

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, представляют существенный интерес. Известно <sup>(1, 2)</sup>, 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 <sup>(3)</sup>, 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 А и В соответственно. На основании качественных реакций было показано, что вещество А является восстанавливающим сахаром, не содержащим дезокси- и лактонной группы. На это указывает отрицательная проба на хроматограммах на бумаге со специфическими реагентами на дезоксисахара <sup>(4)</sup> и лактоны <sup>(5)</sup>, и отсутствие подвижности при электрофорезе при нанесении щелочного раствора. При восстановлении вещества А натрий боргидридом было получено соединение А<sub>1</sub>, идентичное по хроматографической подвижности в нескольких системах сорбиту. Ацетат соединения А<sub>1</sub> по данным газо-жидкостной хроматографии (г.ж.х.) отличался от ацетатов маннита и дульцита, но совпадал с ацетатом сорбита. Окончательный вывод о строении ацетата А<sub>1</sub> сделан после масс-спектрометрического исследования. В масс-спектре ацетата А<sub>1</sub> присутствовали первичные фрагменты всех известных серий, характерных для ацетатов гекситов <sup>(6)</sup>, 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 А образуется полиол А<sub>1</sub>, идентичный сорбиту.

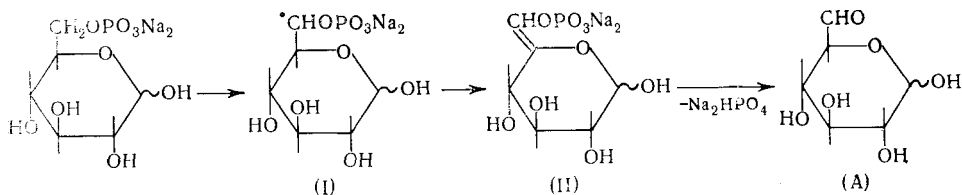
Для полного установления строения вещества А, необходимо было выяснить количество и положение восстанавливающих групп. Для этой цели соединение А восстановлено натрийбордегидридом, а полученный полиол ацетилирован. Масс-спектр ацетата дейтерированного полиола отличался характерным сдвигом главных пиков ионов от масс-спектра ацетата А<sub>1</sub>. Так, наличие иона с  $m/e$  377 ( $M-59$ ) и серии VI <sup>(6)</sup>, 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, 146 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-глюкодигальдозы.

Оценка количества 1,6-глюкодигальдозы, образующейся при радиоллизе 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 глюкоксидазы <sup>(3)</sup> 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-глюкодигальдоза 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-глюкодигальдозы протекает при участии радикала OH.

На основании установления строения 1,6-глюкодигальдозы, 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  $\gamma$ -излучения следующий:



При взаимодействии исходной молекулы фосфата сахара с радикалом OH образуется свободный радикал I с локализацией свободной валентности, вероятно, у  $\text{C}_6$  <sup>(4)</sup>, хотя не исключена возможность локализации и у  $\text{C}_5$  <sup>(5)</sup>. Диспропорционирование этого радикала дает наряду с исходным соединением, фосфат енола II, который может легко гидролизироваться в процессе облучения или при последующей обработке <sup>(4)</sup>, давая 1,6-глюкодигальдозу (A) 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°, понижающем токе 100 мк и температуре системы напуска 120° С. Г.ж.х. проводили на приборе фирмы «Руе», колонка с 3% ECNSS—М на Gas Chrom-Q, температура 183° С.

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

Выделение вещества А. 3 л  $10^{-2}$  М облученного раствора D-глюкозо-6-фосфата (закись азота, доза  $5,8 \cdot 10^{19}$  эв/мл) в течение 20 мин. последовательно обрабатывали 250 мл ионообменных смол Дауэкс  $1 \times 8$  ( $\text{HCO}_3^-$ -форма) и Дауэкс 50 ( $\text{H}^+$ -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.  $R_{\text{г.л}}$  (система I) = 1,8,  $R_{\text{г.л}}$  (система II) = 1,3.

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

Масс-спектр ацетата А\*:  $m/e$  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-6-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 дульцита, а  $C_1$  и  $C_2$  — соответствующие концентрации. Было найдено, что при соотношениях концентраций сорбита и дульцита от 2 : 1 до 1 : 2, коэффициент  $K$  имеет значение 1, 12.

2) 10 мл облученного той же дозой раствора D-глюкозо-6-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 дульцита (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

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

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