reaktionspfaden C und A in Abb. 5.8 sein. Das Amid-Anion würde wahrscheinlich durch einen einfachen  $C-N$ -Bindungsbruch entstehen (Reaktion B). Mit den jeweiligen Elektronenaffinitäten (1.46 eV für O, Lit. [139]; 0.78 eV für  $NH_2$ , Lit. [140]) und mittleren Bindungsenergien (Lit. [75]) kann die thermodynamische Schwelle der Reaktionen A, B und C in Abb. 5.8 auf 2.5 eV, 2.2 eV und 6.0 eV abgeschätzt werden. Das beobachtete Auftrittspotential von  $O^-$  in Abb. 5.6 beträgt etwa 4.5 eV und ist damit deutlich größer als die ermittelten Schwellen der Reaktionen A und B.

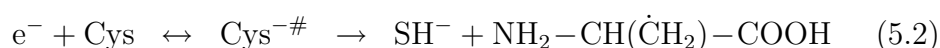
Die Ionenausbeutekurven von  $S^-$  und  $SH^-$  in Abb. 5.6 und  $(Cys - H)^-$  in Abb. 5.7 weisen zwei Strukturen bei Energien bis 3 eV auf. Im ET-Experiment wird eine Resonanz bei 1.98 eV beobachtet und der Anlagerung des zusätzlichen Elektrons in ein  $\pi^*(COOH)$ -MO zugeordnet [137]. In der Einleitung wurde bereits erwähnt, daß die Elektronentransmissionsspektroskopie den reinen Franck-Condon-Übergang widerspiegelt, während die DEA-Spektroskopie die Ausbildung eines TNI und dessen Zerfall wiedergibt [16, 17]. Die Konsequenz ist eine Verschiebung des DEA-Signals zu *niedrigeren* Energien als in der ETS beobachtet (s. S. 22 in Kap. 2.5). Aus diesem Grund vermuten wir das  $\pi^*(COOH)$ -Muttermolekülanion als Vorstufe der bei 1.6 eV ( $SH^-$ ) und 1.1 eV ( $S^-$ ,  $(Cys - H)^-$ ) gebildeten anionischen Fragmente. Diese drei Fragmente zeigen außerdem einen weiteren niederenergetischen Peak bei 0.4 eV ( $S^-$ ,  $SH^-$ ) und 0.6 eV ( $(Cys - H)^-$ ). Neben einem regulären Ursprung (z. B. Lokalisation des Elektrons im  $Cys^{-\#}$  auf der Schwefelgruppe)



**Abbildung 5.8.** Mögliche Dissoziationskanäle für  $\text{O}^-$  (Wege A und C),  $\text{NH}_2^-$  (Weg B),  $\text{SH}^-$  (Weg D) und  $\text{S}^-$  (Weg E) nach Elektronenanlagerung an Cystein und Strukturvorschläge. Durch Reaktion E würde Cystein in Alanin überführt werden.

besteht bei dieser Energie die Möglichkeit von schwingungsangeregten Targetmolekülen (s. Kap. 4.4, S. 73).

Bei niedriger Energie ergibt sich die Bildung von  $\text{SH}^-$  durch einfachen HS–C-Bindungsbruch. Ein Alanyl-Radikal wäre das entsprechende Gegenstück dieser Reaktion (Reaktion D in Abb. 5.8):



Mit einer Elektronenaffinität von 2.32 eV für SH (Lit. [141]) und einer Dissoziationsenergie von 2.4 eV für die C–S-Bindung (Lit. [142]) wird Reaktion (5.2) nahezu thermoneutral.

Das  $\text{S}^-$ -Ion kann sich durch Spaltung der C–S- und S–H-Bindung bilden:



Mit den thermodynamischen Werten für  $EA(\text{S}) = 2.08 \text{ eV}$  (Lit. [143]) und den Bindungsenergien  $D(\text{C-S}) = 2.4 \text{ eV}$  und  $D(\text{S-H}) = 3.9 \text{ eV}$  (Lit. [144]) kann die Schwelle für Reaktion (5.3) auf 4.2 eV abgeschätzt werden und ist

damit erst über die Core excited-Resonanz bei 6 eV erreichbar. Eine Alternative zu Gl. (5.3) besteht im Transfer des H-Atoms zum  $-\dot{\text{C}}\text{H}_2$  während der Entstehung des  $\text{S}^-$ . Damit würde die Aminosäure Alanin entstehen (analog Weg E in Abb. 5.8):



Im Vergleich zu Reaktion (5.3) würde die Energieschwelle um den Betrag der C–H-Bindungsenergie von etwa 4.4 eV (Lit. [145]) verringert werden. Die Bildung von Alanin aus Cystein auf diesem Wege wäre dann exotherm und bereits über die niederenergetischen Resonanzen zugänglich. Konzertierte Reaktionen mit intramolekularem Wasserstofftransfer (*scrambling*) wurden bereits für DEA-Reaktionen unterhalb von 10 eV in Ethylencarbonat berichtet [146].

Die Bildung der Anionen  $\text{S}^-$  und  $\text{SH}^-$  oberhalb von 5 eV (Abb. 5.6) kann in Übereinstimmung mit dem Ergebnis der ESD-Messungen von Cystein gesehen werden [130]. Abweichungen in der Lage der Peaks ergeben sich aus den entsprechenden Randbedingungen, die mit der Desorption von Ionen verbunden sind [131].

Neben dem Spektrum des Anions  $(\text{Cys} - \text{H})^-$ , für welches wir einen Wirkungsquerschnitt in der Größenordnung von  $\approx 10^{-16} \text{ cm}^2$  ermittelten, zeigt Abb. 5.7 verschiedene schwerere Fragmente (60 amu, 71 amu und 101 amu) mit relativ hohen Ionenausbeuten. Eine vage Strukturzuordnung für 71 amu wäre etwa  $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}_2^-$ , verbunden mit dem Verlust eines SH-Radikals und  $\text{NH}_3$  im Cystein. Das 101 amu-Anion könnte sich durch Abgabe von  $\text{H}_2\text{O}$  und  $\text{H}_2$  formen und somit die Summenformel  $\text{C}_3\text{H}_3\text{NOS}^-$  besitzen.

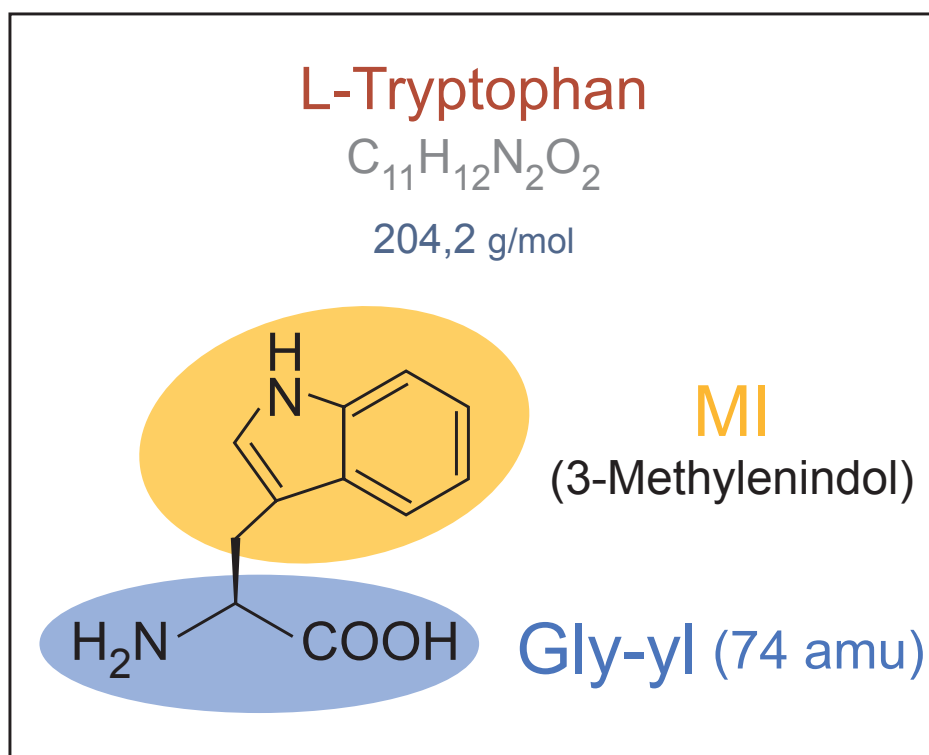
## 5.3 Tryptophan

### 5.3.1 Allgemeines

Die essentielle Aminosäure Tryptophan (Trp,  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$ ) kann aus methodischen Erwägungen als Verknüpfung einer aromatischen 3-Methylenindol-



einheit (MI) und einem Glycinradikal (Gly-yl) am  $\alpha$ -Kohlenstoff angesehen werden, wie dies in Abb. 5.9 dargestellt ist. Tryptophan wird beispielsweise zur Biosynthese von Nicotinat (Niacin) benötigt, welches wiederum zur Bildung von  $\text{NAD}^+$  (Nicotinamidadeninucleotid), einem wichtigen Coenzym, notwendig ist [132].



**Abbildung 5.9.** Struktur des L-Tryptophans, Summenformel und Molgewicht. Das Molekül kann durch eine Verknüpfung eines Glycinradikals (Gly-yl) mit einer 3-Methylenindoleinheit (MI) beschrieben werden.

### 5.3.2 Ergebnisse

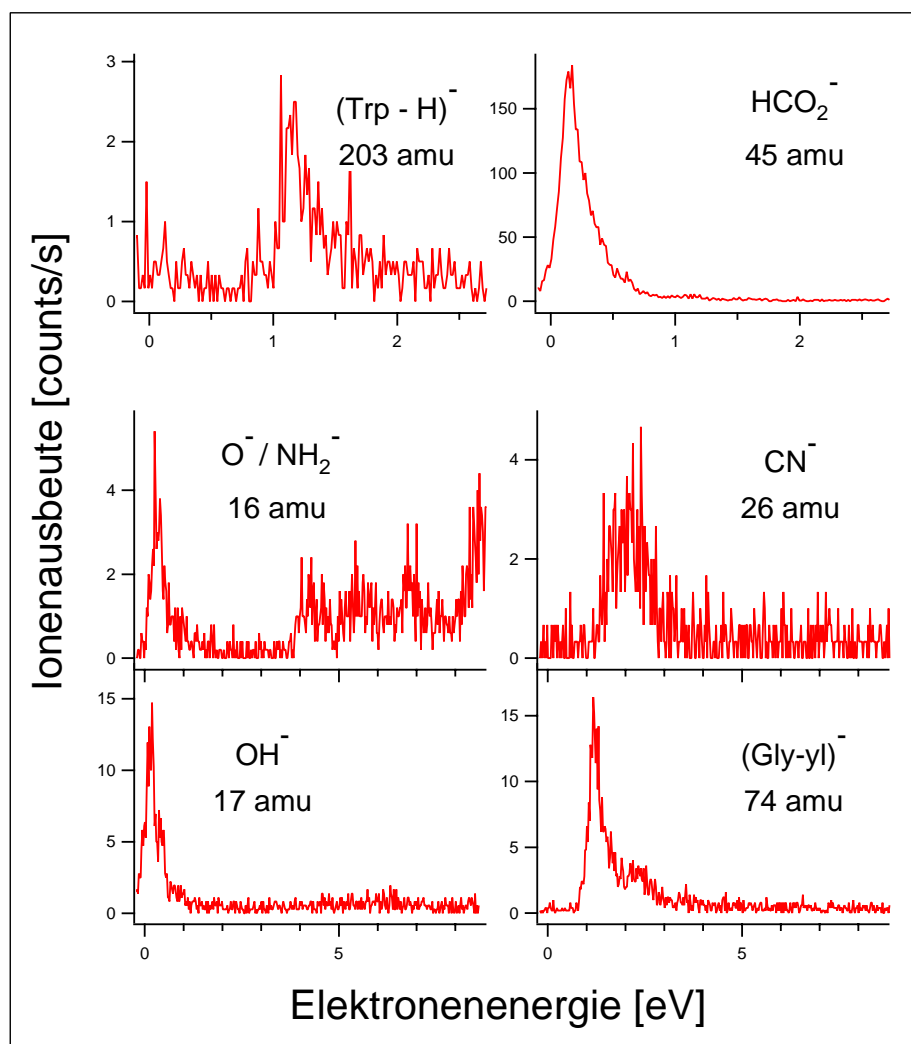
Nach Anlagerung niederenergetischer Elektronen ( $< 10$  eV) konnten von uns sechs verschiedene anionische Fragmente nachgewiesen werden: Das um ein

Wasserstoffatom ärmere Muttermolekülanion bei 203 amu ( $(\text{Trp} - \text{H})^-$ ) sowie die Massen 74 amu ( $(\text{Gly-yl})^-$ ), 45 amu ( $\text{HCO}_2^-$ ), 26 amu ( $\text{CN}^-$ ), 17 amu ( $\text{OH}^-$ ) und 16 amu ( $\text{O}^-$  und/oder  $\text{NH}_2^-$ ) [30]. Als intensivster Dissoziationskanal erweist sich die Reaktion zum 45 amu-Fragment. Der von uns abgeschätzte Wirkungsquerschnitt dafür liegt in der Größenordnung von  $\approx 10^{-17} \text{ cm}^2$ , für das  $(\text{Trp} - \text{H})^-$ -Anion beträgt  $\sigma$  nur noch  $\approx 10^{-19} \text{ cm}^2$ . Die zugehörigen Ionenausbeutekurven zeigt Abbildung 5.10.

Während des Experiments wurde die Zersetzungstemperatur von Tryptophan (270 °C) immer um mindestens 80 °C unterschritten. Neben  $\text{NH}_3$  und  $\text{CO}_2$  wären die wahrscheinlichen Produkte einer thermischen Dekomposition von Trp das Alanyl- und Glycylradikal [147]. Diese könnten dann den Reaktionsraum entweder als neutrale Radikale oder über einen Wasserstoffeffang (durch Stöße mit den Wänden des Ofens oder der Kapillare) als Closed-shell-Moleküle erreichen. Entsprechende Ionenausbeutekurven wurden von uns jedoch nicht gefunden. Beispielshalber zeigt die IAK von  $\text{CN}^-$ , das durch DEA aus Glycin entsteht, neben einem Signal bei 2 eV einen zweiten, intensiveren Peak bei etwa 6 eV (s. Abb. 5.2 auf Seite 86). Das Spektrum von  $\text{CN}^-/\text{Trp}$  (Abb. 5.10) weist kein derartiges Signal bei 6 eV auf. Auch der Verlauf, daß das Gly-yl als Radikal den Reaktionsraum erreicht, ist nicht anzunehmen, da eine assoziative Elektronenanlagerung normalerweise zu einer schmalen und intensiven Resonanz nahe 0 eV führt [73, 74].

Elektronentransmissionsexperimente am Tryptophan zeigen drei Resonanzen bei 0.68 eV, 1.6 eV und 2.5 eV und ordnen diese  $\pi^*$ -Molekülorbitalen zu [137]. Die von uns gemessenen Resonanzen unterhalb der ersten elektronischen Anregung von Trp ( $\approx 4 \text{ eV}$ , Lit. [148]) finden sich bei 0.2 eV ( $\text{HCO}_2^-$ ), 1.1 eV ( $(\text{Gly-yl})^-$  und  $(\text{Trp} - \text{H})^-$ ), 2.0 eV ( $\text{CN}^-$ ) und 2.2 eV ( $(\text{Gly-yl})^-$ ). Eine Erklärung für Differenzen in der Energielage von ETS-Ergebnissen und DEA-Signalen wurde bereits auf Seite 96 in Kap. 5.2.2 gegeben.

Die breiteren Resonanzen in der 4–8 eV Region von  $\text{OH}^-$  und  $\text{O}^-$  müssen Core excited-Resonanzen zugeordnet werden. Im ESD-Experiment wurden diese Massen 16 und 17 amu nur bei etwa 7 eV beobachtet [130]. Interessanter-

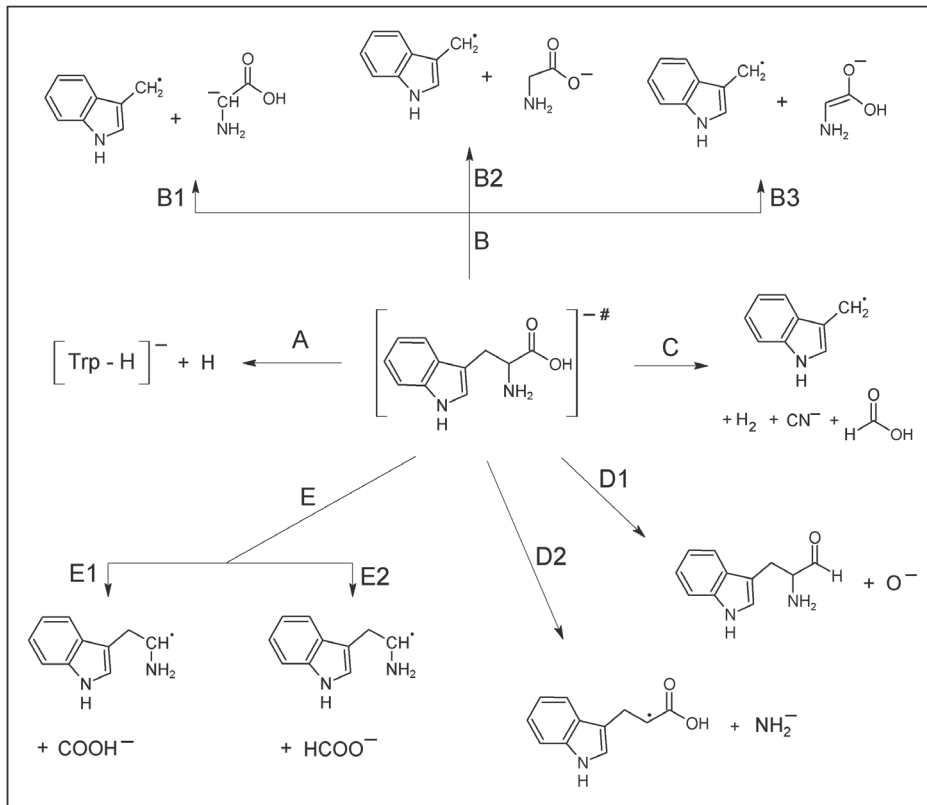


**Abbildung 5.10.** Ionenausbeutekurven des Tryptophans für  $(\text{Trp} - \text{H})^-$  und Fragmente mit den Massen 16 amu, 17 amu, 26 amu, 45 amu und 74 amu.

weise detektierten wir beide Fragmente auch nahe 0 eV. Da deren Entstehung bei dieser Energie nicht möglich ist (s.u.), bleibt ihr Ursprung unklar. Aufgrund der Signalähnlichkeit besitzen beide eventuell ein gemeinsames TNI als Ausgangspunkt.

In Abb. 5.11 sind mögliche Zerfallswege des Tryptophans nach dissoziativer Elektronenanlagerung aufgezeigt. Das um ein H-Atom ärmere Muttermolekülanion (Weg A) kann generell durch Wasserstoffabstraktion am C-, N- oder O-Atom entstehen. Basierend auf der experimentell ermittelten Auftrittsenergie von  $(\text{Trp} - \text{H})^-$  ( $\approx 0.8$  eV) sowie durchschnittlichen Bindungsenergien für C–H (4.3 eV), N–H (4.0 eV) und O–H (4.9 eV, Lit. [75]), kann die Elektronenaffinität des  $(\text{Trp} - \text{H})\cdot$ -Radikals auf einen Wert zwischen 3.2 und 4.0 eV abgeschätzt werden. Zum Vergleich: Der von Yu *et al.* berechnete Wert für das Glycinradikal, bei dem das freie Elektron auf der Carboxylgruppe lokalisiert ist, liegt bei 3.7 eV [113]. Es läßt sich also vermuten, daß das H an der COOH-Gruppe des Tryptophans abgespalten wird. Die Abstraktion an anderer Position kann indes nicht ausgeschlossen werden.

Die Bildung des  $(\text{Gly-yl})^-$ -Anions wird durch einen C–C-Bindungsbruch eingeleitet, bei dem außerdem das MI als Gegenstück entsteht (Reaktionsweg B). Mit einer durchschnittlichen C–C-Bindungsenergie ( $\approx 3.5$  eV, Lit. [75]) und dem experimentell ermittelten Auftrittspotential ( $\approx 1$  eV, Abb. 5.10) muß die Elektronenaffinität des Gly-yl-Radikals mindestens 2.5 eV betragen. *Ab initio*-Rechnungen sagen eine *EA* des Radikals von etwa 0.7 eV voraus, so daß Reaktion B1 thermodynamisch erst ab 2.8 eV möglich sein sollte [113]. Eine Alternative könnte der Platzwechsel eines Wasserstoffs von der Carboxylgruppe zum  $\alpha$ -Kohlenstoff sein, welcher den Gly-yl-MI-Bindungsbruch begleitet. Das Ergebnis wäre eine Plazierung der Überschlußladung auf der COO-Gruppe (Reaktion B2). Mit den thermodynamischen Daten  $D(\text{O}-\text{H}) = 4.89$  eV,  $D(\text{C}-\text{C}) = 3.5$  eV,  $D(\text{C}-\text{H}) = 3.43$  eV und  $EA(\text{Gly-yl}) = 3.7$  eV wäre dieser Weg mit 1.3 eV endotherm – nur wenig größer als die Auftrittsenergie [75, 113]. Eine Aktivierungsbarriere ist allerdings sehr wahrscheinlich und hierbei nicht berücksichtigt. Eine weitere Option skizziert Reaktion B3.



**Abbildung 5.11.** Mögliche Dissoziationskanäle des Tryptophans nach Elektronenanlagerung. Weg A ergibt das um ein Wasserstoffatom ärmere Muttermolekülanion, die Wege B zeigen verschiedene Optionen für das  $(\text{Gly-yl})^-$ . Das Cyanidanion könnte durch Weg C erzeugt werden, Vorschläge für Masse 16 zeigen die Reaktionen D. Das Fragment mit 45 amu könnte über die Wege E entstehen.

Es käme hierbei zur Ausbildung einer Doppelbindung zwischen dem Kohlenstoff der Carboxylgruppe und dem  $\alpha$ -C im Gly-yl-Fragment, die Ladung wäre am Sauerstoff lokalisiert. Das  $(\text{Gly-yl})^-$  aus Reaktion B1 könnte also so durch eine Art Enolisierung stabilisiert werden.

Die Entstehung des  $\text{CN}^-$  ist nur durch eine konzertierte Reaktion möglich. Der einfachste Weg wäre die Ausgliederung aus der Gly-yl-Hälfte (Weg C). Mit der Elektronenaffinität des Cyanoradikals (3.86 eV, Lit. [109]) und den entsprechenden Bindungsenergien (Lit. [75]) wird Reaktionsweg C mit 0.5 eV exotherm. Dazu korrespondiert die Beobachtung des anionischen Fragments in der Gasphase bei 2.0 eV und im ESD-Experiment bei 1.7 eV [130].

Das Aufkommen von  $\text{OH}^-$  sollte mit  $D(\text{C}-\text{O}) = 3.6 \text{ eV}$  (Lit. [75]) und  $EA(\text{OH}) = 1.83 \text{ eV}$  (Lit. [149]) nicht vor etwa 1.8 eV beobachtbar sein. Die Ursache für das Signal nahe 0 eV bleibt daher unbestimmt. Die Bildung des 16 amu-Fragments wird (außer der Resonanz nahe 0 eV) ab etwa 4 eV beobachtet. Die direkte Entstehung von  $\text{O}^-$  über einen Bruch der  $\text{C}=\text{O}$ -Doppelbindung würde 6 eV erfordern ( $EA(\text{O}) = 3.5 \text{ eV}$ ,  $D(\text{C}=\text{O}) = 7.5 \text{ eV}$ , Lit. [75, 109]). Die Ablösung von Sauerstoff aus der Hydroxylgruppe (Spaltung der  $\text{C}-\text{O}$ - und  $\text{O}-\text{H}$ -Bindung) würde sich hingegen auf 7 eV belaufen. Wird gleichzeitig eine  $\text{C}-\text{H}$ -Bindung ausgebildet (Reaktion D1 in Abb. 5.11), führt dies zu einer Auftrittsenergie von 2.1 eV. Wäre das 16 amu-Signal dem  $\text{NH}_2^-$  zuzuordnen, könnte Reaktion D2 bei 4 eV ablaufen ( $EA(\text{NH}_2) = 0.77 \text{ eV}$ ,  $D(\text{C}-\text{N}) = 3.0 \text{ eV}$ , Lit. [75, 109]).

Das Signal bei 45 amu kann entweder dem Hydrocarboxyl- ( $\text{COOH}^-$ ) oder dem Formyloxylanion ( $\text{HCOO}^-$ ) zugeordnet werden (Reaktionen E1 und E2). Erstes könnte aus einer einfachen  $\text{C}-\text{C}$ -Bindungsspaltung am  $\alpha$ -Kohlenstoff der Aminosäure entstehen (Weg E1). Aufgrund der berechneten Elektronenaffinität des Hydrocarboxylradikals ( $\approx 1.42 \text{ eV}$ , Lit. [150]) und einer durchschnittlichen  $\text{C}-\text{C}$ -Bindungsenergie von 3.5 eV (Lit. [75]) wäre Reaktion E1 um etwa 2 eV endotherm. Eine Ionenausbeute oberhalb 1.5 eV wird von uns bei 45 amu jedoch nicht beobachtet. Im Vergleich dazu könnte eine Reaktion stattfinden, wie sie der Weg E2 in Abb. 5.11 zeigt und der durch den

Platzwechsel des Hydroxylwasserstoffs zum Carboxylkohlenstoff charakterisiert ist. Die Triebkraft dahinter wäre die hohe *EA* des  $\text{HCOO}^\cdot$ -Radikals mit 3.5 eV [109]. Dies würde die Grenze, ab der das Ion auftreten könnte, auf etwa 0.5 eV erniedrigen. Die Differenz zu der tatsächlich von uns beobachteten Schwelle von nahe 0 eV ließe sich dann mit Unsicherheiten in den Rechnungen für die thermodynamischen Werte sowie einer Schwingungsanregung der Moleküle erklären.

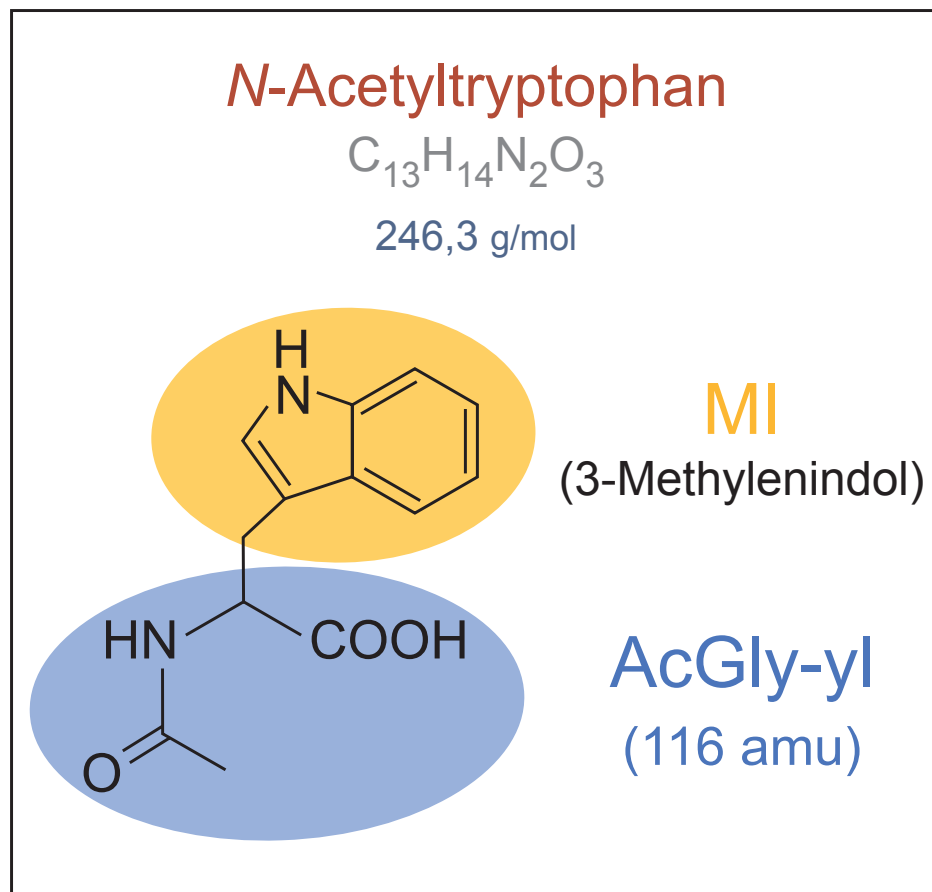
## 5.4 N-Acetyltryptophan

### 5.4.1 Allgemeines

Das *N*-Acetyltryptophan (NAT,  $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$ ) unterscheidet sich zum im vorigen Kapitel 5.3 behandelten Tryptophan durch eine Amidbindung. Die primäre Aminogruppe des Trp ist im NAT acetyliert und bildet so ein sekundäres Amid aus. Es handelt sich zwar nicht um ein echtes Dipeptid, doch ist mit der Amidbrücke dessen wesentliches funktionelles Merkmal enthalten. Abb. 5.12 stellt das Molekül dar. Es handelt sich bei der von uns untersuchten Substanz genauer um das *N* $\alpha$ -Acetyl-DL-tryptophan, also um ein racemisches Gemisch.

### 5.4.2 Ergebnisse

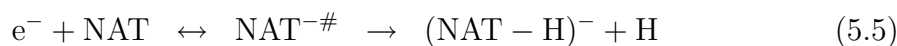
Während des Experimentes blieb die Sublimationstemperatur (etwa 120 °C) weit unter der Zersetzungstemperatur des NAT von 200 °C. Darüberhinaus zeigen Experimente mit *N*-Acetyltryptophanmethyramid, das auf 200 °C erhitzt wurde, ebenfalls keine Zersetzung des Ausgangsstoffes [151]. Analog zu den Kap. 5.2.2 bzw. 5.3.2 konnten wir auch bei NAT keine Anzeichen eines thermisch stimulierten Zerfalls finden. Beispielsweise können keine Signaturen eines aus  $\text{CO}_2$  stammenden  $\text{O}^-$ -Anions in der IAK des 16 amu-Fragments festgestellt werden [136, 152].



**Abbildung 5.12.** Struktur des *N*-Acetyltryptophans, Summenformel und Molgewicht. Das Molekül kann durch eine Verknüpfung eines acetylierten Glycinradikals (AcGly-yl) mit einer 3-Methylenindoleinheit (MI) beschrieben werden.



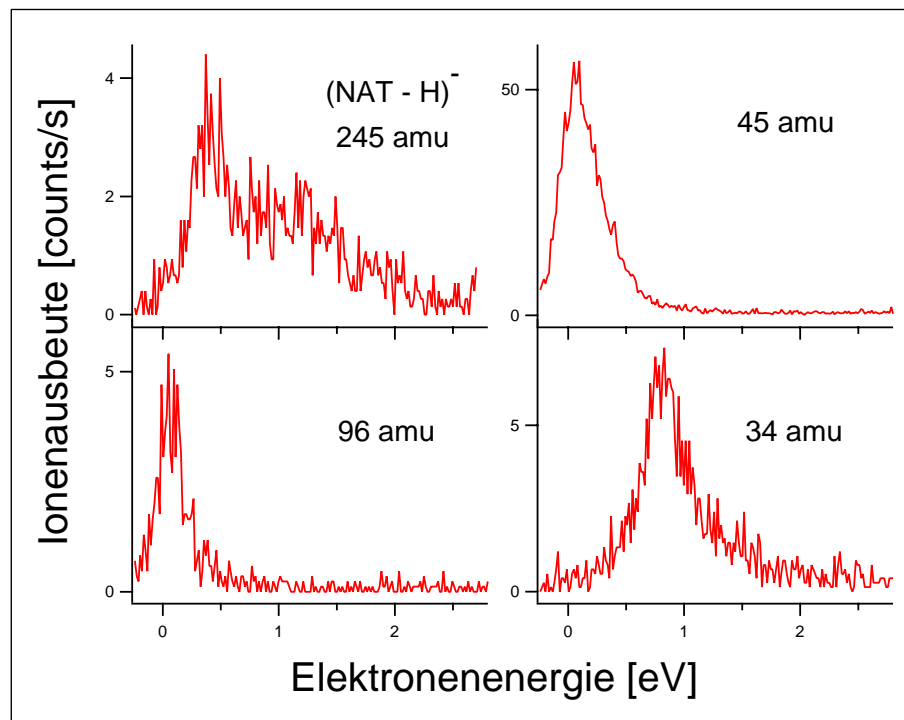
Für NAT ermittelten wir die folgenden DEA-Kanäle [31]:



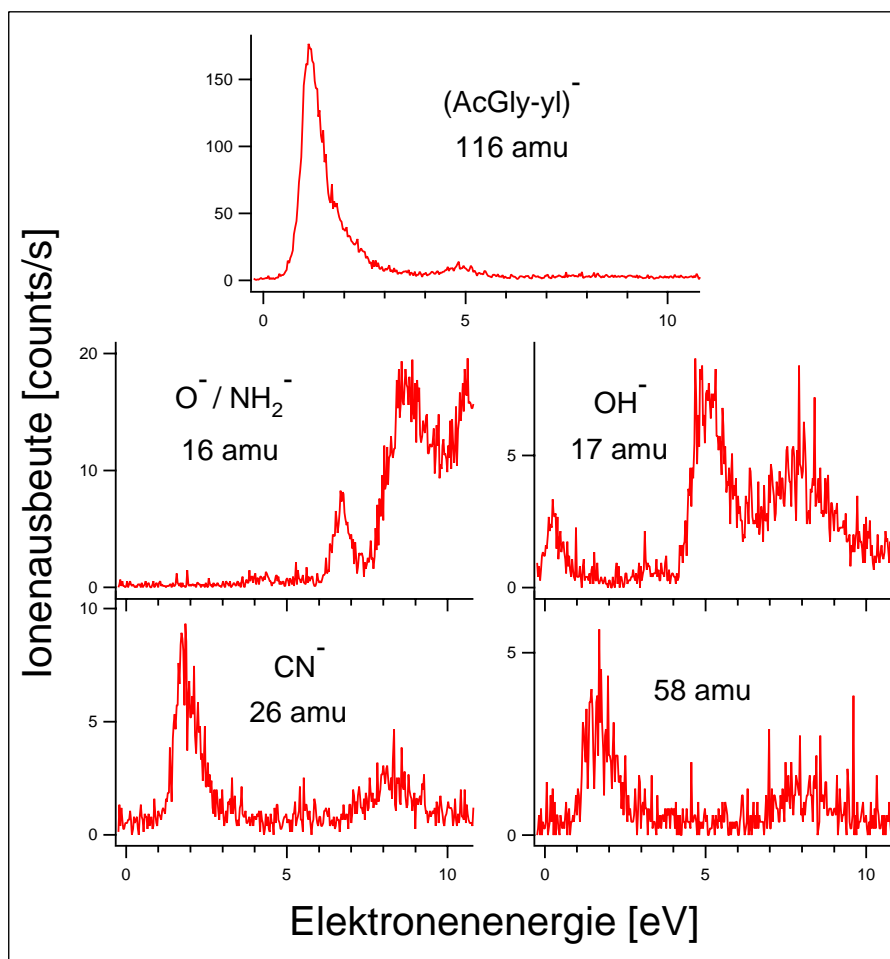
Die Anionen  $(\text{NAT} - \text{H})^-$  und  $\text{AcGly-yl}^-$  besitzen die Massen 245 und 116 amu. Die Fragmentationen der Reaktionen (5.7), (5.8) und (5.9) können den Summenformeln  $\text{C}_5\text{H}_6\text{NO}^-$ ,  $\text{C}_2\text{H}_4\text{NO}^-$  und  $\text{HCOO}^-$  zugeordnet werden. Aufgrund der Molekülgröße ist jedoch insbesondere bei Gleichung (5.7) und (5.8) eine derartige Zuordnung ungewiss. Sämtliche Ionenausbeutekurven sind in den Abbildungen 5.13 und 5.14 wiedergegeben.

Als intensivster Dissoziationskanal erweist sich Reaktion (5.6), einer Spaltung zwischen MI und  $\text{AcGly-yl}$  entsprechend. Die Überschußladung wird dann vom  $\text{AcGly-yl}$  ( $\text{C}_4\text{H}_6\text{NO}_3^-$ ) getragen (IAK oben in Abb. 5.14). Diese Beobachtung ist vergleichbar mit der im Tryptophan (Kap. 5.3). Dort wird gleichfalls kein MI-Anion beobachtet, sondern das negativ geladene Gly-yl-Fragment [30]. Die Elektronenaffinität des durch den C–C-Bindungsbruch entstandenen  $\text{AcGly-yl}$ -Radikals muß groß genug sein, um Reaktion (5.6) zu ermöglichen. In Analogie zum Trp nehmen wir auch hier eine *EA* von etwa 2.5 eV an.

Die Signale bei 0.1 eV ( $\text{HCO}_2^-$ ,  $\text{C}_5\text{H}_6\text{NO}^-$ ), 0.4 eV ( $(\text{NAT} - \text{H})^-$ ), 0.8 eV ( $\text{H}_2\text{O}_2^-$ ), 1.1 eV ( $(\text{NAT} - \text{H})^-$ ), 1.2 eV ( $\text{C}_4\text{H}_6\text{NO}_3^-$ ), 1.6 eV ( $\text{C}_5\text{H}_6\text{NO}^-$ ,  $\text{C}_2\text{H}_4\text{NO}^-$ ), 1.8 eV ( $\text{CN}^-$ ) und 3.3 eV ( $\text{OH}^-$ ) sind Ergebnisse von Shape-Resonanzen. Der bei 0 eV beobachtete Peak des  $\text{OH}^-$ -Signals ist, ähnlich dem



**Abbildung 5.13.** Ionenausbeutekurven des N-Acetyltryptophans bis 3 eV für  $(\text{NAT} - \text{H})^-$  und Fragmente mit den Massen 96 amu, 45 amu und 34 amu.



**Abbildung 5.14.** Ionenausbeutekurven des N-Acetyltryptophans bis 10 eV für (AcGly-yl)<sup>-</sup> (116 amu) und Fragmente mit den Massen 16 amu, 17 amu, 26 amu und 58 amu.

im Tryptophan, thermodynamisch nicht über einen einfachen Bindungsbruch zu erklären. Die Ursache seiner Entstehung ist uns unbekannt. Die Strukturen bei 4.9 eV ( $\text{C}_4\text{H}_6\text{NO}_3^-$ ), 5.2 eV ( $\text{OH}^-$ ), 6.8 eV ( $\text{O}^-/\text{NH}_2^-$ ), 8.1 eV ( $\text{OH}^-$ ), 8.3 eV ( $\text{CN}^-$ ,  $\text{C}_2\text{H}_4\text{NO}^-$ ), 8.9 eV ( $\text{O}^-/\text{NH}_2^-$ ) und 11 eV ( $\text{O}^-/\text{NH}_2^-$ ) haben Core excited-Resonanzen als Ursprung.

Eine weitere Ähnlichkeit zum Tryptophan besteht im Auftreten des anionischen Fragmentes der Masse 45 amu. Die entsprechende IAK (Abb. 5.13) hat wie beim Trp ihr Maximum nahe 0 eV. An dieser Stelle folgt die Argumentation der in Kap. 5.3.2 auf Seite 104, d. h., es wird die Bildung eines Formyloxylanions angenommen. Der Wirkungsquerschnitt des Dissoziationskanals (5.9) liegt in der Größenordnung von  $\approx 10^{-16} \text{ cm}^2$ . Das Fragment mit 34 amu ist nicht eindeutig zuzuordnen. Die Massen 26, 17 und 16 amu sind vermutlich den Anionen  $\text{CN}^-$ ,  $\text{OH}^-$  und  $\text{O}^-$  bzw.  $\text{NH}_2^-$  gleichzusetzen.