

УДК 541.15

ХИМИЯ

Член-корреспондент АН СССР Н. К. КОЧЕТКОВ, Л. И. КУДРЯШОВ,
М. А. ЧЛЕНОВ, Л. П. ГРИНЕВА

1,6-ГЛЮКОДИАЛЬДОЗА — ОДИН ИЗ ПРОДУКТОВ РАДИОЛИЗА D-ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТА

Соединения, содержащие фосфоэфирную связь, широко распространены в природе (нуклеиновые кислоты, фосфаты сахаров и др.). В связи с этим изучение радиолиза веществ, которые содержат в своем составе фосфатные группы, представляет существенный интерес. Известно (^{1, 2}), что превращение этих соединений под действием радиации протекает главным образом по двум направлениям: одно из них — разрыв фосфоэфирной связи с образованием неорганического фосфата и соединений, не содержащих фосфора; другое — модификация исходного вещества, приводящая к образованию «лабильных» или просто отличающихся от исходного фосфата. Одним из возможных подходов к выяснению механизма первого из этих процессов является изучение строения не содержащих фосфора — «нейтральных» соединений, образующихся в процессе радиолиза. Настоящая работа посвящена установлению строения и оценке количественного вклада одного из главных нейтральных продуктов радиолиза динатриевой соли D-глюкозо-6-фосфата, являющегося одной из простейших моделей природных соединений, содержащих фосфоэфирную связь.

Ранее было показано (³), что главными нейтральными продуктами радиолиза D-глюкозо-6-фосфата являются соединения с $R_{\text{Гл}}$ 1,8 и 2,8 (система I, см экспериментальную часть), названные соединениями A и B соответственно. На основании качественных реакций было показано, что вещество A является восстанавливющим сахаром, не содержащим дезоксизеиньев и лактонной группы. На это указывает отрицательная проба на хроматограммах на бумаге со специфическими реагентами на дезоксисахара (⁴) и лактоны (⁵), и отсутствие подвижности при электрофорезе при нанесении щелочного раствора. При восстановлении вещества A натрий боргидридом было получено соединение A₁, идентичное по хроматографической подвижности в нескольких системах сорбита. Ацетат соединения A₁ по данным газо-жидкостной хроматографии (г.ж.х.) отличался от ацетатов маннита и дульцита, но совпадал с ацетатом сорбита. Окончательный вывод о строении ацетата A₁ сделан после масс-спектрометрического исследования. В масс-спектре ацетата A₁ присутствовали первичные фрагменты всех известных серий, характерных для ацетатов гекситолов (⁶), ионы с m/e 375, 361, 289, 217 и др. Фрагментация этих ионов соответствовала известной из литературы. Таким образом было доказано, что при восстановлении вещества A образуется полиол A₁, идентичный сорбиту.

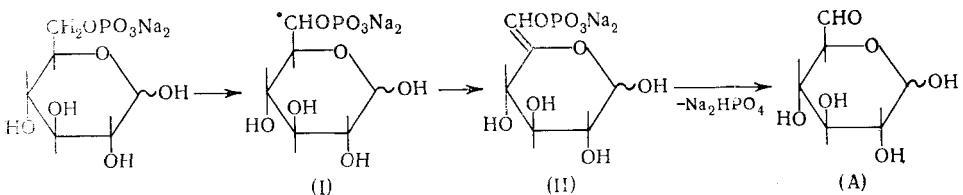
Для полного установления строения вещества A, необходимо было выяснить количество и положение восстанавливающих групп. Для этой цели соединение A восстановлено патрийбордейтеридом, а полученный полиол ацетилирован. Масс-спектр ацетата дейтерированного полиола отличался характерным сдвигом главных пиков ионов от масс-спектра ацетата A₁. Так, наличие иона с m/e 377 (M—59) и серии VI (⁶), образующейся при отщеплении от этого иона молекул уксусной кислоты и кетена (m/e 316, 274, 214 и др.), однозначно указывало на наличие в молекуле двух атомов дейтерия. Наличие в масс-спектре этого соединения ионов с m/e 362, 290, 218, а также всех ионов серий V (m/e 260, 218, 200, 176

и др.), IV (m/e 204, 188, 170 и др.) и III (m/e 176, 158, 116 и др.) указывало на симметричное расположение атомов дейтерия в положениях 1 и 6 молекулы полиола. Из этих данных однозначно следовало, что вещество А имеет в своем составе две альдегидные группы в положениях 1 и 6, и на основании всех приведенных результатов имеет строение 1,6-глюкодиальдозы.

Оценка количества 1,6-глюкодиальдозы, образующейся при радиолизе D-глюкозо-6-фосфата, была проведена методом добавок при помощи г.ж.х. Показано, что это соединение при облучении, например, в атмосфере закиси азота (доза $5,8 \cdot 10^{19}$ эв/мл) образуется в количестве 30% от общей суммы «нейтральных» продуктов радиолиза и радиационно-химический выход его образования равен $\sim 0,3$ молекул на 100 эв. Следует отметить, что определенная в этих условиях при помощи глюкозоксидазы (³) глюкоза образуется с выходом 0,05 молекул и составляет 5% от общей суммы нейтральных продуктов. Таким образом, в случае D-глюкозо-6-фосфата разрыв фосфоэфирной связи под действием радиации в значительной степени сопровождается окислением у атома углерода, который был связан с фосфатной группой. Вклад процессов, аналогичных химическому гидролизу, сравнительно невелик.

Облучение D-глюкозо-6-фосфата в различных условиях — в атмосфере закиси азота, азоте и кислороде и сравнение общего состава смеси нейтральных сахаров (после их восстановления и ацетилирования) методом г.ж.х. показало, что 1,6-глюкодиальдоза во всех случаях является одним из главных продуктов радиолиза. Причем количество ее при облучении в атмосфере закиси азота возрастает по сравнению с облучением в азоте. Совокупность этих данных говорит в пользу того, что образование 1,6-глюкодиальдозы протекает при участии радикала OH.

На основании установления строения 1,6-глюкодиальдозы, которая образуется как один из главных нейтральных продуктов радиолиза, и данных об условиях его образования, можно предположить, что один из наиболее вероятных механизмов разрыва фосфоэфирной связи в D-глюкозо-6-фосфате под действием γ -излучения следующий:



При взаимодействии исходной молекулы фосфата сахара с радикалом OH образуется свободный радикал I с локализацией свободной валентности, вероятно, у C₆ (¹), хотя не исключена возможность локализации и у C₅ (⁷). Диспропорционирование этого радикала дает наряду с исходным соединением, фосфат еполя II, который может легко гидролизоваться в процессе облучения или при последующей обработке (¹), давая 1,6-глюкодиальдозу (А) и динатриевую соль фосфорной кислоты. Предложенный механизм нуждается в более строгом доказательстве и дальнейшем уточнении, однако данные, полученные в настоящей работе, в значительной степени говорят в его пользу.

Экспериментальная часть

Хроматографическое исследование и электрофорез проводили на бумаге Whatman № 2 и 3, хроматография проводилась в системах:- I пиридин : бутанол : вода = 4 : 6 : 3, II этанол : вода = 95 : 5, III бутанол : этанол : вода = 3 : 2 : 2; электрофорез — в пиридин-ацетатном буфере pH 4,5, $v = 900$ в, 2 часа. Масс-спектрометрическое исследование проводили на приборе CH-6 Varian MAT с прямым вводом образца в ионный источник

при энергии ионизирующих электронов 70 эв, температуре ионного источника 180—190°, ионизирующем токе 100 мА и температуре системы напуска 120° С. Г.ж.х. проводили на приборе фирмы «Руе», колонка с 3% ECNSS-M на Gas Chrom-Q, температура 183° С.

Облучению γ -лучами Co^{60} (м.д. = $6,5 \cdot 10^{16}$ эв/мл·сек) подвергали $10^{-2} M$ водные растворы динатриевой соли D-глюкозо-б-фосфата (препарат фирмы «Reanal»), с содержанием неорганического фосфата меньше 1%, насыщенные при комнатной температуре очищенными азотом, кислородом или закисью азота.

Выделение вещества А. З л $10^{-2} M$ облученного раствора D-глюкозо-б-фосфата (закись азота, доза $5,8 \cdot 10^{19}$ эв / мл) в течение 20 мин. последовательно обрабатывали 250 мл ионообменных смол Дауэкс 1 × 8 (HCO_3^- -форма) и Дауэкс 50 (H^+ -форма). Окончательно следы фосфатов отделяли путем препаративного электрофореза. Из полученной суммы «нейтральных» сахаров — 0,570 г соединение А (70 мг) было выделено путем многократной препаративной хроматографии на бумаге в системах I и II. R_{gl} (система I) = 1,8, R_{gl} (система II) = 1,3.

Восстановление вещества А и ацетилирование полученного полиола проводили аналогично (*). Затем исследовали методом г.ж.х.

Масс-спектр ацетата А₁*: m/e 377(0), 375(0,4), 362(0), 361(1,7), 290(1,5), 289(4,6), 260(1,0), 259(3,9), 218(1,6), 217(6,2).

Масс-спектр ацетата дейтерированного полиола А*: m/e 377(0,4), 375(0), 362(2,5), 361(0,2), 290(5,4), 289(0,8), 260(4,2), 259(0,5), 218(6,9), 217(1,2).

Количественное определение вещества А в облученных растворах. 1) К 10 мл облученного раствора D-глюкозо-б-фосфата (доза $5,8 \cdot 10^{19}$ эв / мл) добавляли 0,1 мл раствора галактозы (3,6 мг/мл), раствор обрабатывали ионообменными смолами аналогично описанному выше, восстанавливали и ацетилировали. Полученную смесь ацетатов исследовали методом г.ж.х. Концентрацию сорбита определяли по формуле $C_1 / C_2 = S_1 / S_2 \cdot K$, где S_1 — площадь пика сорбита, S_2 — площадь пика дульциита, а C_1 и C_2 — соответствующие концентрации. Было найдено, что при соотношениях концентраций сорбита и дульциита от 2 : 1 до 1 : 2, коэффициент K имеет значение 1,12.

2) 10 мл облученного той же дозой раствора D-глюкозо-б-фосфата обрабатывали ионообменными смолами, а затем «нейтральные» продукты восстанавливали и ацетилировали. Остаток растворяли в 0,3 мл хлороформа и добавляли 0,1 мл раствора гексаацетата дульциита (1,6 мг/мл). Полученную смесь ацетатов исследовали методом г.ж.х. Концентрацию сорбита определяли по той же формуле.

Сходные результаты по методу 2 были получены в том случае, когда сумма «нейтральных» продуктов выделялась путем препаративного электрофореза на бумаге, с аналогичной последующей обработкой.

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского
Академии наук СССР
Москва

Поступило
9 VIII 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ R. W. Wilkinson, T. F. Williams, J. chim. phys., **52**, 600 (1955). ² M. Daniels, G. Scholes, J. Weiss, J. Chem. Soc., **1956**, 377. ³ Н. К. Кошечков, Л. И. Кудряшов и др., ЖОХ, **41**, № 11 (1971). ⁴ J. T. Edward, D. M. Waldron, J. Chem. Soc., **1952**, 3631. ⁵ M. Abdel-Alheimer, F. Smith, J. Am. Chem. Soc., **73**, 5859 (1961). ⁶ N. K. Kochetkov, O. S. Chizov, Adv. in Carb. Chem., **21**, 39 (1966). ⁷ G. Scholes, W. Taylor, J. Weiss, J. Chem. Soc., **1957**, 240. ⁸ Н. К. Кошечков, Л. И. Кудряшов, М. А. Членов, ЖОХ, **38** С, 79 (1968).

* В скобках — интенсивность пика данного иона в процентах от суммарной интенсивности всех ионов.