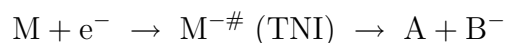


Anhang A

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde ausgeführt, wie monochromatisierte, niederenergetische Elektronen (0–15 eV) in der Gasphase mit einfachen biologischen Bausteinen wie Nucleobasen und Aminosäuren temporäre negative Ionen (TNIs) bilden können. Das so gebildete TNI eines Moleküls M kann über den Mechanismus der dissoziativen Elektronenanlagerung (DEA) zerfallen und nach



Fragmentationen bilden. In der Folge zeigen sich vielfältige und oft sehr effektive Dissoziationsprozesse der Muttermolekülanionen. Vielfach werden derartige Zerfallsabläufe bereits durch deutlich geringere Energien ausgelöst, als sie zu einer einfachen elektronischen Anregung des entsprechenden Moleküls oder einer Dissoziation im neutralen System erforderlich wären. Die Triebkraft dahinter ist die Elektronenaffinität des dem Anion vorangehenden Fragmentes.

Die einleitend erwähnte Tatsache, daß niederenergetische Elektronen zahlreich als Folge der Wechselwirkung von hochenergetischer Strahlung mit biologischer Materie entstehen, stellte die Intention unserer Experimente dar: Nicht die primäre Wirkung der Strahlung ist die entscheidende Quelle der resultierenden Schäden, sondern die hohe Anzahl an reaktiven Folgeprodukten (wie Hydroxylradikale und Sekundärelektronen). Mit den Untersuchungen in

der Gasphase wählten wir eine Methode welche es gestattet, Vermutungen über primäre Schritte in einer komplexen Ereigniskette anstellen zu können, die von ionisierender Strahlung im biologischen Material initiiert wird.

Mit den Nucleobasen, welche gleichsam das Zentrum der DNA bilden, wurde diese Arbeit begonnen. Als wichtigste Ergebnisse lassen sich folgende Punkte nennen:

- Für Adenin, Cytosin und Thymin (T) stellt die Wasserstoffabstraktion bzw. Bildung des um ein Wasserstoffatom ärmeren Muttermolekülanions mit einem abgeschätztem Wirkungsquerschnitt von 10^{-15} cm^2 den intensivsten Zerfallskanal dar. Bei Guanin ist dieser eine Größenordnung niedriger.
- Die experimentell ermittelten Auftrittsenergien dieser Anionen liegen bei 0.5–0.7 eV, ihre Maxima zwischen 1 und 2 eV und somit weit unter einer elektronischen Anregung.

Eine genauere Lokalisation der Abspaltung ist experimentell nicht ohne weiteres möglich. Die Verwendung deuterierter Spezies engt die Zahl der Abstraktionspositionen jedoch ein, da sich nun Unterschiede in der detektierten Masse ergeben können. Für an den Kohlenstoffpositionen deuteriertes Thymin (T_D , 130 amu) ergab sich folgendes Bild:

- Die Ionenausbeutekurve der Masse 129 amu, die einer H-Abstraktion entspricht ($(T_D - H)^- / T_D$), stimmt mit der des nicht deuterierten Thymins ($(T - H)^- / T$) überein.
- Bei 128 amu, was einer Abspaltung eines Deuteriumatoms entspräche, wurden keine Anionen detektiert. Eine elektroneninduzierte Wasserstoffabstraktion muß im Thymin also exklusiv an einer der beiden Stickstoffpositionen stattfinden.
- Eine H-Abspaltung an den Kohlenstoffatomen ist zwar ab etwa 1.6 eV energetisch möglich, wird jedoch bis 10 eV nicht beobachtet.

Unsere Experimente wurden von einer kooperierenden Arbeitsgruppe auf teilmethyliertes Thymin und Uracil ausgeweitet und zeigten, daß unterhalb 1.4 eV die H-Abstraktion auf das N1-Atom des Thymins beschränkt ist, oberhalb jedoch an N1 und N3 stattfinden kann.

Die Verknüpfung von Thymin an N1 mit Desoxyribose führt zum Nucleosid. Unsere Messungen an Thymidin (Td) bis etwa 3 eV erbrachten folgende Befunde:

- Bei etwa 1.6 eV entsteht $(\text{Td} - \text{H})^- / \text{Td}$. Die Wasserstoffabstraktion findet nach Ladungslokalisierung auf der Thyminhälfte am N3 statt.
- Ein Bruch der C1–N1-Bindung zwischen Desoxyribose und Nucleobase tritt bei etwa 1.2 eV ein und liefert die um zwei H ärmere anionische Zuckerhälfte.
- Die Beobachtung eines $(\text{T} - \text{H})^- / \text{Td}$ -Fragmentes in dem von uns untersuchten Energiebereich ist vermutlich auf vorherige thermische Spaltung der C1–N1-Bindung zurückzuführen.
- Ein in der Literatur postulierter Ladungstransfer vom Anion der Nucleobase zum DNA-Rückgrat findet nicht statt.

Diese Schlußfolgerungen entstanden durch Zusammenarbeit mit einer anderen Arbeitsgruppe, die unsere Messungen verfeinerte und auf einen größeren Energiebereich ausweitete. So zeigte sich dort, daß durchaus auch ein $(\text{T} - \text{H})^-$ -Anion aus unzersetztem Td entsteht, allerdings erst bei einer höheren Elektronenenergie (ab 5.5 eV).

Im Zusammenhang mit den Untersuchungen an Thymin stellten wir in der Ionenausbeute $(\text{T} - \text{H})^- / \text{T}$ ein Signal bei nahe 0 eV fest. Diese DEA-Reaktion sollte jedoch bei solcher Energie nicht zugänglich sein. Weitere Experimente ergaben:

- Die Intensität des 0 eV-Signals nimmt zu, wenn der Partialdruck des permanent anwesenden Eichgases Schwefelhexafluorid erhöht wird. Ohne SF_6 entsteht bei 0 eV hingegen kein $(\text{T} - \text{H})^- / \text{T}$.

- Adenin und Glycin zeigen nahe 0 eV ähnliche Abhängigkeiten in der Ionenausbeute ihrer um ein Wasserstoff ärmeren Muttermolekülanionen.
- Die Ursache wird von uns in einer Ion-Molekül-Reaktion vom SF_6^- -Anion mit dem jeweiligen Muttermolekül vermutet, bei der zusätzlich HF und SF_5 entstehen.

Das im Zuge von Forschungen zur Wirkungsweise von Radiosensibilisatoren vielfach untersuchte 5-Bromuracil (5-BrU) zeigt im Vergleich zum Uracil eine um zwei Größenordnungen höhere Sensitivität gegenüber dissoziativer Elektronenanlagerung. Wir weiteten diese Studien auf das Nucleosid 5-Bromuridin (5-BrUrd) aus, in welchem 5-BrU mit Ribose verknüpft ist:

- Als intensivster Reaktionskanal zeigt sich die Entstehung von Br^- nach Elektronenanlagerung nahe 0 eV. Dies ist vergleichbar mit den Beobachtungen im 5-BrU.
- Der C-N-Bindungsbruch zwischen 5-BrU und dem Zucker, begleitet von der Lokalisation der Ladung auf der halogenierten Nucleobase, stellt den zweithäufigsten Weg. Auch dieser findet nahe 0 eV statt.

Dieses und andere Experimente legen die Vermutung nahe, daß der Effekt ähnlich gebauter Radiosensibilisatoren wesentlich die Folge eines erhöhten Wirkungsquerschnitts gegenüber dem Einfang niederenergetischer Elektronen ist.

Als Ergänzung zu den DNA-Bausteinen sind die Messungen an Aminosäuren zu sehen. Die Betrachtung ihrer Zerfallswege ist insbesondere in dem Kontext interessant, daß bei DNA-nahen Proteinen protektive Funktionen diskutiert werden. In der Tat sind auch bei Aminosäuren effektive Dissoziationsmechanismen beobachtbar, die eine Art Beseitigung von niederenergetischen Elektronen bewirken könnten. Doch wären damit auch weitere Folgeprodukte verbunden, die ihrerseits Auslöser mutagener Reaktionen sein können. Für die von uns untersuchten Aminosäuren fanden sich als bemerkenswerteste die folgenden Ergebnisse:

- In partiell deuteriertem Glycin- N, N, O - d_3 (Gly_D) ist die Wasserstoffabstraktion, die in undeuteriertem Glycin den intensivsten DEA-Kanal darstellt, nun weiter differenzierbar und stellt sich als energieabhängig heraus. Bei etwa 1.2 eV findet D-Abspaltung am Carboxylkohlenstoff oder Stickstoff statt, bei etwa 5.1 eV hingegen wird H bevorzugt am Methylenkohlenstoff abstrahiert.
- Bei der schwefelhaltigen Aminosäure Cystein wird S^- unerwartet unterhalb von 4 eV beobachtet. Dies kann indes mit einer begleitenden Konversion von Cystein zu Alanin erklärt werden.
- Die Aminosäure Tryptophan (Trp) zeigt sowohl in reiner als auch in acetylierter Form (N -Acetyltryptophan, NAT) deutliche DEA-induzierte Zerfallserscheinungen. Im Trp ist die Entstehung des anionischen Fragmentes der Masse 45 amu der dominante Kanal. Im NAT herrscht der Bruch zwischen der Methylenindoleinheit und dem acetylierten Glycinrest vor, der dann die negative Ladung trägt.

