

УДК 547.91

ХИМИЯ

О. С. ЧИЖОВ, В. И. КАДЕНЦЕВ, А. А. СОЛОВЬЕВ, В. В. БИНКЛИ,
Дж. Д. РОБЕРТС, Р. ДОГЕРТИ

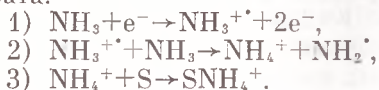
МАСС-СПЕКТРЫ АЦЕТАТОВ ОЛИГОСАХАРИДОВ, ПОЛУЧЕННЫЕ МЕТОДОМ ПРИСОЕДИНЕНИЯ АММОНИЙНОГО ИОНА

(Представлено академиком Ю. А. Овчинниковым 25 VII 1973)

В последние годы масс-спектрометрия была с успехом применена для установления структуры олигосахаридов (1). Однако применявшаяся в этих исследованиях техника ионизации электронным ударом (э.у.) не позволяла получать достаточно интенсивные пики M^+ -иона и наиболее тяжелых фрагментов для обычно употребляемых летучих производных олигосахаридов (ацетатов, метиловых и триметилсилиловых эфиров), что снижало аналитическую ценность содержащейся в масс-спектрах информации. Для преодоления этих трудностей было предложено использовать особые типы производных олигосахаридов с низкими потенциалами ионизации (2, 3). В появившихся недавно работах (4, 5), содержались данные, показывающие, что этих трудностей можно избежать с помощью мягких методов ионизации: ионизации полем (и.п.) (4), десорбции полем (д.п.) (4) или химической ионизации (х.и.) (5).

Наши предварительные опыты показали, что использование в качестве газа-реагента изобутана не дает существенных преимуществ перед э.у. Интенсивности пиков наиболее тяжелых фрагментов были обычно низки, в спектрах преобладал тетраацетилгликозильный ион (m/e 331), который доминирует и в спектрах э.у.

Присоединение аммонийного иона является одной из наиболее мягких форм химической ионизации. В условиях химической ионизации с аммиаком происходят следующие первичные реакции: 1) ионизация, 2) диспропорционирование и 3) присоединение аммонийного иона к молекуле субстрата:



Для субстратов с более высоким сродством к протону, чем у аммиака, может происходить (и действительно происходит) перенос протона к субстрату. Однако в случае ацетатов олигосахаридов единственными ионами, которые обнаруживаются в спектрах, являются комплексы аммонийного иона (к.а.и.), т.е. $(M + \text{NH}_4)^+$ и фрагментные ионы с четным числом электронов.

Нами были исследованы масс-спектры х.и. полных ацетатов следующих олигосахаридов: маннобиозы (1), софорозы (2), ламинарибиозы (3), мальтозы (4), целлобиозы (5), мелибиозы (6), генциобиозы (7), сахарозы (8), 3-О-(α , D -глюкопиранозил-1)- α , β , D -арабинопиранозы (9), 6-О-(α , L -арабинопиранозил-1)- α , β , D -глюкопиранозы (10), маннотриозы (11), ламинатриозы (12), 1-кестозы (13), плантеозы (14), раффинозы (15), целлотрипта (16), манпотетраозы (17), ламинаритетраозы (18), стахиозы (19), нистозы (20), маннопентаозы (21), ламинарипентаозы (22).

Все спектры химической ионизации снимались на масс-спектрометре AEI MS 902, снабженном ионным источником для химической ионизации S.R.I.C. и кварцевым манометром, при температуре 250° С, с использованием

смеси аммиака и изобутана в соотношении 2:1 в качестве газов-реагентов, при общем давлении 40 н/м² (ср. (5-7)).

В полученных в этих условиях масс-спектрах х.и. ацетатов дисахаридов (1)–(10), трисахаридов (11), (13)–(16) и тетрасахарида (19) наиболее интенсивный пик в области высоких масс принадлежит к.а.и. За исключением 3 случаев пик к.а.и. был основным в спектре. В спектрах ацетатов ламинаритриозы (12), тетрасахаридов (17), (18), (20) и пентасахаридов (21), (22) пик этого иона имеет низкую интенсивность или вообще отсутствует.

Возможно, молекулы этих веществ претерпевают термический распад в конденсированной фазе еще до испарения.

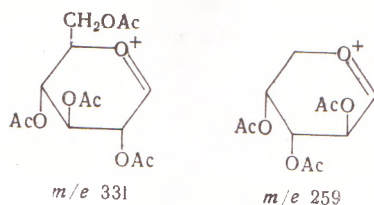
Наряду с к.а.и. в масс-спектрах х.и. некоторых из полученных соединений наблюдаются кластер-ионы с более высокими массовыми числами. Так, в спектрах соединений (1), (3), (11) присутствуют пики ионов $(M+Ac_2O+NH_4)^+$ и $(M+2Ac_2O+NH_4)^+$, а в спектрах (5)–(11), (17)–(19) — пики ионов $(M+C_4H_{10})^+$ и (или) $(M+C_4H_8)^+$, которые имеют среднюю или низкую интенсивность. Однако они легко отличимы от к.а.и. и их присутствие не создает трудностей при анализе веществ с неизвестной структурой.

В целом, в масс-спектрах х.и. ацетатов олигосахаридов доминируют комплексы аммонийного иона с молекулами и их термическими фрагментами. Удобным примером для иллюстрации является полный ацетат стахиозы. В области спектра выше пика тетраацетилгликозильного иона (m/e 331) в этом случае 6 наиболее интенсивных ионов представляли собой $(M+NH_4)^+$, m/e 1272 (100%); (трисахаридацетат+ NH_4)⁺, m/e 984 (63%); (дисахаридацетат+ NH_4)⁺, m/e 696 (41%); (дисахаридацетат+ NH_4-CH_2CO)⁺, m/e 654 (31%); (моносахаридацетат+ NH_4)⁺, m/e 408 (12%) и (моносахаридацетат+ NH_4-CH_2CO)⁺, m/e 366 (30%). При термической фрагментации ацетатов высших олигосахаридов образуются как ацетаты низших олигосахаридов, так и фрагменты, соответствующие ацетатам низших олигосахаридов, потерявшим молекулы кетена, уксусной кислоты или уксусного ангидрида. Например, спектр х.и. стахиозы содержит фрагмент с m/e 594 (6%), который соответствует аммонийному комплексу ацетата дисахарида, потерявшему молекулу уксусного ангидрида.

По-видимому, при термической фрагментации олигосахаридной цепи преимущественно образуются ацетаты низших сахаров, содержащие восстановливающий конец цепи.

Так, в спектре х.и. (10) имеется ион с m/e 408 (1,1%), соответствующий к.а.и. гексоацетата, в то время как в спектре (9) этот ион отсутствует. Спектр целлотрипта содержит интенсивный ион с m/e 740 (10%), соответствующий к.а.и. нонацетата глюкозилсорбита, причем соответствующий ион с m/e 696, возникающий при термической фрагментации из другого конца цепи, имеет незначительную интенсивность.

Фрагментация, вызванная процессами х.и., также имеет место. Образование к.а.и. является слабозкотермическим процессом, что объясняет преобладание $(M+NH_4)^+$ -ионов в спектрах х.и. Термически активированная фрагментация, однако, все же происходит и ведет к селективному расщеплению гликозидных связей и образованию соответствующих гликозильных ионов. Так, в спектре (9) содержится интенсивный ион с m/e 331 (1,8%), в то время как в спектре его изомера (10) содержится ион с m/e 259 (7,3%) и отсутствует ион с m/e 331.



Аналогичные результаты были получены нами и для других ацетатов олигосахаридов. То, что эти ионы образуются в процессах х.и., было подтверждено наличием метастабильных пиков распада ионов $(M+NH_4)^+$ на соответствующие фрагменты. Например, спектр целлотриита (16), содержит широкие метастабильные пики с m/e 106,6 и m/e 372,7, соответствующие переходам m/e 1028 \rightarrow m/e 331 и m/e 1028 \rightarrow m/e 619, т.е. образование ацетатов гликозильных и дигликозильных ионов соответственно.

Таким образом, наличие пиков к.а.и. в масс-спектрах х.и. ацетатов олигосахаридов (вплоть до тетрасахаридов) позволяет непосредственно измерять их молекулярный вес, а наличие пиролитических и гликозильных фрагментов дает ценные сведения о моносакхаридном составе и о последовательности моносакхаридных единиц в углеводной цепи, если эти единицы не изомеры. Наиболее удобными, с этой точки зрения, должны быть ацетаты гликозилполиолов. Однако масс-спектры х.и. ацетатов олигосахаридов не содержат характеристических фрагментов, позволяющих определять положение гликозидных связей между моносакхаридными единицами. Эти данные могут быть получены из масс-спектров э.у. (1). Таким образом, совместное рассмотрение масс-спектров э.у. и х.и. одного и того же образца позволило бы полнее и с большей степенью достоверности охарактеризовать олигосахарид с неизвестной структурой.

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

Поступило
20 VII 1973

Нью-Йоркская сахарная коммерческая лаборатория
Кларк, Нью Джерси, США

Флоридский университет
Таллахасси, США

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ N. K. Kochetkov, O. S. Chizhov, A. F. Bochkov, MTP Rev. Sci. ser. 1, v. 7, 1973, p. 147. ² G. S. Johnson, W. S. Ruliffson, R. G. Cooks, Chem. Commun., 1970, 587; Carbohydrate Res., v. 18, 233, 243 (1971). ³ O. S. Chizhov, N. K. Kochetkov et al., Org. Mass Spectrom., v. 5, 1145, 1157 (1971). ⁴ H. Krone, H. D. Beckey, Org. Mass Spectrom., v. 2, 427 (1969); v. 5, 983 (1971). ⁵ A. M. Hogg, T. L. Nagabhushan, Tetrahedron Letters, 1972, 4827. ⁶ A. M. Hogg, P. Kebarle, J. Chem. Phys., v. 43, 449 (1965). ⁷ M. S. Wilson, I. Dzidic, J. A. McCloskey, Biochim. et biophys. acta, v. 240, 623 (1971).