

Kapitel 4

Reaktionen von DNA-Bausteinen

Im folgenden werden einleitend die Ergebnisse für Elektronenanlagerungsreaktionen der vier Nucleobasen Adenin, Cytosin, Guanin und Thymin vorgestellt. Als vorherrschender dissoziativer Kanal erweist sich für fast alle Basen nach der Elektronenanlagerung die Abstraktion eines Wasserstoffatoms.

Zur genaueren Lokalisierung des Wasserstoff-Bindungsbruches wurde außerdem Thymin in seiner an allen Kohlenstoffen deuterierten Form gemessen. Im Massenspektrometer kann so zwischen einer Dissoziation am Kohlenstoff oder Stickstoff unterschieden werden. Überdies werden Resultate des Nucleosids Thymidin gezeigt, in dem Thymin an den Zucker Desoxyribose gebunden ist.

Ferner wurde der Einfluß des zur Energiekalibrierung benutzten Gases Schwefelhexafluorid auf die DEA-Reaktionen von Adenin und Thymin untersucht. Ionen-Molekülreaktionen ermöglichen hier eine H-Abstraktion, die bei der entsprechenden Energie ohne das SF₆ nicht beobachtbar ist.

Als Vertreter eines halogenierten Nucleosids wurden Zerfallskanäle des 5-Bromuridins bestimmt. Hier zeigt sich eine deutlich höhere Sensitivität gegenüber dissoziativer Elektronenanlagerung als bei nichthalogenierten Biomolekülen.

4.1 Wasserstoffabstraktion der Nucleobasen

Die Purinbasen Adenin (A) und Guanin (G) sowie die Pyrimidinbasen Cytosin (C), Thymin (T) und Uracil (U) sind in Abbildung 4.1 dargestellt. A, G, C und T dienen in der DNA zur Verschlüsselung der Erbinformation, U tritt an Stelle von T in der RNA. Uracil ist hier nur der Vollständigkeit halber aufgeführt. Es wurde nicht in unseren Messungen untersucht.

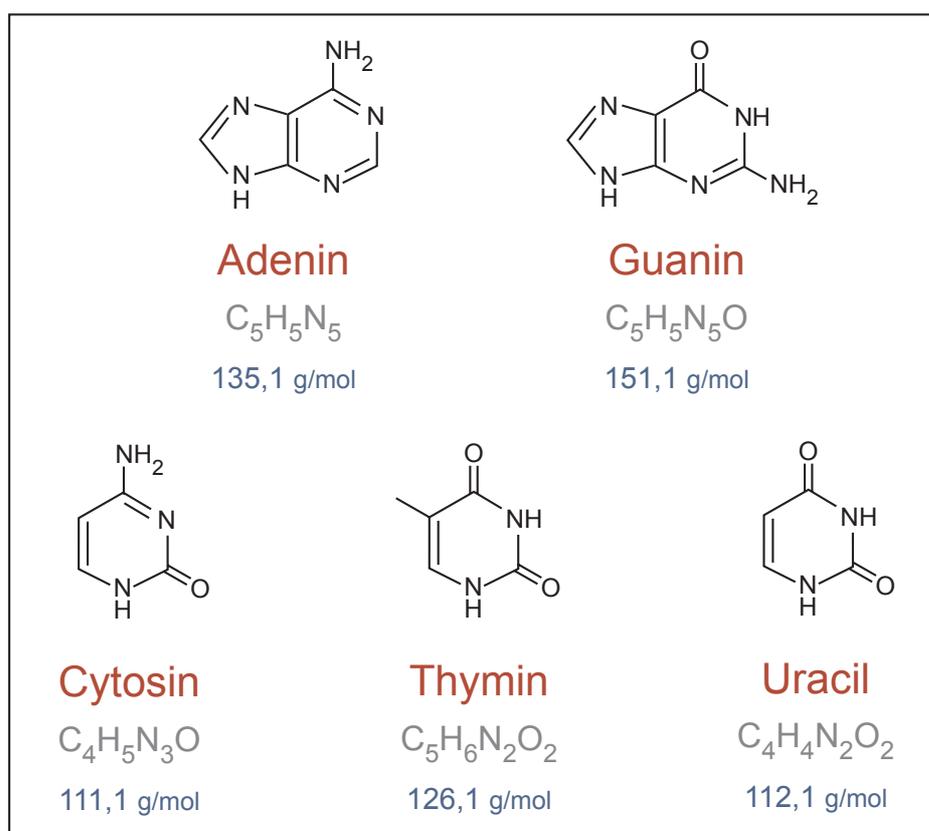
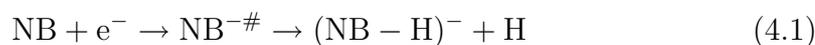


Abbildung 4.1. Struktur- und Summenformeln sowie Molekulargewichte der Nucleobasen.

Die Nucleobasen A, C, G und T wurden bei etwa 185°C sublimiert. Diese Temperatur liegt deutlich unter den entsprechenden Zersetzungstemperaturen (für alle über 300°C) dieser Basen, es kann demnach von einem Übergang intakter Strukturen in die Gasphase ausgegangen werden [49].

Die aus der Reaktion



(mit NB als der entsprechenden Nucleobase A, C, G oder T) analog den Gleichungen (2.9) und (2.12) des Theoriekapitels entstehenden Anionenfragmente sind in Abbildung 4.2 aufgeführt. Sie zeigt die Abhängigkeit der Bildung der dehydrogenierten Anionenfragmente von der Energie der eingestrahnten Elektronen (0 bis 3 eV). Darüber hinaus entstehen weitere negative Fragmente, die am Beispiel des Thymins im nächsten Abschnitt gezeigt werden (Kapitel 4.2). Der dissoziative Kanal der Wasserstoffabstraktion (Reaktion (4.1)) ist für A, C und T zugleich der intensivste, für Guanin ist dies hingegen die Bildung des Cyanatanions OCN^- [18].

Für alle gemessenen Nucleobasen liegt die experimentelle Auftrittenergie der $(\text{NB} - \text{H})^-$ -Ionen in einem Bereich von etwa 0.5 bis 0.7 eV (s. Abb. 4.2). Elektronentransmissionsmessungen von Aflatooni *et al.* an Nucleobasen in der Gasphase zeigen energetisch ähnlich gelagerte Resonanzen, die auf Anlagerung der Elektronen in leere π^* -Orbitale zurückgeführt werden [15].

Die von uns ermittelten Wirkungsquerschnitte (s. Kap. 3.4.2) für die Reaktionen von A, C, T nach Gleichung (4.1) belaufen sich auf $\approx 10^{-15} \text{ cm}^2$ (gemessen an den dominanten Resonanzmaxima bei $\approx 1 \text{ eV}$), für G ist σ rund eine Größenordnung niedriger.

Die beobachtete Wasserstoffabspaltung kann bei allen Basen *a priori* am Kohlenstoff oder Stickstoff stattfinden. Beispielsweise ist Thymin in der DNA über N1 mit dem Desoxyribose-Phosphat-Rückgrat verbunden. Der andere Stickstoff (N3) ist über sein H an einer von zwei Wasserstoffbrückenbindungen des Thymins zum Adenin beteiligt. Um eine konkretere Aussage bezüglich der Dissoziationsstelle geben zu können, wurde zusätzlich partiell deuteriertes Thymin untersucht. Im Massenspektrometer kann so durch eine Massendifferenz von 1 amu unterschieden werden, ob die Nucleobase ein Deuterium- oder ein Wasserstoffatom verloren hat. Dies und ein genauerer Vergleich mit Thymin werden im nächsten Abschnitt behandelt.

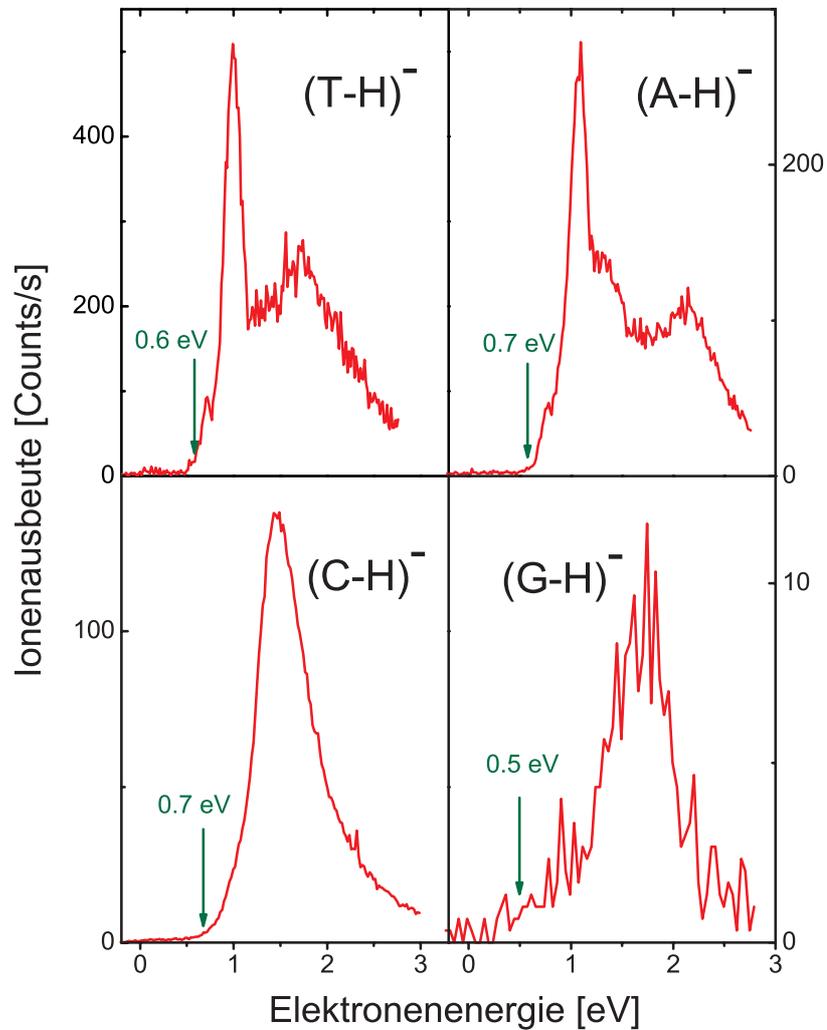


Abbildung 4.2. Relative Ionenausbeute der $(\text{NB} - \text{H})^-$ -Bildung aus Adenin (A), Cytosin (C), Guanin (G) und Thymin (T). Mit Ausnahme von G ist die Wasserstoffabstraktion der dominante Zerfallskanal. Die durch einen grünen Pfeil markierten Energien zeigen die experimentell ermittelten Auftretensenergien.

4.2 Thymin und deuteriertes Thymin

4.2.1 Die Fragmente

Abbildung 4.3 zeigt Thymin und das von uns untersuchte partiell deuterierte Thymin (T_D). Bei letztem sind an allen Kohlenstoffen die Wasserstoffatome durch Deuteriumatome ersetzt, das Molekül besitzt so eine um 4 amu höhere Masse als die undeuterierte Form.

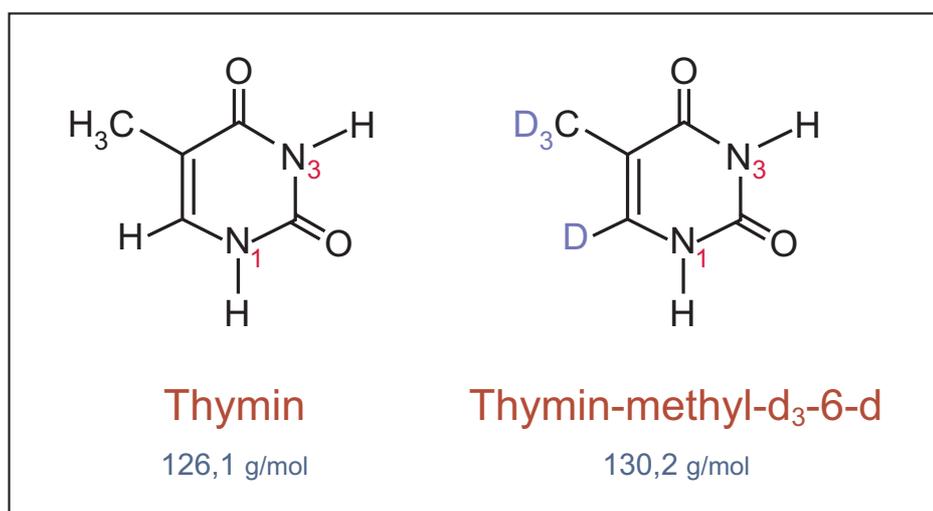


Abbildung 4.3. Vergleich von Struktur und Molekulargewicht der gemessenen Isotopomere Thymin (T) und dem partiell deuterierten Thymin (T_D).

Mit der hier vorgestellten Untersuchung am Thymin sollten ältere Messungen an Cytosin und Thymin von Huels *et al.* ergänzt und verbessert werden [50]. In genannter Arbeit wird die Existenz eines T^- -Anions erwähnt, das seine Hauptresonanz bei etwa 0.2 eV zeigt. Die Gestalt der Ionenausbeutekurve und der angegebene Wirkungsquerschnitt legen allerdings die Vermutung nahe, daß in der zitierten Arbeit aufgrund einer geringen Verschiebung der Massenskala das SF_5^- -Anion, das eine Masse von 127 amu besitzt, statt des Muttermolekülanions des Thymins (126 amu) gemessen wurde. Im übrigen

besitzen die Nucleobasen nur sehr gering positive oder gar negative adiabatische Elektronenaffinitäten, abhängig von der Kalkulationsmethode bzw. dem Basissatz. Für Thymin ergibt sich beispielsweise mit dem B3LYP/TZ2P++-DFT Basissatz ein um die Nullpunktsschwingungsenergie korrigierter, leicht positiver *AEA*-Wert von etwa 0.15 eV (unkorrigiert 0.02 eV) [51, 52]. Für das um ein Wasserstoffatom ärmere Thyminradikal hingegen ist die *AEA* deutlich größer und liegt zum Beispiel beim Verlust des H-Atoms am N3 bei etwa 3.7 eV (B3LYP, korrigiert um die Nullpunktenergie) [53]. Die Beobachtung stabiler, d. h. durch das Massenspektrometer nachweisbarer Muttermolekülanionen ist zudem in der Gasphase aufgrund eingeschränkter Dissipationsmöglichkeiten sehr selten.

Bei den von uns zwischen 2002 und 2003 durchgeführten Messungen an Thymin konnten wir folgende, der freien Elektronenanlagerung sich anschließende Dissoziationskanäle ermitteln:

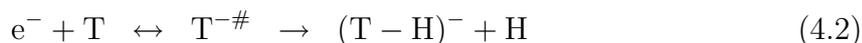


Tabelle 4.1 gibt eine Übersicht der anionischen Fragmente und zeigt die Positionen der Resonanzen.

Die Dissoziationskanäle O^- , CN^- und OCN^- der Arbeit von Huels *et al.* konnten von uns zwar bestätigt werden, die damals gefundenen Fragmente CH_2^- , $OCNH^-$ und $OCNH_2^-$ hingegen sind nicht nachweisbar gewesen. Insbesondere die beiden letztgenannten entspringen vermutlich einer nicht ausreichenden Massenselektion. Je geringer diese gewählt ist, desto stärker ist das detektierte Signal, allerdings auf Kosten der Massenauflösung des Spektrometers. Bei einer niedrigen Auflösung erhält man daher ein besse-

Tabelle 4.1. Die beobachteten Fragmentionen der DEA von Thymin mit vorgeschlagenen Summenformeln und Atomgewichten (in amu) und ihre Resonanzmaxima (in eV).

$(T - H)^-$	$C_2H_3N_2O^-$	$C_3H_2NO^-$	$C_3H_4N^-$	OCN^-	CN^-	O^-
125	71	68	54	42	26	16
0.8	8.8	6.3	6.8	2.1	1.7	6.0
1.0		8.2		4.2	6.3	9.3
1.2				6.5	8.0	11.5
1.7				8.0		
2.1				9.3		

res Signal, was vornehmlich bei Zerfallskanälen mit geringem Wirkungsquerschnitt von großer Bedeutung ist. Am Beispiel von OCN^- (42 amu) kann dies unter Umständen dazu führen, daß auch bei einer Masseneinstellung von 43 oder gar 44 amu noch Ionen mit einer Masse von 42 amu (eben OCN^-) das Quadrupolstabsystem passieren können, dies aber mit deutlich geringer Intensität. Dies erklärt in den Messungen von Huels *et al.* auch die bei allen drei Massen gleiche Lage des höchsten Signals sowie die in der Reihe $OCN^- > OCNH^- > OCNH_2^-$ stark nachlassende Intensität.

Die von uns durchgeführten Untersuchungen wurden nahezu durchgehend bei einer hohen Massenauflösung des Spektrometers durchgeführt, um die erwähnten Probleme zu eliminieren. Die Folge waren sehr zeitaufwendige Messungen, da für einen Meßkanal (eine „Energieposition“) ein Vielfaches an Meßzeit erforderlich war, um den Signalverlust, der oft 2 Größenordnungen betrug, einigermaßen zu kompensieren.

Unsere Ergebnisse werden durch Experimente bestätigt, die von Deniff *et al.* durchgeführt wurden [54, 55]. Sowohl die Form als auch die Lage der Resonanzen und der aus den Meßdaten ermittelte Wirkungsquerschnitt stimmen überein. Über die von uns gefundenen und in Tabelle 4.1 aufgelisteten Fragmente hinaus stellte die Innsbrucker Gruppe zwei weitere anionische

Fragmente bei 124 und 97 amu vor. Erstes soll durch die Abstraktion zweier Wasserstoffatome vom Thymin entstehen ($\rightarrow (\text{T} - 2\text{H})^-$) und besitzt neben zweier kleinerer Resonanzen bei 7.4 und 9.5 eV eine stark ausgeprägte bei 0 eV. Eine 0 eV Resonanz wurde allerdings von der gleichen Arbeitsgruppe auch beim $(\text{U} - 2\text{H})^-$ -Fragment des Uracils entdeckt, dort jedoch auf ein Artefakt zurückgeführt [56]. Das Fragment mit 97 amu ($\text{C}_4\text{H}_5\text{N}_2\text{O}_2^-$) zeigt zwei Resonanzen bei 6 und 8 eV und besitzt eine dem O^- unserer Messungen vergleichbare Intensität. Die von uns gemessenen Ionenausbeutekurven für die Fragmente $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}_2\text{O}^-$, $\text{C}_3\text{H}_2\text{NO}^-$, $\text{C}_3\text{H}_4\text{N}^-$, OCN^- , CN^- und O^- sind in Abbildung 4.4 dargestellt. Von einer weitergehenden Diskussion dieser Fragmente wird hier abgesehen, da dies bereits in Lit. [55] nachzulesen ist.

Als wesentlicher Unterschied zur Arbeit von Huels *et al.* ist zu erwähnen, daß wir *kein* Muttermolekülanion T^- detektieren konnten. Stattdessen stellte sich die Bildung von $(\text{T} - \text{H})^-$ (Reaktion (4.2)), also das um ein Wasserstoffatom ärmere Muttermolekülanion, mit einem Maximum bei 1 eV und einem Wirkungsquerschnitt von $\approx 10^{-15} \text{ cm}^2$ als dominanter Zerfallskanal heraus (siehe Abb. 4.2). Dieser Befund wird durch Ergebnisse von Denifl *et al.* [54, 55] und Abouaf *et al.* [57] bekräftigt, die ebenfalls $(\text{T} - \text{H})^-$ und kein T^- detektierten.

4.2.2 $(\text{T} - \text{H})^-$, $(\text{T}_\text{D} - \text{H})^-$ und $(\text{T}_\text{D} - \text{D})^-$

Wie aus Abbildung 4.3 ersichtlich, kann eine Dehydrogenierung des Thymins entweder an den zwei Kohlenstoff- (Ring und Methylgruppe) oder den beiden Stickstoffpositionen (N1 und N3) ablaufen. Um diese Situation zu klären, führten wir Experimente mit am Kohlenstoff deuteriertem Thymin (T_D , s. Abb. 4.3) durch, welches aufgrund der Kohlenstoffdeuterierung eine um 4 amu höhere Masse als das undeuterierte Thymin besitzt [18].

Abbildung 4.5 zeigt die Ausbeutekurve des anionischen Fragmentes $(\text{T}_\text{D} - \text{H})^-$ (129 amu). Sowohl die Energieabhängigkeit als auch die Form der Ionenausbeutekurve und ebenso die absolute Intensität von $(\text{T}_\text{D} - \text{H})^-$

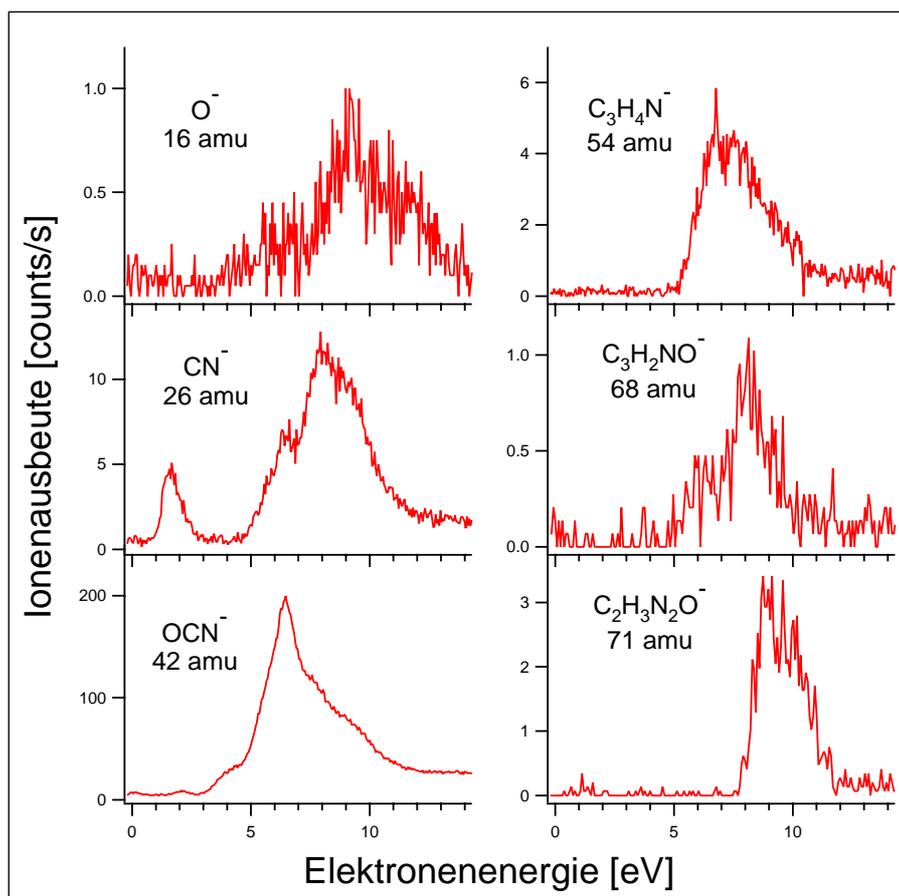


Abbildung 4.4. Die Ionenausbeutekurven der Fragmentmassen 16 amu (O^-), 26 amu (CN^-), 42 amu (OCN^-), 54 amu ($C_3H_4N^-$), 68 amu ($C_3H_2NO^-$) und 71 amu ($C_2H_3N_2O^-$) aus Thymin.

sind nahezu identisch mit dem Spektrum von $(T-H)^-$ (125 amu), das aus undeutertem Thymin stammt (Vergleich in Abb. 4.5). Darüberhinaus verschwand das Signal am Spektrometer *vollständig* mit dem Wechsel zur Masse 128 amu (entspricht $(T_D - D)^-$). Diese Beobachtung ist der direkte Beweis, daß die dissoziative Elektronenanlagerungsreaktion von Thymin *ausschließlich* das N-dehydrogenierte Anion erzeugt [18]. Die Struktur der IAK legt zwar die Existenz verschiedener elektronischer Zustände des Vorläuferions nahe, diese müssen jedoch alle zur Wasserstoffabspaltung ausschließlich am Stickstoff führen.

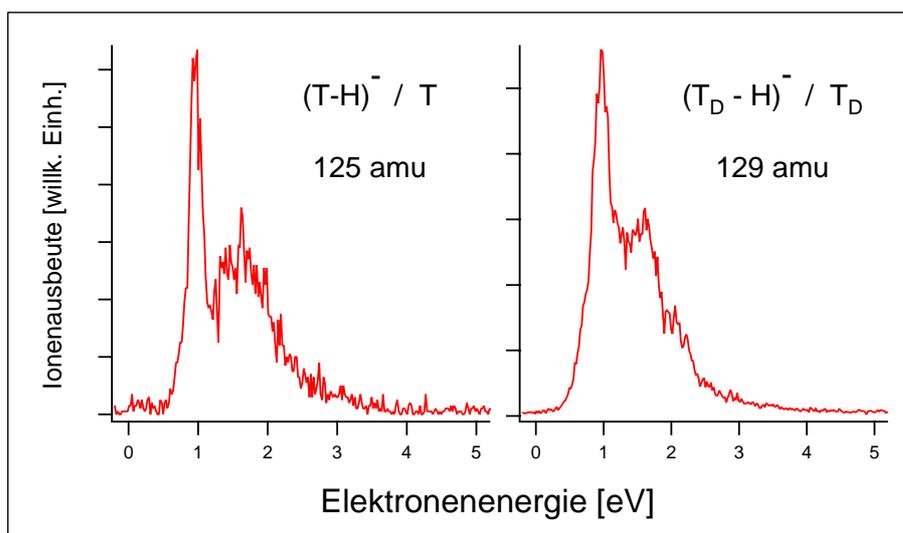


Abbildung 4.5. Die Ionenausbeutekurven der um ein Wasserstoff ärmeren Muttermolekülanionen von Thymin $((T-H)^-)$ und dem partiell an allen Kohlenstoffpositionen deuterierten Thymin $((T_D - H)^-)$. Wirkungsquerschnitt, Peaklagen und -form sind nahezu gleich. Die gröbere Struktur der abgebildeten $(T-H)^-$ Messung ist durch eine etwas schlechtere Intensität der Elektronen bedingt, die zu einer geringeren Signalintensität führt und durch eine längere Meßzeit kompensiert werden muß.

Von der experimentell ermittelten Auftrittenergie in der Ionenausbeutekurve des dehydrogenierten Thyminanions (s. Abb. 4.2) kann auf die Elektronenaffinität des entsprechenden Radikals geschlossen werden. Analog Gleichung (2.29) in Kapitel 2.6 kann demgemäß die Auftrittenergie von $(T - H)^-$ als

$$AE((T - H)^-) \approx D(T - H)_N - EA(T - H)_N \quad (4.9)$$

ausgedrückt werden, mit $D(T - H)_N$ als Dissoziationsenergie von N1–H oder N3–H und $EA(T - H)_N$ als der Elektronenaffinität des entsprechenden N1- oder N3-Radikals. Die Quantitäten beider Seiten der Gleichung (4.9) sind wegen thermischer Anregung des Moleküls und Überschußenergie der Reaktion nicht identisch. Beide Eigenschaften sind jedoch in Bezug auf AE entgegengesetzt und können in grober Näherung als sich gegenseitig negierend angesehen werden [18]. Für die derart ermittelte $EA(T - H)$ gelten daneben Unwägbarkeiten in der Bestimmung des Auftrittspotentials, der apparativen Energieauflösung und der Genauigkeit in der Berechnung von Dissoziationsenergien (insgesamt etwa 0.3 eV).

Da am Ende unserer Messungen (2003) noch keine theoretischen Werte für Bindungsenergie und Elektronenaffinität zugänglich waren, nutzten wir *ab initio*-Kalkulationen auf P2MP2-Niveau, die für Uracil von Hanel *et al.* durchgeführt wurden [58]. Wie aus Abbildung 4.1 ersichtlich, unterscheidet sich Thymin von Uracil lediglich durch eine Methylgruppe statt eines Wasserstoffatoms in 5-Position des Ringes. Mit diesen Werten für $D(U - H)_{N1} = 4.4$ eV, $D(U - H)_{N3} = 5.4$ eV, $EA(U - H)_{N1} = 3.6$ eV und $EA(U - H)_{N3} = 4.0$ eV ergibt sich im Falle des Uracils eine energetische Bevorzugung für die H-Abstraktion am N1. Mit der Annahme $D(U - H)_{N1} \approx D(T - H)_{N1}$ und der ermittelten $AE(T - H^-) \approx 0.6$ eV (vgl. Abb. 4.2) wurde $EA(T - H)_{N1}$ auf 3.8 ± 0.3 eV abgeschätzt.

Einige Zeit später veröffentlichte Rechnungen für Thymin mit der MP2/6-311+G(3df,2p)- bzw. G2MP2-Methode bestätigen die Präferenz für einen Bindungsbruch an der N1-Position. Die B3LYP/6-311++G**-Methode hingegen ergibt eine Bevorzugung der N3–H-Bindung [55]. Auch die von uns

veranschlagte Elektronenaffinität eines $(T - H)_{N1}$ -Radikals wird durch den mit der Møller-Plesset-Störungstheorie berechneten Wert von 3.9 ± 0.1 eV bekräftigt. Die G2MP2-Methode liefert außerdem Auftretensenergien für die Anionen, die durch H-Abstraktion an den Kohlenstoffen entstehen. So liegt die AE für das durch CH_2-H -Bindungsbruch an der Methylgruppe entstehende Anion theoretisch bei 1.6 eV, für H-Abspaltung am Ringkohlenstoff (C6) bei 2.2 eV. Interessanterweise können diese Kanäle nicht beobachtet werden, obwohl sie energetisch (nämlich bei 1.6 bzw. 2.2 eV) zugänglich sein sollten.

Die Struktur der $(T - H)^-$ -Ionenausbeutekurve und des sehr ähnlichen $(U - H)^-$ -Spektrums in der Gasphase ist immer noch Gegenstand ausgiebiger Diskussionen.

Abouaf *et al.* sehen in den scharfen Peaks im niederenergetischen Bereich Vibrationsstrukturen, die aus der Prädissoziation eher langlebiger anionischer, möglicherweise dipolgebundener Zustände (*dipole bound states*, DBS) durch resonante π^* -Valenzzustände entstehen [57].

Scheer *et al.* berechneten um die Kontinuumsinteraktion korrigierte virtuelle Orbitalenergien für Uracil mit einem 6-31G*-Basissatz [59]. Das Ergebnis sollte den vertikalen Anlagerungsenergien in anionische π^* -Zustände entsprechen und sich sowohl im ETS als auch im DEA-Spektrum widerspiegeln. Manche Peaks können jedoch nicht mit den virtuellen Orbitalenergien assoziiert werden. Insbesondere das markanteste, schmale $(U - H)^-$ -Signal bei etwa 1 eV (ähnlich dem im Thymin) kann so keinem π^* -Zustand entstammen. Die Existenz derartiger Resonanzen ist laut Scheer *et al.* auf angeregte Vibrationsniveaus eines anionischen dipolgebundenen Zustands zurückzuführen.

Das gewöhnliche Bild eines DBS zeigt die Wellenfunktion deutlich *außerhalb* des Molekülgerüsts. Die radiale Wellenfunktion für ein reines dipolares Potentialfeld mit 4.7 D und etwa 90 meV Bindungsenergie (für das Uracil) besitzt hingegen ein Maximum *innerhalb* der Wasserstoffatome des Uracils (nur 2 Å vom Molekülzentrum entfernt). Dieser DBS muß entsprechend einen beträchtlichen Valenzcharakter besitzen, da ein reines dipolares Potential dort

nicht existieren kann. Aus Symmetriegründen kann der anionische DBS mit niedrig gelegenen σ^* -Orbitalen mischen. Im Falle des Uracils liefert die Rechnung einen Zustand bei 2.4 eV oberhalb der Grundzustandsgeometrie des Neutralteilchens. Dieser ist stark antibindend entlang der N1–H-Koordinate. Aus Abbildung 4.6 wird ersichtlich, daß z. B. ein schwingungsangeregter DBS ($\nu = 3$, entspricht etwa 1 eV) die Potentialbarriere, die durch Kopplung über eine vermiedene Kreuzung mit dem $\sigma^*(\text{N1–H})$ -Valenzzustand gebildet wird, leicht durchtunneln kann. Der stark repulsive Charakter des $\sigma^*(\text{N1–H})$ -Orbitals führt dann zum Bindungsbruch und der Entstehung von $(\text{U} - \text{H})^-$ und Wasserstoff [59]. Da gemäß ETS und Theorie der gleichen Arbeitsgruppe auch für Thymin kein π^* -Zustand bei der von uns beobachteten intensivsten Resonanz von etwa 1 eV existiert [15], könnte das hier für Uracil dargelegte Modell auch für Thymin entwickelt werden.

Die breitere Struktur um 1.7 eV kann daneben einer π_2^* -Resonanz zugeordnet werden, die über vibronische Kopplung mit repulsiven σ^* -Zuständen zur Dissoziation führt [15]. Die beobachteten DEA-Peaks liegen entsprechend sehr nahe an den Energien der π_2^* -Resonanzen. Derartige Kopplungen wurden z. B. in Chlorbenzol beobachtet [60].

Prinzipiell liegt die Schwierigkeit in der Berechnung derartiger Zerfallskanäle bzw. Übergangszustände darin, daß es sich um diskrete Zustände im Kontinuum handelt. *Ab initio*-Kalkulationen können naturgemäß diese Problem nur unzulänglich beschreiben. Eine Annäherung bieten Streurechnungen, die jedoch bislang nur für wenige Fälle formuliert wurden (z. B. für Uracil, Lit. [61]).

Erst kürzlich veröffentlichte DEA-Messungen von Ptasińska *et al.* mit Thymin, das an der N1-Position methyliert ist (m1T), sind in Abb. 4.7 gezeigt [62]. Zum Vergleich ist dort ebenfalls die Ausbeutekurve des unmethylierten Thymins zu sehen. Wie bereits erwähnt, muß die H-Abstraktion exklusiv an den N-Positionen stattfinden [18]. Da ein $(\text{m1T} - \text{H})^-$ -Anion *nur oberhalb* einer Elektronenenergie von 1.4 eV (mit einem Maximum bei 1.8 eV) gebildet wird, muß dieses breitere Signal stringent der H-Abspaltung

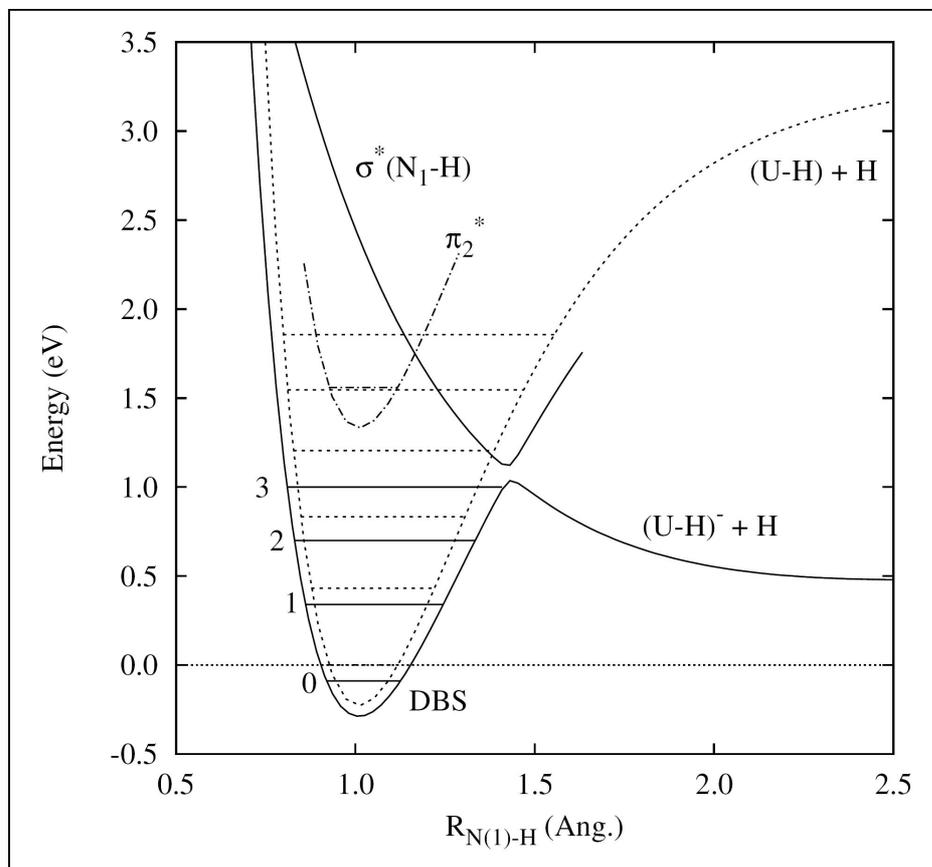


Abbildung 4.6. Schematische Potentialkurven für Uracil entlang der N1-H-Koordinate. Der Verlauf für das Neutrale Molekül Uracil mit seinen Schwingungsniveaus ist mit gestrichelten Linien dargestellt. Der dipolgebundene Zustand und der Verlauf des anionischen $\sigma^*(N_1-H)$ -Zustands wird durch durchgezogene Linien wiedergegeben. Ein abwechselnd gepunktet-gestrichelter Verlauf repräsentiert den anionischen π_2^* -Zustand. Aufgrund der sehr hohen strukturellen Ähnlichkeit von Uracil und Thymin kann angenommen werden, dass das gezeigte Potentialverhältnis auch für Thymin Gültigkeit besitzt (Abbildung entnommen aus Lit. [59]).

an der N3-Position des Thymins zugeordnet werden. Zur Komplettierung wurde von der gleichen Arbeitsgruppe eine hier nicht abgebildete Messung an Uracil durchgeführt, das an der N3-Position methyliert ist und am N1 unverändert ein Wasserstoff bindet. Dieses Experiment zeigt eine H-Abspaltung hauptsächlich unterhalb von 1.4 eV, das Signal mit einem Maximum bei 1.8 eV ist hingegen etwas unterdrückt.

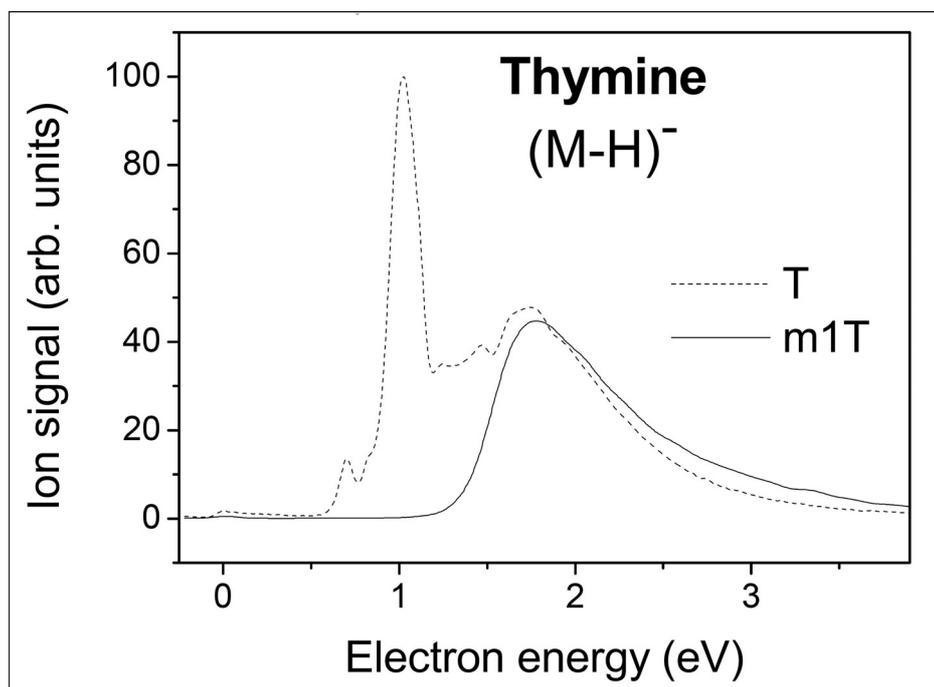


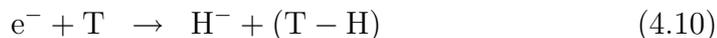
Abbildung 4.7. Ionenausbeutekurven von $(T - H)^-$ (gestrichelte Linie) sowie an der N1-Position methyliertem Thymin $(m1T - H)^-$ (durchgezogene Linie). Bei Elektronenenergien kleiner 1.4 eV verschwindet das Signal für $(m1T - H)^-$ vollständig, folglich findet die H-Abstraktion am Thymin unter 1.4 eV ausschließlich am N1 statt (Abbildung entnommen aus Lit. [62]).

Bezüglich einer $(T - H)^-$ -Bildung sind daher als wichtigste Schlußfolgerungen folgende Punkte zu nennen:

- Das dehydrogenierte Thymin-Anion entsteht ausschließlich durch Bruch der N–H-Bindungen.
- Eine H-Abspaltung an den Kohlenstoffen ist zwar energetisch ab 1.6 eV möglich, wird aber im untersuchten Energiebereich (bis 10 eV) nicht beobachtet.
- Für Elektronenenergien unterhalb 1.4 eV findet H-Abstraktion nur an der N1-Position statt.
- Bei Energien oberhalb 1.4 eV kann ein Bindungsbruch sowohl an N1- als auch an N3-Position erfolgen.

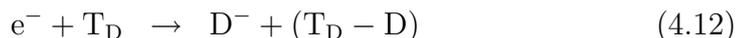
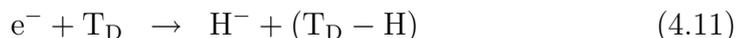
4.2.3 H^- und D^-

Wie bereits in Kap. 3.3 erwähnt, nimmt die Betrachtung des Wasserstoffanions als Ergebnis eines elektroneninduzierten Zerfalls bei unserer Apparatur eine besondere Stellung ein. Eine Analyse der Reaktion



konnte daher nicht mit angemessener Genauigkeit und Aussagekraft durchgeführt werden und ist aus diesem Grund auch nicht bei den anderen Dissoziationskanälen auf Seite 42 aufgeführt. Ein Spektrum, das die H^- -Ausbeute gemäß Reaktion (4.10) zeigt, ist dennoch im oberen Teil von Abb. 4.8 gezeigt.

Beim partiell deuteriertem Thymin ist indessen eine eingehendere Behandlung möglich, da grundsätzlich zwei Reaktionswege offenstehen:



Beide Kanäle sind ebenfalls von uns gemessen worden und in Abb. 4.8 gezeigt (mittlere und untere IAK). Trotz der vorgebrachten Einschränkung fällt beim Vergleich der Kurven für H^-/T und $\text{H}^-/\text{T}_\text{D}$ eine leichte Abnahme der

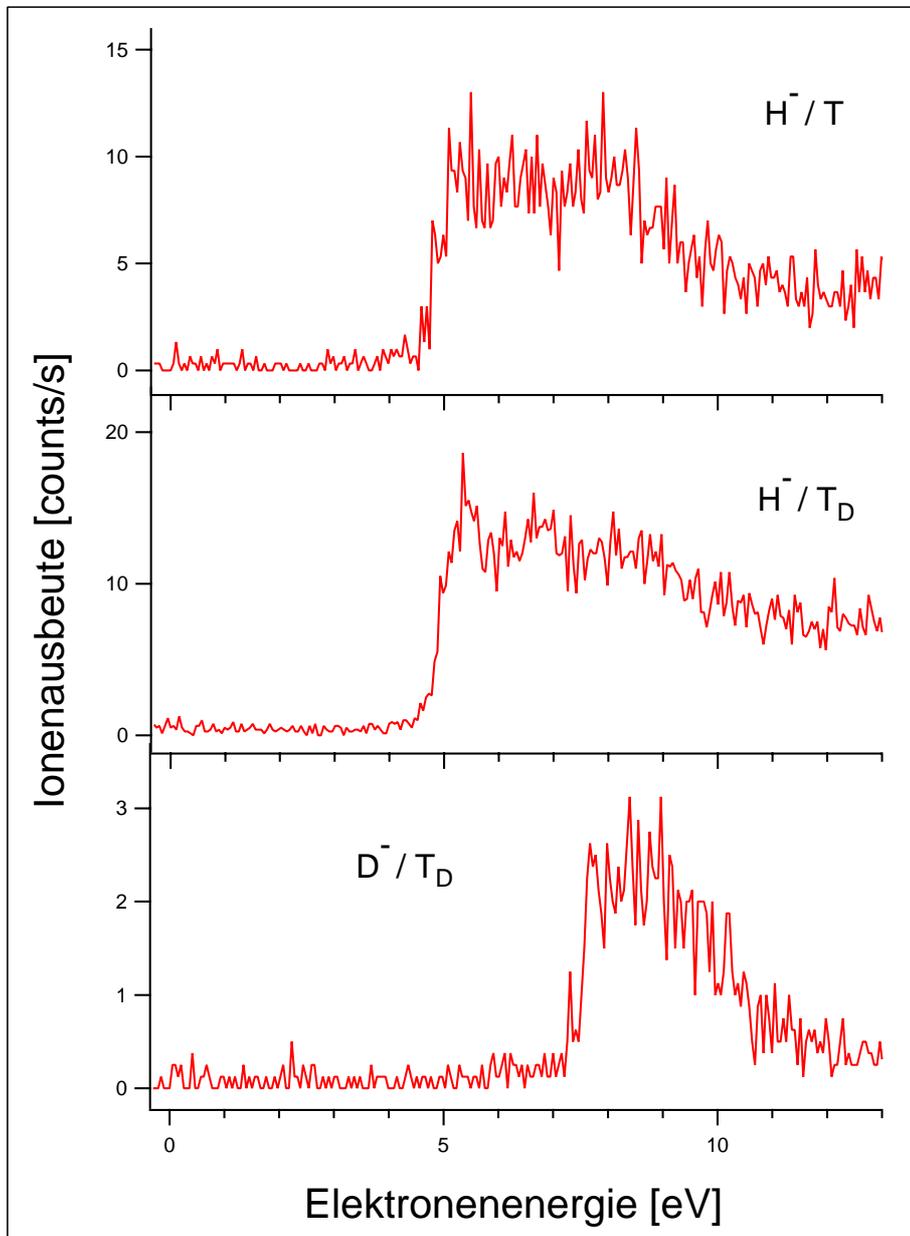


Abbildung 4.8. Die Ionenausbeutekurven von H^- aus Thymin (T) und H^- bzw. D^- aus dem partiell deuterierten Thymin (T_D). Die Spektren für H^- enthalten z. T. auch H^- aus der Reaktionskammer (siehe Kap. 3.3).

Intensität im Bereich von etwa 8 eV beim H^-/T_D auf. Die D^-/T_D Abstraktion wiederum findet in genau diesem Bereich (8 bis 10 eV) statt. In einer Zusammenarbeit mit der Innsbrucker Arbeitsgruppe wurde dort diese Problematik detaillierter untersucht. Die entsprechenden Ionenausbeutekurven sind in Abbildung 4.9 gezeigt, welche der Arbeit von Ptasińska *et al.* entnommen ist, die aus unserer Kooperation 2005 entstand [20]. Folgende Diskussion bezieht sich, wenn nicht anders erwähnt, auf diese Abbildung.

Das Spektrum von H^-/T ist durch drei deutlich voneinander getrennte Signale bei 5.5, 6.8 und 8.3 eV und einer zusätzlichen Schulter bei etwa 9.3 eV charakterisiert. Der Wirkungsquerschnitt bei 5.5 eV beträgt $\approx 10^{-17} \text{ cm}^2$, ist also um zwei Größenordnungen geringer als für den dominanten Zerfallskanal $(T-H)^-/T$. Beim Vergleich mit den Spektren für H^-/T_D und D^-/T_D fällt hier (deutlicher als in Abb. 4.8) auf, daß die Signale von H^-/T bei höherer Energie als etwa 7.5 eV einer H^- -Abspaltung an den C-Atomen entsprechen. Bei 5.5 bzw. 6.8 eV findet im Thymin indessen eine Abstraktion von Wasserstoffanionen nur an den beiden N-Positionen statt.

Tabelle 4.2 zeigt errechnete Energieschwellen für das Entstehen des Wasserstoffanions aus den verschiedenen Positionen im Thymin. Diesen Werten

Tabelle 4.2. Bindungsenergien (BE) des Wasserstoffs an den verschiedenen Positionen im Thymin (G2MP2 berechnet, Lit. [55]), Elektronenaffinität (EA) des Wasserstoffs (Lit. [63]) und sich daraus ergebende Auftrittsenergien ($BE - EA$), alle Werte in Elektronenvolt.

	BE	$EA(H)$	$BE - EA$
N1-H	4.4	0.75	3.65
N3-H	5.8	0.75	5.05
CH ₂ -H	4.5	0.75	3.75
C6-H	4.9	0.75	4.15

zufolge kann in den Ionenausbeutekurven von Abb. 4.8 und 4.9 *nicht* zwischen einer Dissoziation an Stickstoff- oder Kohlenstoffatomen unterschied-

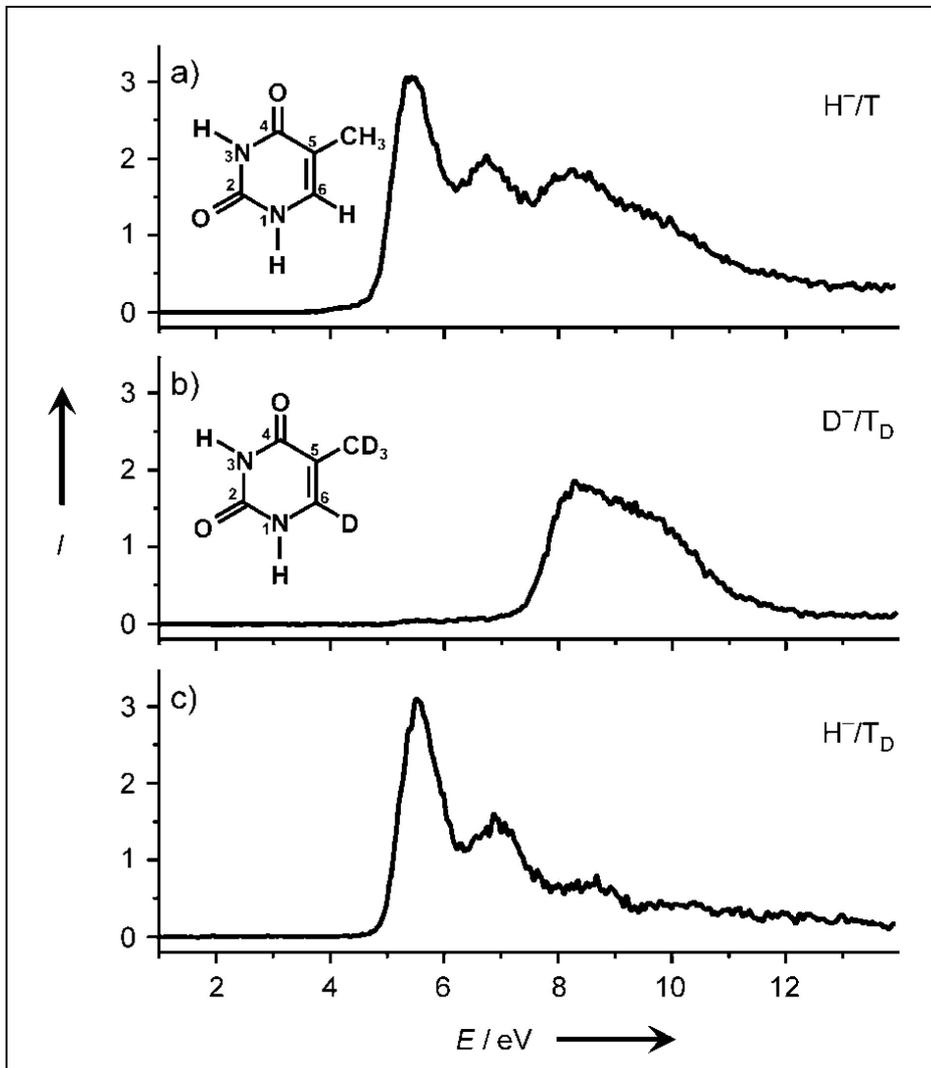


Abbildung 4.9. Die Ionenausbeute I von H^- aus Thymin (T) und H^- bzw. D^- aus dem partiell deuterierten Thymin (T_D) in willkürlichen Einheiten in Abhängigkeit von der Elektronenenergie E (Abbildung entnommen aus Lit. [20]).

den werden, da die H^- -Entwicklung erst ab 5 eV beobachtet wird und somit sämtliche Abstraktionspositionen thermodynamisch in Frage kommen. Die beobachtete ausgeprägte Bindungsselektivität der H^- -Abspaltung ist daher umso überraschender.

Reaktion (4.10) (bzw. (4.11) und D^- in (4.12)) findet in einem Energiebereich statt, der normalerweise mit der Anregung elektronischer Zustände gekoppelt ist (s. Kap. 2.2.2). Im Gegensatz dazu sagen quantendynamische Streurechnungen für Uracil eine Einteilchen-Shape-Resonanz bei 9.1 eV mit stark repulsivem C5–H-Charakter voraus [61]. Allerdings ist im Thymin das C5 mit einer Methylgruppe verbunden, so daß dieses Ergebnis nicht ohne weiteres übertragbar ist. Man kann aus der hohen Bindungsselektivität aber folgern, daß elektronische Zustände im 5 bis 7 eV Bereich lokalen antibindenden N–H-Charakter und zwischen 8 und 12 eV antibindenden C–H-Charakter haben.

4.2.4 Der Bezug zur DNA

Generell müssen die DEA-Reaktionen, die in der Gasphase an isolierten Nucleobasen identifiziert wurden, bei einer Betrachtung in der kondensierten Phase modifiziert werden. So existieren z. B. in kondensierter Umgebung vermutlich keine dipolgebundenen Zustände. Die Wellenfunktionen der DBS sind sehr diffus und überlappen dort mit anderen Positionen als in der Gasphase. Weiterhin kommt in der DNA keine N1–H-Bindung der Nucleobase Thymin vor, sie ist durch eine N1–Zucker-Bindung ersetzt. In Abbildung 4.10 ist ein in der DNA vorkommendes A–T-Basenpaar skizziert.

Die Kopplung des Moleküls an eine dissipative Umgebung kann sowohl in einer Herabsetzung als auch in einer Erhöhung der Reaktivität bezüglich dissoziativer Elektronenanlagerung resultieren [64, 65]. Zum Beispiel liegt das Intensitätsverhältnis der komplementären DEA-Kanäle I^- und CF_3^- aus CF_3I in der Gasphase bei 10000:1, in der kondensierten Phase bei 1:200 [64]. Weiterhin kann der Wirkungsquerschnitt eines Dissoziationskanals durch Ver-

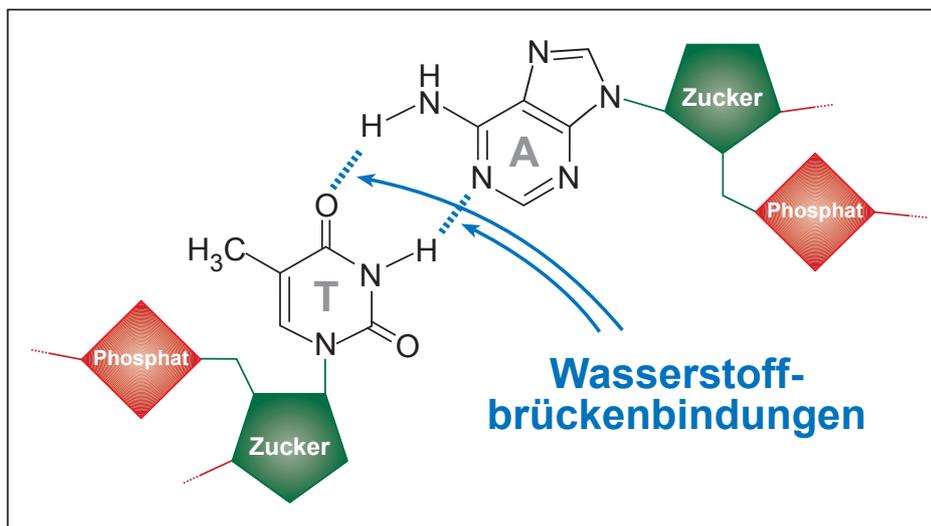


Abbildung 4.10. Schematische Darstellung eines Adenin-Thymin (A bzw. T) Basenpaares in der DNA. A und T an gegenüberliegenden Positionen der Doppelhelix sind durch Wasserstoffbrückenbindungen miteinander verbunden.

längerung der Lebensdauer des TNIs in Bezug auf Verlust des zusätzlichen Elektrons aufgrund der Wechselwirkung mit dem Medium erhöht sein.

Die Erzeugung von D^-/T_D wird in Abbildung 4.11 mit dem DEA-Signal von desorbiertem H^- aus Thymin verglichen, das auf einer Metalloberfläche kondensiert wurde [66]. Außerdem sind energieabhängige Verläufe von Einzel- und Doppelstrangbrüchen von Plasmid-DNA gezeigt [1,9]. Es stellt sich heraus, daß Strangbrüche in einem Energiebereich stattfinden, in dem auch die H^- -Abspaltung der Nucleobase erfolgt. Die Übereinstimmung ist insbesondere in jenem Bereich augenfällig, in dem die Wasserstoffanionen im Gasphasenexperiment vom *Kohlenstoff* des Thymins abgespalten werden.

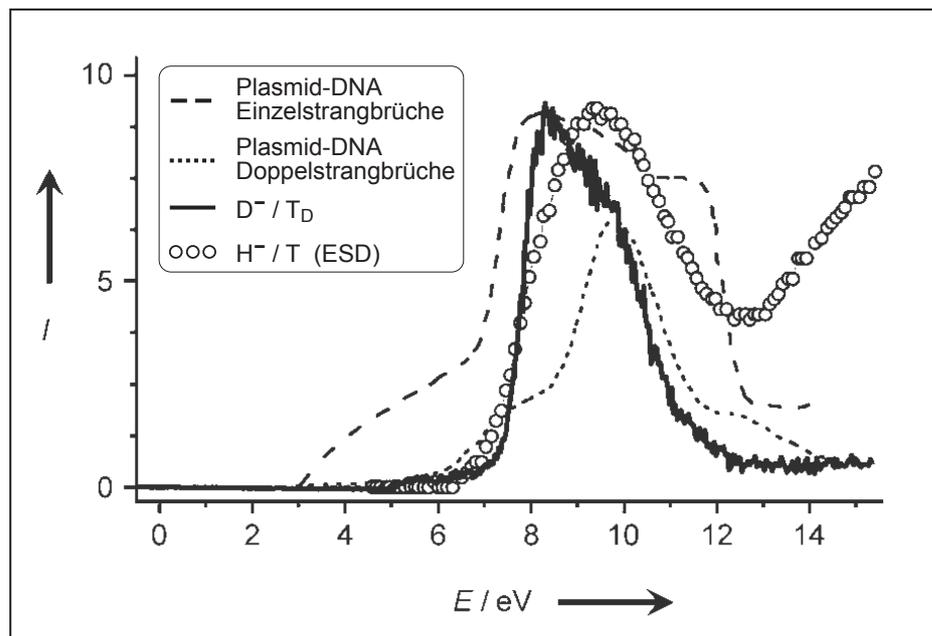


Abbildung 4.11. Vergleich von D^-/T_D in der Gasphase (durchgezogene Linie) mit H^-/T im ESD-Experiment (gestrichelte Linie) und Spektren entstandener Einzel- (gepunktete Linie) und Doppelstrangbrüchen (Kreispunkte). Die Intensitäten der letzten beiden sind willkürlich normiert. Die Abbildung ist Lit. [20] entnommen und um eine Legende ergänzt.

Neben dieser Verknüpfung von DNA-Strangbrüchen in kondensierter Phase und der elektroneninduzierten H^- -Entstehung in der Gasphase gibt es auch eine bemerkenswerte Verbindung zum Aufkommen des dehydrogenierten Thyminanions. Martin *et al.* untersuchten die Wechselwirkung von 0–4 eV Elektronen mit DNA-Filmen und stellten bereits in diesem niederenergetischen Bereich Einzelstrangbrüche mit einem Wirkungsquerschnittsverlauf fest, der stark der Ionenausbeutekurve des $(T-H)^-$ -Anions aus gasförmigen Thymin gleicht (Abbildung 4.12) [67]. Die beobachtete Peakstruktur liefere glaubwürdig den Beweis für den Einfluß energetisch niedrig gelegener temporärer Anionenzustände für einen Bindungsbruch. Selbst die von dieser Gruppe berechnete Ausbeute (etwa jedes hundertste Elektron verursacht SSBs) ist in der Größenordnung mit den Ergebnissen der Gasphasenexperimente vergleichbar. Doppelstrangbrüche konnten in diesem niedrigen Energiebereich jedoch nicht festgestellt werden. Obwohl nicht anzunehmen ist, daß Einzelstrangbrüche in einer DNA-Doppelhelix zum Zelltod führen, ändert sich die Situation gravierend während des Replikationsprozesses, in welchem sich der Doppelstrang in zwei Einzelstränge teilt.

Ergänzend muß bemerkt werden, daß eine Trennung im Zucker–Phosphat-Gerüst die Voraussetzung für einen Einzelstrangbruch darstellt. Barrios *et al.* modellierten am Rechner eine DNA-Einheit, die aus Nucleobase, Zucker und Phosphat besteht [10]. Ihre Rechnungen zeigen die Existenz einer anionischen Potentialfläche, die den initialen anionischen π^* -Zustand an der Nucleobase mit einem anionischen σ^* -Zustand verbindet. Dieser führt zum Bruch der C–O-Bindung, die den Zucker mit der Phosphatgruppe verbindet. Nach einem Elektroneneinfang der Nucleobase folgt also der Transfer des Elektrons (über drei gesättigte Bindungen) in das C–O- σ^* antibindende Orbital (σ^* -Prädissoziation der anionischen π^* -Valenzzustände). Ähnliche Migrationen wurden in der Gasphase bereits über zwei und vier gesättigte Bindungen in zwei Chlornorbondderivaten von Pearl *et al.* beobachtet [68, 69]. Der beobachtete Wirkungsquerschnitt der DEA des Cl^- aus diesen Komponenten

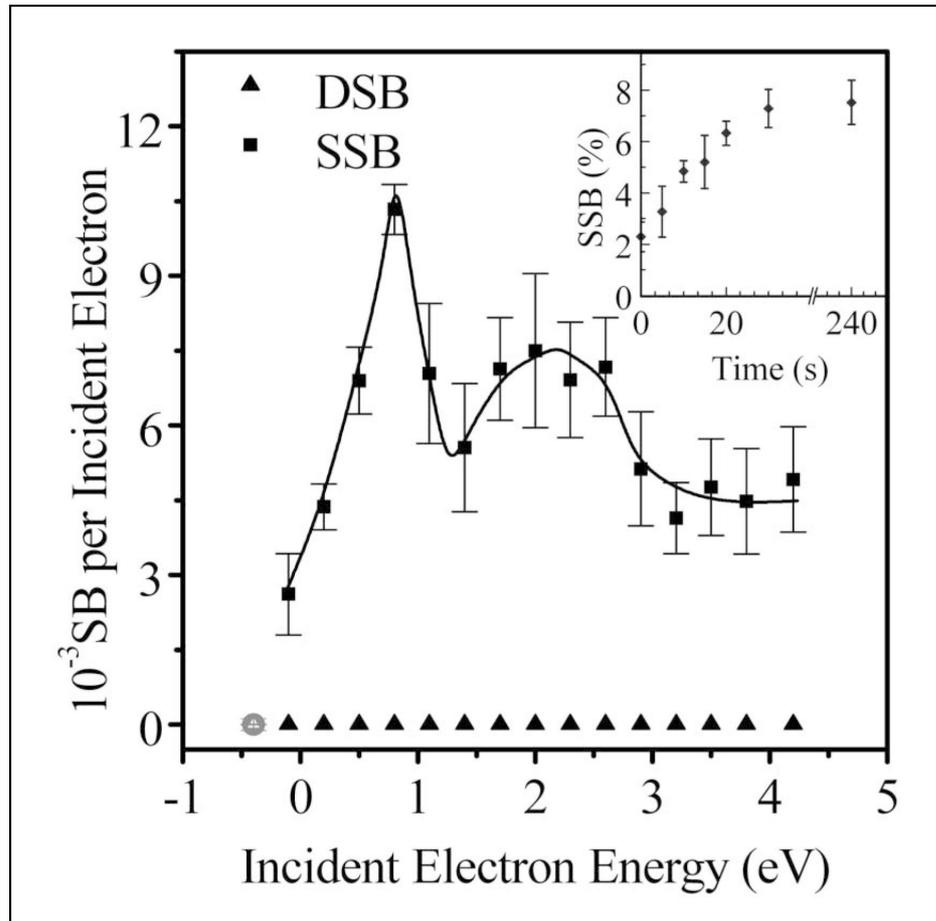


Abbildung 4.12. Quantenausbeute der DNA Einzelstrangbrüche (SSBs) und Doppelstrangbrüche (DSBs) *vs.* Elektronenenergie. Die rechts oben eingefügte Grafik zeigt den prozentualen Anteil von entstandenen SSBs in Abhängigkeit von der Einstrahldauer von 0.6 eV-Elektronen (Abbildung entnommen aus Lit. [67]).

beträgt $1/100$ des maximal möglichen Querschnitts. Gemäß Martin *et al.* stütze dies den von Barrios *et al.* vorgeschlagenen *charge transfer*-Mechanismus.

4.3 Thymidin

4.3.1 Nucleoside und Nucleotide

Die Bausteine des Informations-Biopolymers DNA sind Nucleotide, die sich aus jeweils einer Nucleobase, einem Monosaccharid und Phosphorsäure zusammensetzen. In der DNA (Desoxyribonucleinsäure) ist dieses Monosaccharid die Desoxyribose, es liegt als Furanosid in der Fünfringform vor. Die heterocyclische Base des Nucleotids ist N- β -glykosidisch über C1' des Zuckers gebunden (Acetale der Zucker werden als Glykoside bezeichnet). Die Bindung des Zuckers in der DNA zu jeweils einer Phosphatgruppe erfolgt über C5' und C3'. Die Kombination aus Nucleobase und Saccharid wird *Nucleosid* genannt. Ist ein Nucleosid mit Phosphorsäure verestert, spricht man von einem *Nucleotid*. Da in der DNA und RNA jeweils vier verschiedene Basen enthalten sind, gibt es auch jeweils vier Nucleotide. Durch wiederholtes Knüpfen der Phosphatesterbrücken vom 5'-Ende der Zuckereinheit des einen Nucleotids zum 3'-Ende des Zuckers der nächsten Nucleotideinheit wird die Polymerkette der DNA oder RNA aufgebaut.

Das hier untersuchte Nucleosid Thymidin (Td) ist aus der Nucleobase Thymin (T) und dem Monosaccharid 2-Desoxyribose (DOR) aufgebaut (Abbildung 4.13) und kann als Kondensationsprodukt der letzten beiden angesehen werden. Es stellt also den nächsten Schritt auf dem Weg von der einzelnen Nucleobase zum DNA-Polymer dar.

4.3.2 Die Fragmente

Zur Durchführung des Elektronenanlagerungsexperiments mit Thymidin (Td) mußte dieses im Ofen auf eine Temperatur von etwa 430 K gebracht werden. Das Hauptproblem derartiger Untersuchungen ist die relativ geringe ther-

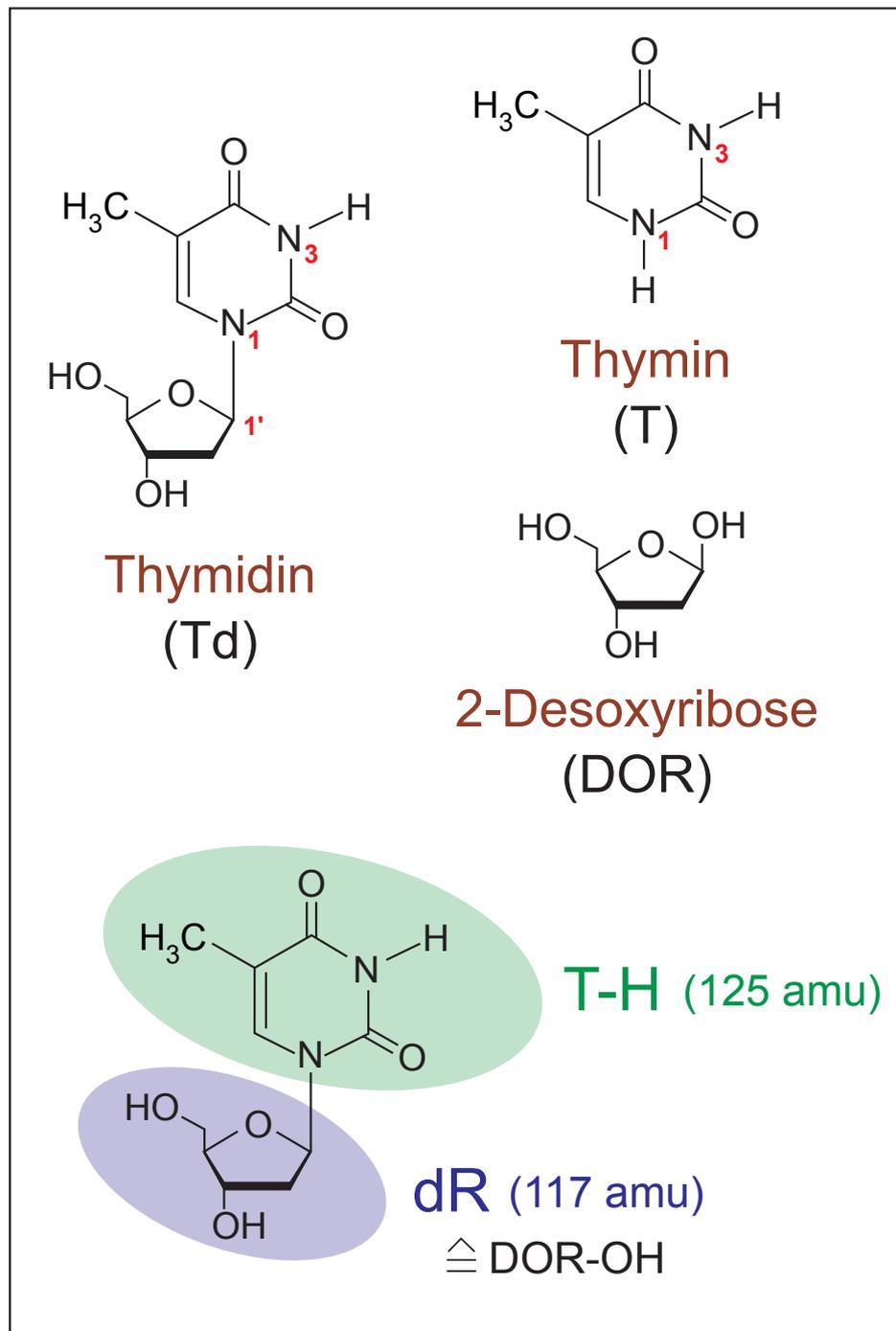


Abbildung 4.13. Strukturformeln von Thymidin (Td), Thymin (T) und 2-Desoxyribose (DOR). Im unteren Teil ist die Basen- (T-H) und Zuckerhälfte (dR) von Td gezeigt. Das Fragment dR entspricht formell der um eine Hydroxylgruppe ärmeren 2-Desoxyribose (DOR-OH).

mische Stabilität von Nucleosiden. Aus diesem Grund wurde eine ^1H -NMR-Analyse des Thymidins sowohl vor als auch nach mehrstündigem Erhitzen durchgeführt. Es konnte *keine* strukturelle Änderung des Materials festgestellt werden, beide Spektren waren gleich [21]. Dies ist in Übereinstimmung mit Edelgasmatrix-FTIR-Messungen, die keine thermische Zersetzung von Thymidin bei dieser Verdampfungstemperatur zeigen [70].

Die folgenden DEA-Kanäle im Energiebereich bis etwa 4 eV wurden für Thymidin von uns gefunden:

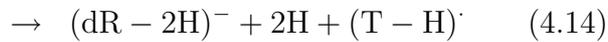
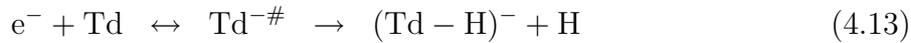


Tabelle 4.3 gibt eine Übersicht der anionischen Fragmente und zeigt die Positionen der Resonanzen. Es sei daneben erwähnt, daß wir in unserer publizierten Arbeit nicht die Entstehung von $(\text{dR} - 2\text{H})^-/\text{Td}$ (115 amu, Gl. (4.14)) diskutierten, sondern stattdessen dR^-/Td (117 amu) vermuteten [21]. In einer späteren Arbeit (vgl. Kap. 4.3.4) wurde dies bereits angemerkt [71]. Die Ursache waren wahrscheinlich Instabilitäten der Spannungsversorgung des Quadrupols.

Die Ionenausbeutekurven der Dissoziationskanäle (4.13), (4.14) und (4.15) sind in Abbildung 4.14 gezeigt. Reaktion (4.13) entspricht einer Dehydrogenierung des Muttermoleküls Thymidin. Ein Td^- -Anion konnten wir im gemessenen Energiebereich *nicht* nachweisen. Die Ionen $(\text{dR} - 2\text{H})^-$ und $(\text{T} - \text{H})^-$ haben beide ihren Ursprung im Bruch der N1-C-Bindung zwi-

Tabelle 4.3. Die beobachteten Fragmentionen der DEA von Thyminidin mit vorgeschlagenen Summenformeln und Atomgewichten (in amu) und ihre Resonanzmaxima (in eV).

$(Td - H)^-$	$(dR - 2H)^-$	$(T - H)^-$						
241	115	125	139	133	98	88	84	70
0.2	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0			0.0
0.7	1.2	1.0		1.1		1.2	1.2	0.5
1.6		1.7						

schen dem Zucker und der Nucleobase. Im Falle von $(T - H)^-$ wird die Überschußladung auf der Nucleobase, bei $(dR - 2H)^-$ auf dem Ribosebaustein lokalisiert. Diese ist zusätzlich mit der Abstraktion zweier Wasserstoffe verbunden. Bei $(T - H)^-$ handelt es sich also präziser um das bereits in Kapitel 4.2.2 erwähnte $(T - H)_{N1}^-$. Im gemessenen Energiebereich, der unterhalb der ersten elektronischen Anregungsenergie (≈ 3.8 eV, Lit. [72]) von Thyminidin liegt, geschieht die Elektronenanlagerung höchstwahrscheinlich über eine Shape-Resonanz.

Sowohl $(dR - 2H)^-$ als auch $(T - H)^-$ zeigen in ihren Ionenausbeutekurven einen schwachen, relativ breiten 0 eV Peak neben den bei etwa 0.6 eV einsetzenden Strukturen. Dies ist ein Indiz dafür, daß es sich um Produkte von unzersetztem Thyminidin handelt, da eine assoziative Elektronenanlagerung an *Radikale* (entstanden durch einen thermisch induzierten C–N-Bindungsbruch zwischen Zucker und Nucleobase) gewöhnlich zu einer schmalen und sehr intensiven Resonanz bei 0 eV führt [73, 74]. Es ist daneben nicht anzunehmen, daß eine Anlagerung von Elektronen mit Energien > 0.6 eV an ein $(T - H)^\cdot$ -Radikal ein Anion mit einer ausreichenden Lebensdauer hervorbringt, so daß es massenspektrometrisch nachweisbar wäre [16]. Das DEA-Spektrum von $(T - H)^-$ aus Thymin, welches bei Energien oberhalb von 0.6 eV dem von $(T - H)^-$ aus Thyminidin ähnelt, zeigt überdies keine Resonanz bei 0 eV [18].

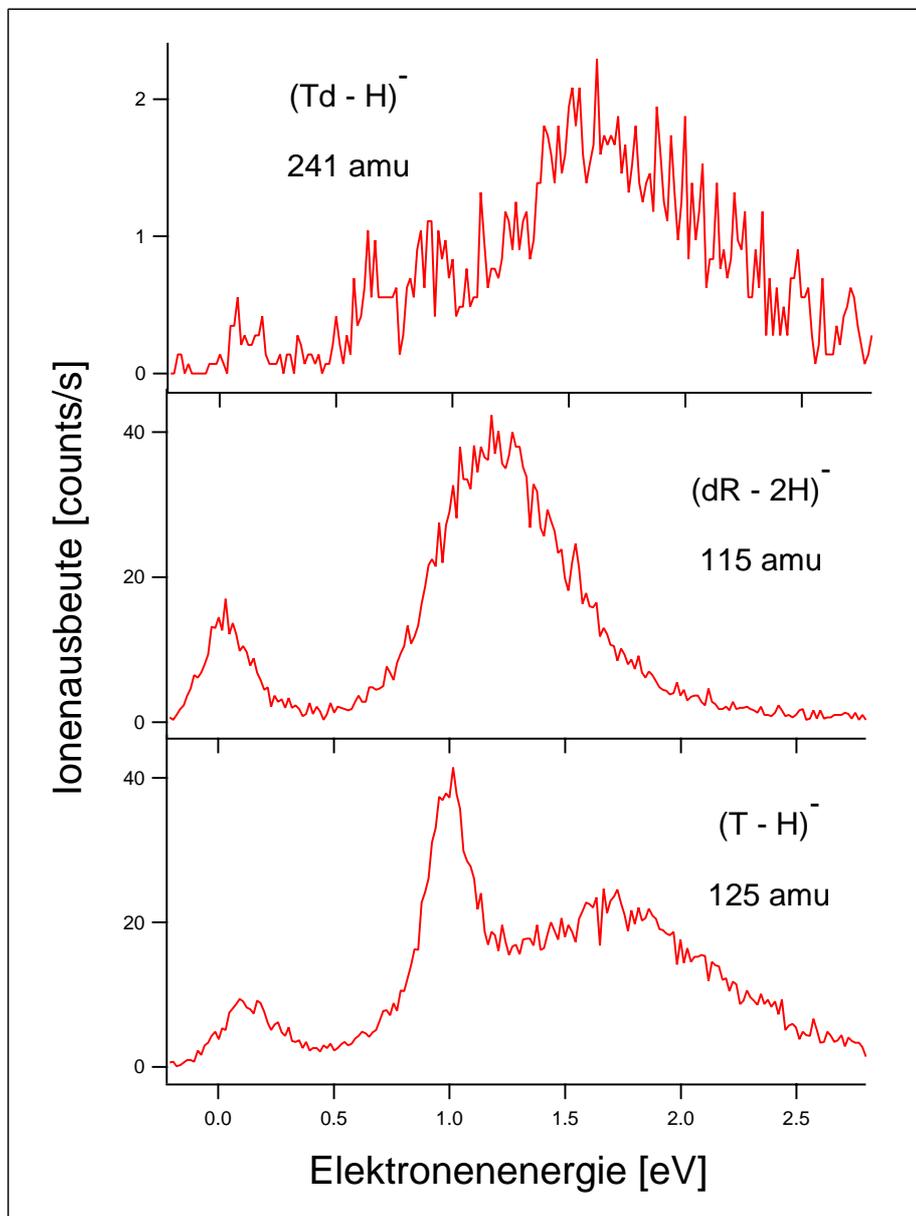


Abbildung 4.14. Die Ionenausbeutekurven von $(\text{Td} - \text{H})^-$, $(\text{dR} - 2\text{H})^-$ und $(\text{T} - \text{H})^-$ aus Thymidin (Td).

Die energetische Schwelle für die Reaktionen (4.14) und (4.15) kann nach

$$AE(M^-) \approx D(C-N) - EA(R) \quad (4.22)$$

ermittelt werden. $D(C-N)$ repräsentiert die Dissoziationsenergie zwischen dem Kohlenstoff C1 des Zuckers und dem Stickstoff N1 des Thyminteils und R das entsprechende, zu M^- komplementäre radikalische Fragment ($(T-H)^\cdot$ oder $(dR-2H)^\cdot$). Die Entstehung der Radikale ist natürlich eine vereinfachte Annahme des Verlaufs der Reaktion (4.14) bzw. (4.15). Da jene hier nicht direkt nachgewiesen werden, sind auch weitere stabilisierende Zerfallsprozesse denkbar. Mit einer ungefähren C-N-Bindungsenergie von 3.0 bis 3.6 eV [75] und einer EA von ≈ 3.9 eV für das $(T-H)_{N1}^-$ -Anion (Lit. [55]) wird Reaktion (4.22) exotherm und ab 0 eV zugänglich. In gleicher Weise legt die Entstehung des $(dR-2H)^-$ -Anions bei etwa 0 eV nahe, daß das entsprechende Riboseradikal eine dem Thyminradikal vergleichbare Elektronenaffinität besitzt. Im Unterschied zu Thymin, bei dem das $(T-H)^-$ -Anion wegen der höheren N1-H-Bindungsenergie von 4.4 eV [58] erst ab einer Elektronenenergie von etwa 0.8 eV thermodynamisch zugänglich ist, kann im Thymidin bereits bei 0 eV ein Bindungsbruch erreicht werden. Die von uns ermittelten σ -Werte der Reaktionen bei 1.0 eV für (4.15) und bei 1.2 eV für (4.14) belaufen sich auf $\approx 10^{-17}$ cm². Der Wirkungsquerschnitt von $(T-H)^-/dT$ ist also um etwa 2 Größenordnungen geringer als $(T-H)^-/T$ (s. Kap. 4.2.1).

In Reaktion (4.13) kann sich die Wasserstoffabstraktion *a priori* sowohl am Zucker als auch an der Nucleobase vollziehen. Wenn man annimmt, daß die H-Abspaltung auf der Seite der Nucleobase erfolgt, ist ein Vergleich mit der Ionenausbeutekurve von $(T-H)^-/T$ sinnvoll. Gemäß Kap. 4.2.2 ist deren Form auf die Abstraktion der Wasserstoffatome an N1- und N3-Position zurückzuführen. Die IAK von $(Td-H)^-/Td$ zeigt im Gegensatz zu $(T-H)^-/T$ keinen prominenten Peak bei 1 eV, sondern ein breites Maximum bei ungefähr 1.6 eV. Da der Unterschied vom im Thymidin gebundenen Thymin zum isolierten Thymin in einer N1-C- statt einer N1-H-Bindung besteht, ist entsprechend auch keine Abstraktion von H an N1 möglich. Wie bereits ausgeführt, zeigt ein an N1-Position methyliertes Thymin in der IAK seines

dehydrogenierten Muttermolekülanions keinen Peak bei 1 eV (s. Abb. 4.7 auf Seite 51), sondern ein breites Maximum bei etwa 1.7 eV. Folgt man dieser Argumentation, spricht die Energielage der $(\text{Td} - \text{H})^-/\text{Td}$ -Ausbeute für eine H-Abstraktion an der N3-Position der Nucleobase.

Für die Hypothese, daß Wasserstoffabstraktion auf der Thyminseite des Nucleosids stattfindet, sprechen auch Elektronenanlagerungsmessungen von Ptasińska *et al.*, die an isolierter 2-Desoxyribose (DOR) durchgeführt wurden [76]. Diese Experimente zeigen zwar ein $(\text{DOR} - \text{H})^-$ -Fragment, es entsteht jedoch bei Energien nahe 0 eV und nicht bei ≈ 1.6 eV wie $(\text{Td} - \text{H})^-/\text{Td}$.

Alle weiteren von uns gemessenen Fragmente sind in Abb. 4.15 gezeigt. Aufgrund ihrer relativ großen Massen wird hier von einer detaillierten thermodynamischen Betrachtung abgesehen, da diese hoch spekulativ wäre. Ein Vergleich mit den Messungen an reiner 2-Desoxyribose (Lit. [76]) ist nur begrenzt möglich, da sie im Gegensatz zum Zucker im Thymidin noch die Hydroxylgruppe am C1 bindet. Außerdem zeigen Experimente mit laserinduzierter akustischer Desorption und thermischer Desorption von Guler *et al.*, daß 2-Desoxyribose in der Gasphase seine kristalline, 6-gliedrige Pyranoseringform behält [77]. Kalkulationen (B3LYP/6-311++G(d,p)) der gleichen Arbeitsgruppe bestätigen dies und ergeben eine um mindestens 1.7 kcal/mol niedrigere Energie der Pyranoseform zur 5-gliedrigen Furanoseform [77].

Das intensivste von Ptasińska *et al.* gefundene anionische Fragment besitzt die Masse 98 amu und entsteht bei nahe 0 eV. Es wird in jener Arbeit der Summenformel $\text{C}_5\text{H}_6\text{O}_2^-$ zugeordnet, was einer Freisetzung zweier Wassermoleküle entspricht. Auch in unseren Messungen ist bei dieser Masse und Energie die stärkste Ionenausbeute zu finden. Einige andere von dieser Gruppe detektierten Anionen konnten wir nicht feststellen (z. B. 115 amu) und *vice versa*, bei anderen (z. B. 84 amu) unterscheidet sich die Peaklage. Daher soll hier auf weitere Vergleiche verzichtet werden.

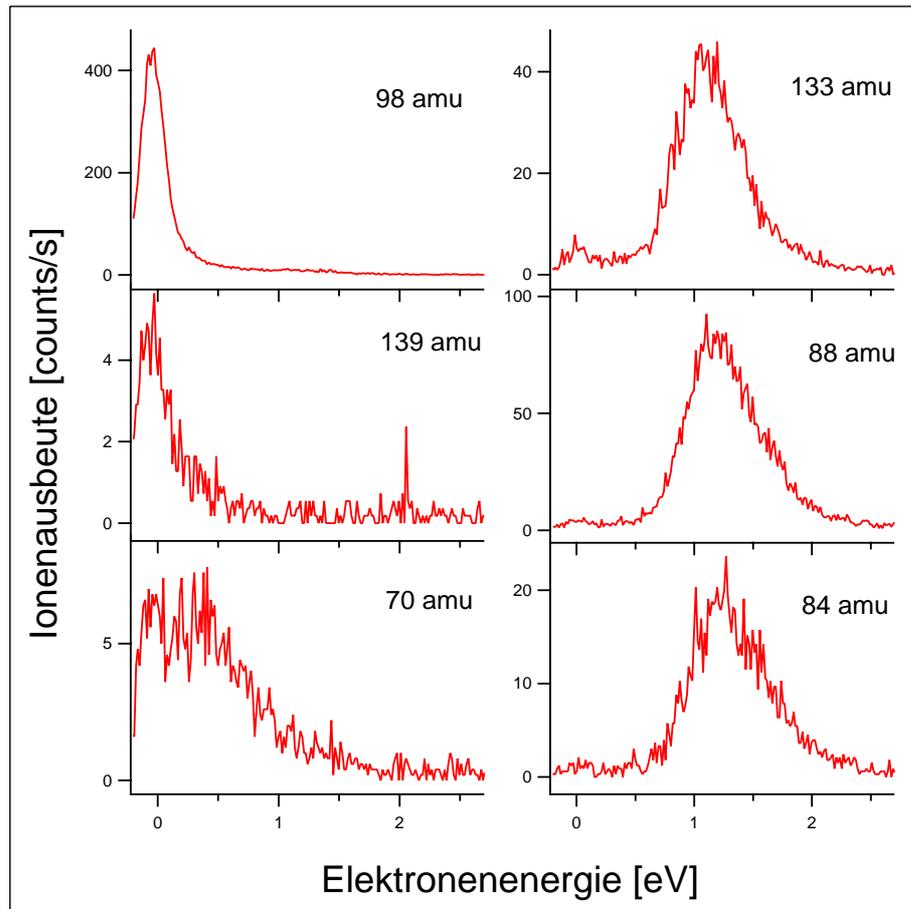


Abbildung 4.15. Die Ionenausbeutekurven der Thymidinfragmente mit 139 amu, 133 amu, 98 amu, 88 amu, 84 amu und 70 amu im Energiebereich bis etwa 3 eV.

4.3.3 Näher an der DNA

Unsere Ergebnisse zeigen, daß auch das Nucleosid Thymidin verschiedene Zerfallskanäle aufweist, die durch Anlagerung niederenergetischer Elektronen ($< 3 \text{ eV}$) initiiert werden. Die bei $(\text{T} - \text{H})^-$ aus Thymin beobachtete Resonanz bei 1 eV entfällt bei $(\text{Td} - \text{H})^-/\text{Td}$, da die N1-Position (wie beim methylierten Thymin m1T) ein Kohlenstoffatom bindet. Interessant ist die Existenz der zwei annähernd komplementären Dissoziationskanäle $(\text{dR} - 2\text{H})^-$ und $(\text{T} - \text{H})^-$. Bei beiden Reaktionen kann die Entstehung einer radikalischen Hälfte (Ribose- oder Thyminradikal) angenommen werden. Das Zuckerradikal könnte beispielsweise im weiteren Verlauf zur Strangteilung in der DNA führen [78]. Der durch Trennung der glykosidischen Bindung noch an das Gerüst gebundene Desoxyribose-Ring könnte durch ein Enzym extrudiert werden und somit einen Knick in der helikalen Achse der DNA erzeugen [79, 80]. Auch das Thyminradikal mit seiner hohen Elektronenaffinität kann weiterreagieren, z. B. durch Wasserstoffabstraktion an anderer Stelle in der DNA. So wurde die Bildung von Thymin nach γ -Bestrahlung von Thymidin in gefrorener wässriger Lösung beobachtet [81]. Die Produktion von $(\text{Td} - \text{H})^-$ bringt das mobile Wasserstoffradikal hervor, das weitere Schäden verursachen kann.

Auch hier muß erneut auf die Differenz von Gasphase und kondensierter Phase hingewiesen werden. Bereits das die DNA umgebende Wasser wird die Reaktionswege stark modifizieren, so daß es etwa zu einer erhöhten Reaktivität kommen kann [73, 82].

4.3.4 Einige Ergänzungen

Neueste im Jahr 2006 veröffentlichte DEA-Untersuchungen an Thymidin gehen über das Subexzitationsniveau hinaus (bis etwa 14 eV) [71]. In diesen Experimenten zeigt sich in der IAK für $(\text{T} - \text{H})^-/\text{Td}$ neben der Struktur im Subexzitationsbereich (untere IAK in Abb. 4.14, von 0.6 bis 2.6 eV) eine weitere, ähnlich intensive zwischen 5.5 und 12 eV . Für das Intensitätsverhält-

nis dieser beiden fanden Ptasińska *et al.* eine deutliche Abhängigkeit von der Sublimationstemperatur des Thymidins. So nimmt das Verhältnis der Peakhöhen von erster (≈ 1 eV) zu zweiter (≈ 6.5 eV) mit zunehmender Temperatur zu. Es beträgt bei 415 K etwa 2:1, bei 425 K bereits etwa 10:1 [71]. Das $(T - H)^-$ -Signal *bei niedriger Energie* (≈ 1 eV) ist also möglicherweise die Folge thermischer Zersetzung.

Ein wahrscheinliches Szenario wäre folgendes: Die N1–C-Bindung zwischen Zucker und Nucleobase wird gebrochen, es entstehen $(T - H)$ und dR. Das Thyminradikal fängt darauf in Folge von Stößen mit den Ofen- und Kapillarwänden ein Wasserstoffatom ein und bildet Thymin, welches dann im Reaktionsraum zu geringen Teilen neben intaktem Thymidin vorliegt und die entsprechende, für Thymin typische DEA-Resonanzstruktur von 0.6 bis 2.6 eV liefert. Das Signal in diesem Bereich wird vermutlich *ausschließlich* durch $(T - H)^-/T$ gebildet, wenn die Ergebnisse der Messungen an methyliertem Thymin (m1T) einbezogen werden. Wie bereits erwähnt, zeigen sie *kein* $(T - CH_3)^-/m1T$ -Signal, die N1–C-Bindung bleibt bis 3 eV ungebrochen [62]. Das $(T - H)^-$ -Signal im Bereich zwischen 5.5 und 12 eV hat seinen Ursprung hingegen im intakten Thymidin. Eine weitere Option besteht darin, daß der N1–C-Bindungsbruch mit einem Wasserstofftransfer vom Zucker zur Nucleobase einhergeht, wobei die Fragmente T und $C_5H_8O_3$ (116 amu) entstehen, die dann über die DEA-Reaktion die entsprechenden Ionen liefern.

Falls diese Annahmen gültig sind, ist es ebenfalls nicht unwahrscheinlich, daß die bei 0 eV entstehenden Anionen der Zucker- bzw. Thyminhälfte doch durch Elektronenanlagerung an Radikale entstehen (entgegen vorheriger Argumentation in Kap. 4.3.2). Da der Wirkungsquerschnitt der dissoziativen Elektronenanlagerung eine *reziproke* Energieabhängigkeit besitzt, muß der Anteil unzersetzten Thymidins indessen den des Zersetzungsprodukts unzweifelhaft übersteigen.

Die Tatsache, daß eine Elektronenanlagerung bei 1.2 eV, 1.8 eV und zwischen 5.5 und 10 eV zu unterschiedlichen Zerfallskanälen führt, *gleiche* Energien sich jedoch nicht in den einzelnen Kanälen wiederfinden, hat folgende

Konsequenz: Eine Elektronenanlagerung an der Nucleobase führt nicht zu einem Elektronentransfer auf die Zuckereinheit. Damit würde das von Barrios *et al.* vorgeschlagene Modell (Lit. [10]) nicht länger gültig sein. In diesem wird der Nucleobase die Rolle einer „Antenne“ eingeräumt, die Elektronen einfängt und sie zum Zucker-Phosphat-Gerüst weiterleitet, wo letztendlich ein Bindungsbruch stattfindet.

4.4 Der Einfluß von SF₆

Während unserer DEA-Untersuchungen an Thymin beobachteten wir beim um ein Wasserstoff ärmeren Muttermolekülanion (T – H)⁻ ein ausgeprägtes Signal bei 0 eV. Dies ist in soweit bemerkenswert, daß bei dieser Energie theoretisch an keiner Position am Thymin eine Wasserstoffabstraktion entsprechend Gleichung (4.2) (Kap. 4.2.1, Seite 42) energetisch zugänglich sein sollte [55]. Die naheliegendste Erklärung war zuerst die Existenz vibrationsangeregter Thyminmoleküle. Es zeigte sich jedoch, daß dieses Signal vom Partialdruck des im Reaktionsraum enthaltenen Schwefelhexafluorids abhängt, welches normalerweise ständig zusammen mit der zu untersuchenden Substanz präsent war, um die Energiekalibrierung zu kontrollieren.

Für Thymin variierten wir den Anteil des Schwefelhexafluorids am Gesamtdruck. Mit zunehmendem SF₆-Partialdruck erhöhte sich auch die Ionenausbeute von (T – H)⁻/T bei 0 eV (siehe Abb. 4.16). War gar kein SF₆ vorhanden, konnte auch kein (T – H)⁻ bei 0 eV detektiert werden. Ein ähnliches Bild ergab sich bei späteren Messungen an Adenin [19]. Eine exemplarische Messung von (A – H)⁻/A in Anwesenheit von SF₆ ist ebenfalls in Abbildung 4.16 gezeigt. Messungen von Hanel *et al.* zeigen ein ähnlich ausgeprägten 0 eV-Peak bei SF₆-Präsenz für (U – H)⁻ aus Uracil [58].

Eine mögliche Quelle des 0 eV-Signals beim Thymin ergibt sich aus der Nähe der Massen von (T – H)⁻/T (125 amu) und dem SF₅⁻-Anion (127 amu), also das um ein Fluoratom ärmere Muttermolekülanion des Schwefelhexafluorids. SF₅⁻ stellt nach SF₆⁻ das zweitintensivste Ionensignal von SF₆ dar und

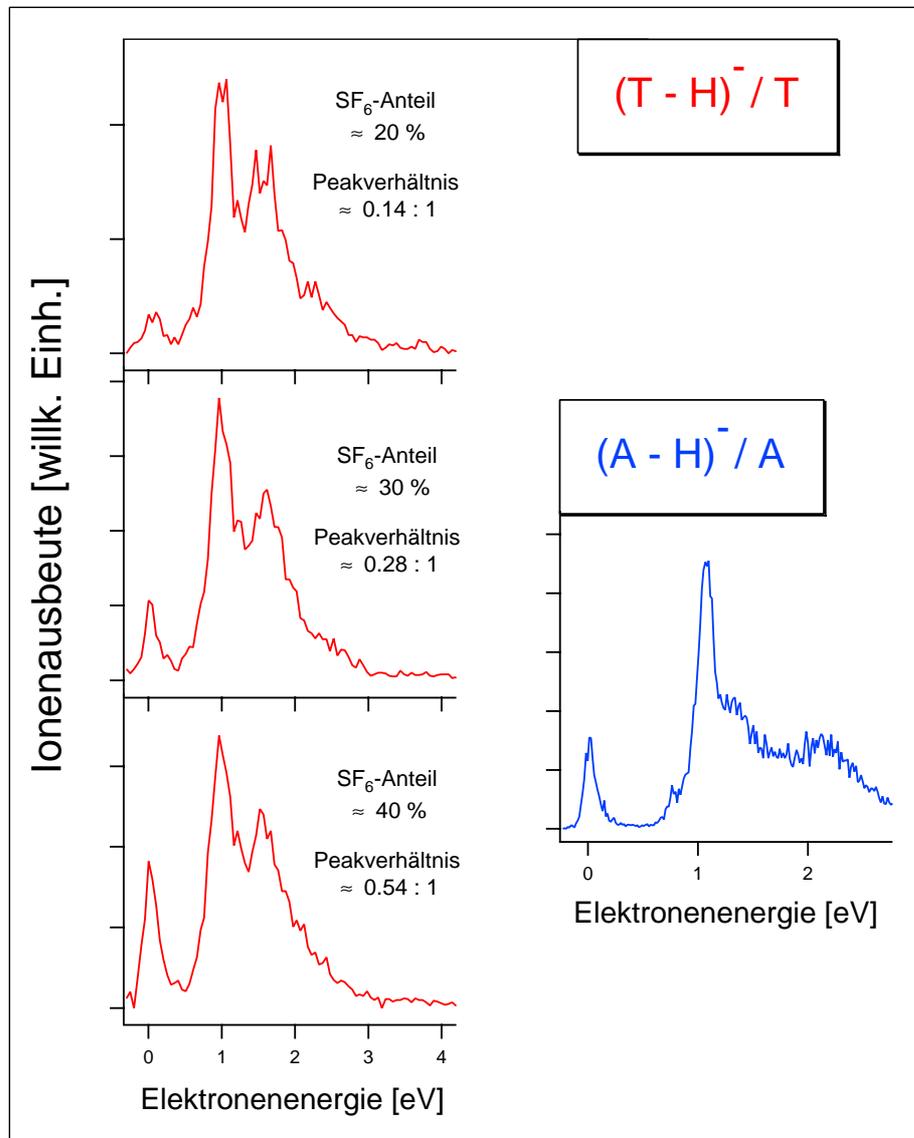


Abbildung 4.16. Die Ionenausbeutekurven von $(T - H)^-$ aus Thymin und $(A - H)^-$ aus Adenin in Anwesenheit des Kalibriergases Schwefelhexafluorid. Für Thymin (linke Hälfte) sind Messungen bei unterschiedlichen Anteilen des SF₆-Partialdrucks am Gesamtdruck sowie das Verhältnis des Peaks bei 0 eV zum dominanten Signal bei 1 eV gezeigt. Je mehr SF₆ vorhanden ist, desto mehr $(T - H)^-$ -Ionen werden bei 0 eV gebildet.

zeigt eine temperaturabhängige IAK, die ein Maximum bei etwas über 0 eV besitzt und mit zunehmender Temperatur zu höherer Energie (bis etwa 1 eV) ausläuft. Bei sehr schlechter Massenauflösung kann demzufolge im 125 amu-Spektrum das 0 eV-Signal des SF₅⁻ gefunden werden. Diese Option konnte durch eine gute Massenauflösung ausgeschlossen werden.

Die Analyse von Peaks nahe 0 eV in DEA-Spektren stellt eine besondere Herausforderung dar. Vorrangig ist hier das bereits mehrfach erwähnte reziproke Verhalten des Wirkungsquerschnitts mit der Elektronenenergie zu nennen [83, 84]. Außerdem können Signale nahe 0 eV generell durch

- die Anwesenheit geringer Verunreinigungen (tatsächliche Verunreinigungen und/oder Dissoziationsprodukte),
- schwingungsangeregte Targetmoleküle und
- besondere Artefakte

verursacht werden. Beispielsweise zeigt das Cl⁻-Fragment, das bei 1.5 eV durch DEA an CF₃Cl bei Raumtemperatur entsteht, bei moderater thermischer Anregung einen weiteren scharfen Peak nahe 0 eV (*hot band transition*) [85]. Die Kombination der Energieabhängigkeit des Anlagerungsquerschnitts und der Lebensdauer des resonanten Übergangszustandes gegen Autodetachment kann in einem starken DEA-Signal resultieren, das deutlich intensiver ist, als es durch die statistische thermische Besetzung der Vibrationsniveaus zu erwarten wäre. Experimentelle Artefakte können beobachtet werden, wenn ein metastabiles Muttermolekülanion nahe 0 eV erzeugt wird. Werden Elektronen von den metastabilen Anionen während ihrer Beschleunigung in Richtung Detektor gelöst, können diese Elektronen selbst beschleunigt werden. Dabei können sie weitere DEA-Reaktionen in den Targetmolekülen, nun bei höherer Energie, induzieren. Dieser als *Trojan horse ionization* bezeichneter Mechanismus erzeugt einen mehr oder weniger ausgeprägten 0 eV-Peak zusätzlich zu den „echten“ Resonanzen bei höherer Energie [86].

Unsere Untersuchungen zeigten, daß keiner der genannten Mechanismen die Ursache für den Peak bei 0 eV in $(T-H)^-/T$ und $(A-H)^-/A$ ist. Wird nicht SF_6 sondern Argon oder gar kein zusätzliches Gas verwendet, kann auch kein Signal bei 0 eV beobachtet werden. Die gemessenen Ionenausbeutekurven entsprechen dann denen, wie sie in Abbildung 4.2 auf Seite 40 zu sehen sind. Darüber hinaus hat die Menge von SF_6 oder Argon keinen signifikanten Einfluß auf die Ionenausbeute oberhalb von etwa 0.6 eV in $(T-H)^-/T$ und $(A-H)^-/A$. Der Gasfluß scheint die Anzahl der Thymin- bzw. Adeninziele nicht wesentlich zu ändern. Zusätzlich ist die Intensität des 0 eV-Signals annäherungsweise proportional zur Intensität des SF_6^- -Peaks. Bei Thymin ist das Verhältnis vom 0 eV-Signal zum dominanten Peak bei 1 eV im $(T-H)^-$ -Fragment in Abb. 4.16 dargestellt. Bei einem etwa 20%igen Anteil von SF_6 am Gesamtdruck ist dieses Verhältnis rund 0.14:1, bei 30% 0.28:1 und bei 40% etwa 0.54:1.

Wir vermuten hingegen folgende Ion-Molekül-Reaktion als Ursache des genannten Phänomens [19]:



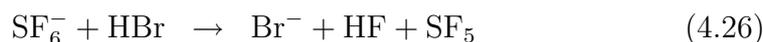
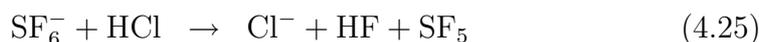
Die Reaktionsenthalpie von (4.23) kann ausgedrückt werden als

$$\begin{aligned} \Delta H = & D(N-H) - EA(A-H) + D(SF_5-F) \\ & - D(H-F) + EA(SF_6). \end{aligned} \quad (4.24)$$

Mit den thermodynamischen Daten $D(N-H) \approx 4.0$ eV (unter der Annahme eines N-H-Bindungsbruchs) (Lit. [75]), $EA(A-H) = 3.2$ eV für die N9-Position (Lit. [87]), $D(SF_5-F) = 4.0$ eV (Lit. [88]), $D(H-F) = 5.9$ eV (Lit. [89]) und $EA(SF_6) = 1.06$ eV (Lit. [90]) ist Reaktion (4.23) nahezu thermoneutral. Im Falle von Thymin ergibt sich mit $D(N1-H) = 4.9$ eV bzw. $D(N3-H) = 5.1$ eV (Lit. [55]) und $EA(T_{N1}-H) = 3.2$ eV bzw. $EA(T_{N3}-H) = 3.7$ eV (Lit. [53]) ein positiver ΔH -Betrag von ≈ 0.9 eV für die Reaktion am N1 und ≈ 0.6 eV am N3 des Thymins.

Gleichung (4.24) ist für Moleküle im Grundzustand bei Raumtemperatur gültig. Unter unseren experimentellen Bedingungen ist es allerdings un-

wahrscheinlich, daß das durch Elektronenanlagerung gebildete SF₆⁻-Anion sich im Grundzustand befindet. Das Targetmolekül (Adenin bzw. Thymin) ist ebenfalls thermisch angeregt. Es ist somit plausibel anzunehmen, daß in Gleichung (4.23) ein korrigierender Subtrahend von etwa 1 eV zu berücksichtigen ist. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß die Elektronentransfer-Reaktion (4.23) stattfinden kann, und dies an mehreren (auch hier noch unberücksichtigten) Positionen im Targetmolekül. Ladungstransfer-Reaktionen mit Beteiligung von SF₆⁻ unter Bildung von SF₅ und HF wurden bereits für Chlorwasserstoff und Bromwasserstoff berichtet [91]:



In der erwähnten Arbeit von Hanel *et al.* wird ein ausgeprägter 0 eV-Peak in der IAK von (U - H)⁻/U sowohl in Anwesenheit von SF₆ als auch von CCl₄ berichtet [58]. Bei SF₆-Anwesenheit kann ein ähnlicher Mechanismus wie in Gleichung (4.23) angenommen werden. Das SF₆⁻-Anion besitzt eine ausreichend hohe Lebensdauer (µs–ms) zur Initiierung einer derartigen Reaktion [92, 93]. Daß das dehydrogenierte Uracilanion in Anwesenheit von CCl₄⁻ durch genannten Verlauf gebildet wird, ist wegen der geringen Lebensdauer des Tetrachlorkohlenstoff-TNIs von 7.5 ± 2.5 ps unwahrscheinlich [94]. Vielmehr wird CCl₄^{-*} bei 0 eV unimolekular in Cl⁻ und das neutrale CCl₃ zerfallen. Die Bildung von (U - H)⁻ wäre dann aus der Reaktion von Cl⁻ mit U unter Entstehung von HCl möglich.

Obwohl SF₆ keine biologische Relevanz besitzt, zeigen die gegenwärtigen Ergebnisse der dissoziativen Ion-Molekül-Reaktionen interessante Möglichkeiten auf. Wird beispielsweise ein metastabiles TNI innerhalb der DNA gebildet, könnte dieses mit einer Nucleobase reagieren und zur Dehydrogenierung führen.

4.5 5-Bromuridin

4.5.1 Halogenierte Nucleobasen und Radiosensibilisatoren

Als Radiosensibilisatoren werden Substanzen bezeichnet, die bewirken, daß Tumorzellen empfindlicher auf Bestrahlung reagieren. Die Kombination von ionisierender Strahlung mit zytotoxischen Substanzen innerhalb von Tumorzellen ist als Ergänzung und Alternative zur traditionellen Strahlen- bzw. Chemotherapie zu sehen. Beispielsweise stellt 5-Bromdesoxyuridin einen vielversprechenden Radiosensitizer für zielgerichtete Therapien dar [95]. Als Chemosensitizer verbessert es außerdem die zytotoxische Wirkung des Zytostatikums *cis*-Diammindichloroplatin(II) (DDP, Cisplatin) [96]. Wie bereits in der Einleitung erwähnt, können Halouracile in zellulärer DNA Thymin ersetzen, ohne die Genexpression zu ändern [23]. Dadurch wird die Zellsensitivität gegenüber Röntgenstrahlung um den Faktor 4 erhöht [97]. Das von uns untersuchte 5-Bromuridin (BrUrd) ist in Abbildung 4.17 dargestellt. Die wiedergegebene Oxo-Form ist Rechnungen zufolge sowohl in der Gasphase als auch in wässriger Lösung und der DNA die weitaus stabilste [98].

Die eigentlichen molekularen Mechanismen, nach denen solche Radiosensitizer wirken, sind bislang noch nicht offen gelegt. Es wurde vorgeschlagen, daß die Sensibilisierung auf die Interaktion von hydratisierten Elektronen (e_{aq}^-) mit den halogenmodifizierten Nucleobasen (z. B. 5-Bromuracil) zurückzuführen ist [99, 100]. Solche solvatisierten Elektronen können genotoxische Effekte auf einer relativ langen Zeitskala ($> \mu\text{s}$) induzieren. Im Unterschied dazu können die kurz nach dem Energieeintrag entstehenden Sekundärelektronen (fs-ps) direkten Schaden an der DNA und ihrer Umgebung induzieren [101]. Weiteres ist in Kapitel 1 zu finden.

Zu den am häufigsten untersuchten Halouracilen zählen 5-Chloruracil und 5-Bromuracil. Im Falle von 5-Bromuracil (BrU) existieren Studien zur Reaktion mit Elektronen in der Gasphase (Lit. [57, 102–104]), in kondensierter Phase (Lit. [82]) und in Paarung mit Adenin [105]. Im Gegensatz zu den iso-

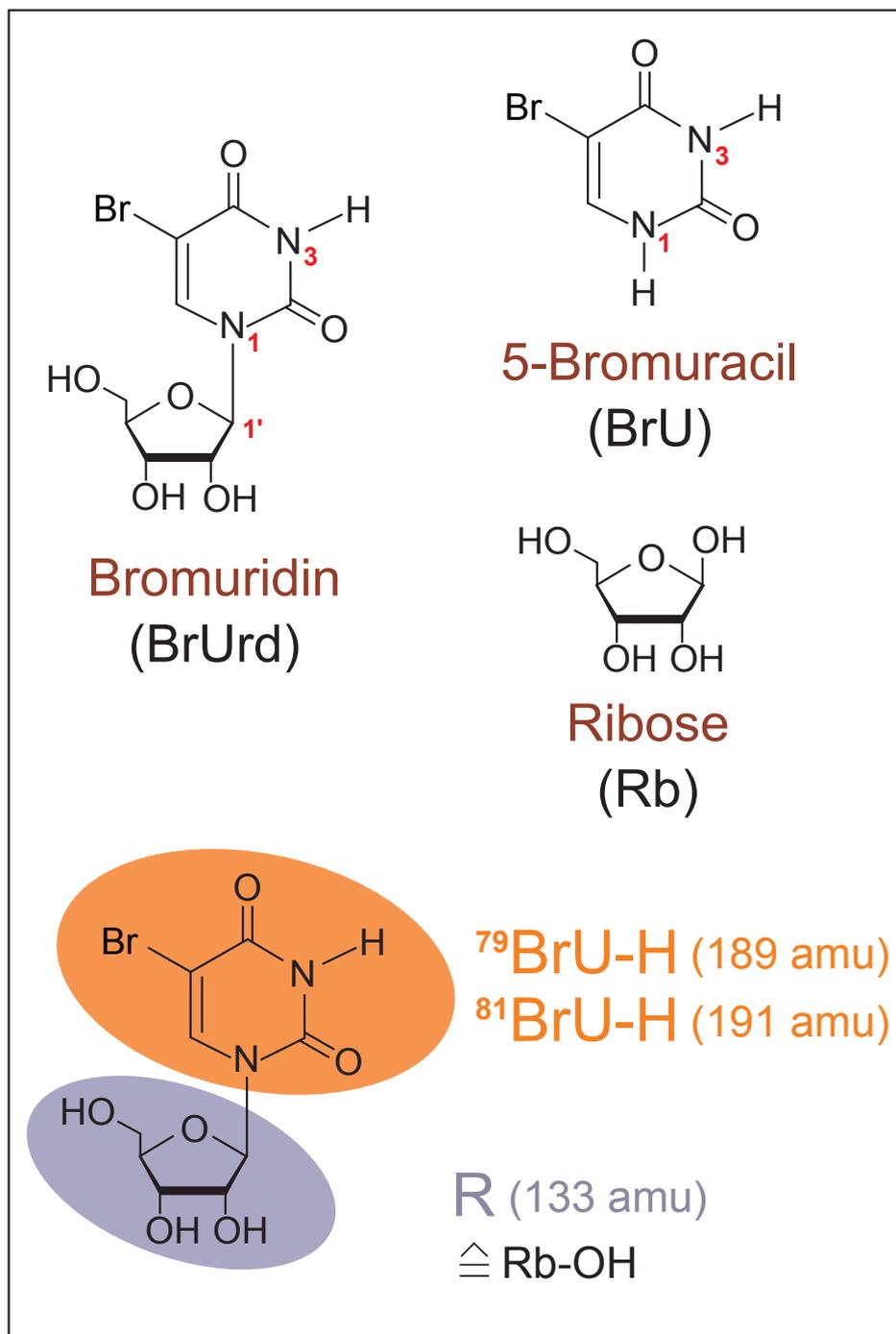


Abbildung 4.17. Strukturformeln von Bromuridin (BrUrd), Bromuracil (BrU) und Ribose (Rb). Im unteren Teil ist die Basen- (BrU-H) und Zuckerhälfte (R) von BrUrd gezeigt. Das Fragment R entspricht formell der um eine Hydroxylgruppe ärmeren Ribose (Rb-OH).

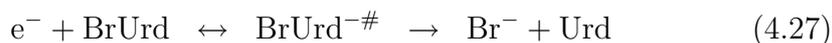
lierten Nucleobasen, die eine negative vertikale Elektronenaffinität besitzen, ist für halogenierte Nucleobasen ein stabiles Muttermolekülanion beobachtet worden. Dies geht konform mit der für halogenierte Nucleobasen berichteten positiven EA [106]. Verglichen mit den unhalogenierten Nucleobasen sind die dargelegten Wirkungsquerschnitte für eine dissoziative Elektronenanlagerung der halogenierten Moleküle um zwei Größenordnungen höher [102, 104]. Interessanterweise zeigen *positive* Massenspektren von 5- und 6-Chloruracil demgegenüber eine geringere Ausbeute als im Falle des unhalogenierten Uracils [107].

4.5.2 Die Fragmente

Die Abbildungen 4.18 und 4.19 zeigen die von uns gemessenen Ionenausbeutekurven des 5-Bromuridins. Die Identifikation von bromhaltigen anionischen Fragmenten ist massenspektrometrisch relativ gut möglich, da die natürliche Isotopenverteilung von ^{79}Br zu ^{81}Br mit ungefähr 1:1 sich in den entsprechenden Fragmenten widerspiegelt.

Die Limitierung unseres Massenspektrometers gestattet uns nicht, schwerere Massen als 300 amu zu identifizieren, sofern diese eine einfache Ladung tragen. Aus diesem Grund konnten wir in unserer Veröffentlichung auch keine Aussage über die Existenz eines Muttermolekülanions (322 amu mit ^{79}Br bzw. 324 amu mit ^{81}Br) oder eines dehydrogenierten Muttermolekülanions (321 amu mit ^{79}Br bzw. 323 amu mit ^{81}Br) treffen [22]. Neuere Experimente von Denifl *et al.* ergeben tatsächlich ein nachweisbares Muttermolekülanion [108].

Als weitaus intensivster Zerfallskanal stellt sich



heraus, also die Dissoziation der Bindung zwischen Brom und Uridin, wobei die negative Ladung am Brom lokalisiert ist. In Abb. 4.18 (a) ist das Spektrum von ^{79}Br gezeigt. Die bereits bei 0 eV eintretende Reaktion wird durch die hohe Elektronenaffinität des Bromradikals (3.36 eV, Lit. [109]) an-

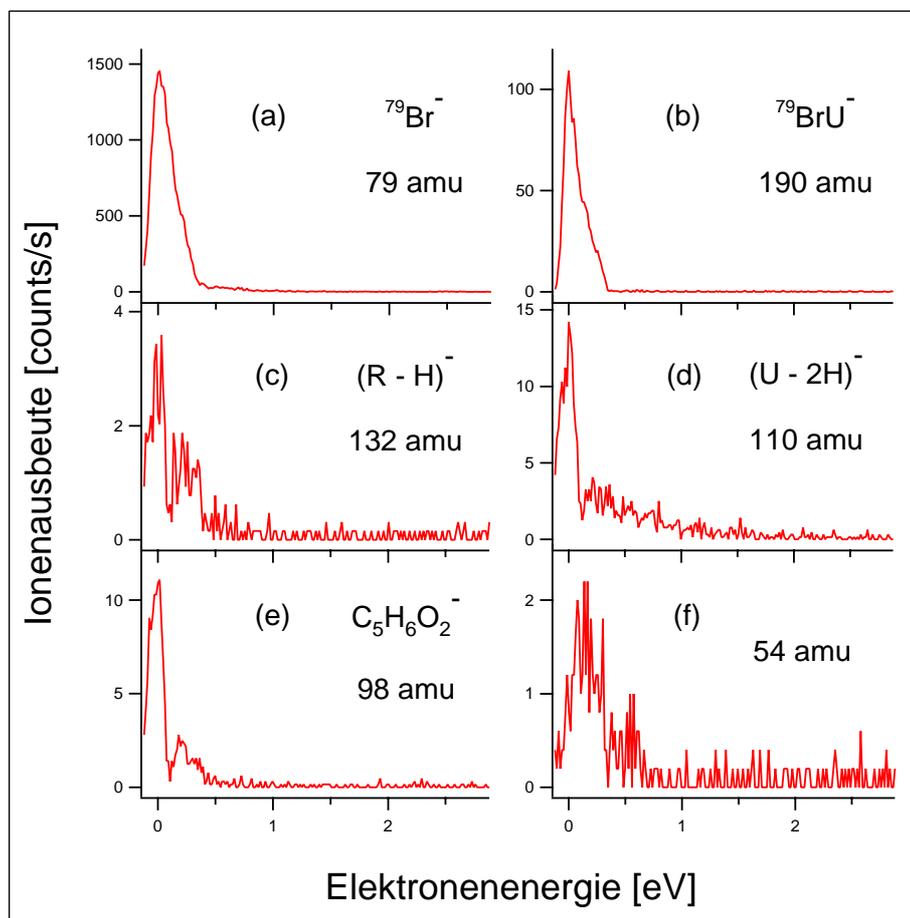


Abbildung 4.18. Die Ionenausbeutekurven der Bromuridinfragmente mit 79 amu, 190 amu, 132 amu, 110 amu, 98 amu und 54 amu im Energiebereich bis etwa 3 eV. Die Fragmente mit 79 und 190 amu enthalten ^{79}Br . Für ^{81}Br bei 81 und 192 amu ergeben sich folglich gleiche Spektren.

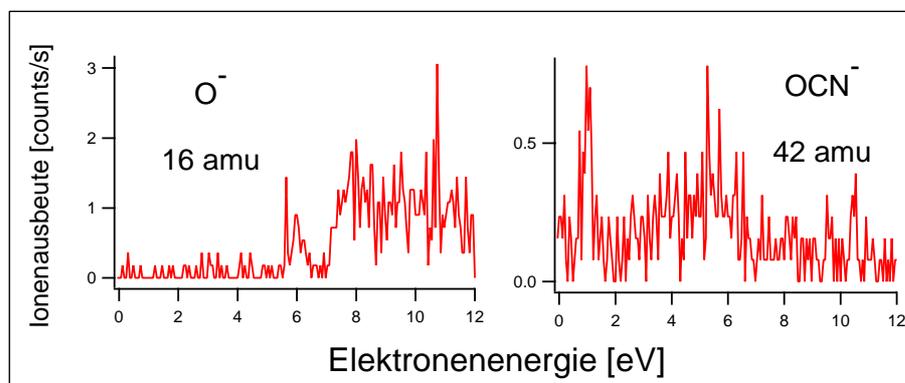


Abbildung 4.19. Die Ionenausbeutekurven der Bromuridinfragmente mit 16 und 42 amu im Energiebereich bis etwa 12 eV.

getrieben. Außerdem besitzt Brom eine relativ hohe Polarisierbarkeit von $3.05 \cdot 10^{24} \text{ cm}^3$ [110].

Als zweitstärkste Dissoziation ergibt sich der Bruch der Bindung von der Ribose zur halogenierten Nucleobase. Im Falle von ^{79}Br wurde dabei von Abdoul-Carime *et al.* irrtümlich als Ergebnis ein $(^{79}\text{BrU} - \text{H})^-$ -Anion (189 amu) erwähnt. Messungen aus Innsbruck zeigen allerdings eine um 1 amu höhere Masse, d. h. es entsteht das $^{79}\text{BrU}^-$ -Anion (190 amu). Nach Bindungsbruch muß also ein Wasserstoffefang des $(^{79}\text{BrU} - \text{H})^-$ -Fragments folgen (Abb. 4.18 (b)).

Mit sehr geringer Intensität konnte weiterhin die Masse 132 amu (Spektrum (c) in Abb. 4.18) detektiert werden. Eine mögliche Erklärung ist ein R-BrU-Bindungsbruch mit der Lokalisation des überschüssigen Elektrons auf der Zuckershälfte und begleitender Wasserstoffabstraktion der Ribose.

Das anionische Fragment der Masse 110 amu (Abb. 4.18 (d)) entspricht formal einem $(\text{U} - 2\text{H})^-$ -Anion, also einem um zwei Wasserstoffatome ärmeren Uracilmolekül. Im Falle des Bromuridins muß demzufolge die Br-U- und R-BrU-Bindung dissoziieren. Deniff *et al.* beobachteten neben diesem noch ein $(\text{U} - \text{H})^-$ - (111 amu) und ein U^- -Anion (112 amu) mit ähnlichen Ionen-

ausbeutekurven. Abdoul-Carime *et al.* vermuteten hinter der Masse 110 amu unzutreffend ein bromhaltiges Anion [22].

Ein Anion der Masse 98 amu (Abb. 4.18 (e)) kann durch den Verlust eines Wassermoleküls und eines Hydroxylradikals der Zuckerhälfte gebildet werden. Das so entstehende Fragment hat die Summenformel $C_5H_6O_2^-$. Dieses Fragment stellte sich bereits im behandelten Thymidin und bei Messungen an 2-Desoxyribose als dominantester Zerfallskanal heraus und wurde auch dort bei Energien nahe 0 eV beobachtet [76].

Bei höheren Elektronenenergien konnten wir überdies die Fragmente OCN^- (42 amu) und O^- (16 amu) ermitteln (Abb. 4.19).

4.5.3 Betrachtung und Vergleich

Für den prominentesten Dissoziationskanal (Gl. (4.27)) konnten wir einen Wirkungsquerschnitt in der Größenordnung von $\approx 10^{-14} \text{ cm}^2$ ermitteln. Dieser ist mit dem für die Entstehung von Br^- aus 5-Bromuracil festgestellten vergleichbar [104]. Der größte Wirkungsquerschnitt einer DEA-Reaktion von Uracil in der Gasphase ($\rightarrow (U - H)^-/U$) liegt demgegenüber etwa 2 Größenordnungen niedriger [58]. Eine weitere Gemeinsamkeit mit dem isolierten halogenierten Uracil stellt die Beobachtung eines Muttermolekülanions von BrUrd dar [103, 104, 108]. Im unhalogenierten Uracil wurde hingegen ein dehydrogeniertes Muttermolekülanion festgestellt [58].

Im BrU wurde darüber hinaus auch die der Reaktion (4.27) komplementäre Möglichkeit beobachtet, d. h. die Lokalisierung des Exzeßelektrons auf dem Nucleobasenteil, ohne daß es zu weiteren Bindungsbrüchen kommt ($\rightarrow (U - H)^-/BrU$). Im BrUrd hätte ein durch eine solche einfache Dissoziation gebildetes Anion ($(BrUrd - Br)^-/BrUrd$) eine Masse von 243 amu. Diese konnte jedoch nicht von uns oder Denifl *et al.* gefunden werden.

Positive Massenspektren von 5-Bromuridin und Uridin ergeben für das Aufttrittspotential beider Muttermolekülkationen eine nahezu gleiche Energie ($9.01 \pm 0.15 \text{ eV}$ bzw. $9.05 \pm 0.15 \text{ eV}$) [108, 111]. Dies legt die Vermutung nahe, daß der Effekt der Radiosensitivität im Falle von 5-Bromuridin vorran-

gig das Ergebnis eines erhöhten Wirkungsquerschnitts gegenüber negativer Ionenbildung ist [108].