



УДК 547.458 : 543.42

МАСС-СПЕКТРЫ БОМБАРДИРОВКИ УСКОРЕННЫМИ АТОМАМИ АМИНООЛИГОСАХАРИДОВ

Елькин Ю. Н., Кипрель Ю. А., Виноградов Е. В.*,
Парамонов Н. А.*, Троишков М. Л.**, Аминев И. Х.***

*Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВНЦ
Академии наук СССР, Владивосток;*

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

*** Научно-исследовательский институт молекулярной биологии, Кольцово*

Изучены масс-спектры, полученные бомбардировкой ускоренными атомами олигосахаридов, построенных из N-замещенных производных моно- и диаминосахаров. Показано, что этот метод позволяет надежно определять молекулярные массы аминоолигосахаридов при их содержании в образце, равном 10^{-5} г. В масс-спектрах олигосахаридов, содержащих 5,7-диацетамидо-3,5,7,9-тетрадезоксипонулозоновую кислоту, обнаружены пики ионов, образующихся в результате разрыва гликозидной связи этого моносахарида.

Определение молекулярных масс полярных и термически нестабильных соединений природного происхождения с помощью масс-спектрометрии стало возможным в последние годы благодаря появлению способов ионизации молекул в конденсированной фазе. Метод бомбардировки уско-

Таблица 1

Вторично-эмиссионные масс-спектры соединений (I)–(VIII) *

Приведена интенсивность в процентах

Ионы	I (720)	II (720)	III (722)	IV (722)	V (723)	VI (723)	VII (723)	VIII (709)
[M+H] ⁺	100	100	100	49	100	22	100	100
[M+Na] ⁺	20	—	81	100	19	100	11	53
[M+K] ⁺	11	—	9	22	6	17	5	48
[M+2Na-H] ⁺	—	—	16	54	—	94	—	5
[M+Na+K-H] ⁺	—	—	—	11	—	20	—	7
[M+3Na-2H] ⁺	—	—	—	8	—	8	—	—
[M+H-42] ⁺	8	10	—	—	—	8	37	9

* Цифры в скобках рядом с номером соединения соответствуют его молекулярной массе.

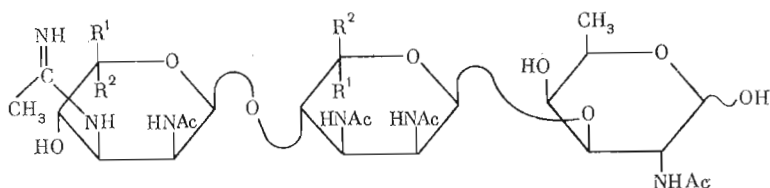
Таблица 2

Вторично-эмиссионные масс-спектры соединений (IX) и (X)

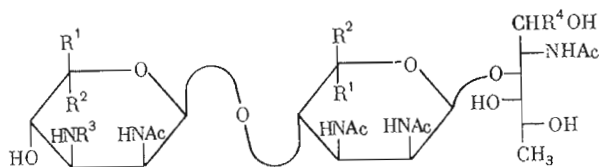
m/z	Интенсивность, %		m/z	Интенсивность, %	
	(IX)	(X)		(IX)	(X)
724	—	6,3	203	8,8	7,5
723	—	37,5	202	12,5	15
722	—	87,5	201	15	10
537	10	—	189	5,0	6,3
536	37,5	—	188	37,5	18,8
535	100	—	187	48,8	25
221	6,3	6,3	171	8,8	6,3
220	12,5	12,5	170	10	25
219	75	100	169	11,3	8,8

ренными атомами (БУА), широко используемый для анализа углеводов [1, 2], позволяет определять не только степень полимеризации олиго- и полисахаридов [3], но в некоторых случаях также последовательность моносахаридов в цепи [4] и их конфигурацию [5], причем возможность анализа зависит от состава и структуры исследуемых объектов [4, 6, 7].

Чтобы выяснить возможность получения структурной информации методом масс-спектрометрии БУА, мы изучили ряд имеющих различный состав аминоклисахаридов (I)–(XI), являющихся фрагментами липополисахаридов бактерий *Pseudomonas aeruginosa* или продуктами химической модификации этих фрагментов [8–10].



- (I) $R^1 = \text{COOH}$, $R^2 = \text{H}$
 (II) $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{COOH}$

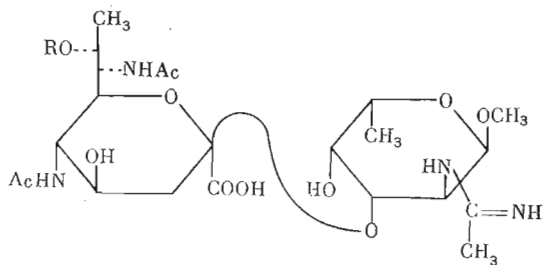


- (III) $R^1 = \text{COOH}$, $R^2 = \text{H}$, $R^3 = \text{CH}_3\text{C}=\text{NH}$, $R^4 = \text{H}$
 (IV) $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{COOH}$, $R^3 = \text{CH}_3\text{C}=\text{NH}$, $R^4 = \text{H}$
 (V) $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{COOH}$, $R^3 = \text{CH}_3\text{C}=\text{NH}$, $R^4 = \text{D}$
 (VI) $R^1 = \text{COOH}$, $R^2 = \text{H}$, $R^3 = \text{Ac}$, $R^4 = \text{H}$
 (VII) $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{COOH}$, $R^3 = \text{Ac}$, $R^4 = \text{H}$
 (VIII) $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{COOH}$, $R^3 = \text{CH}_3\text{CH}_2$, $R^4 = \text{H}$

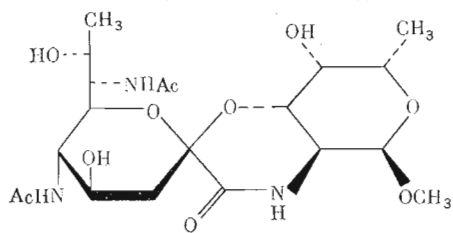
Общей чертой изученных олигосахаридов является наличие в их молекулах нескольких амидных групп, имеющих более высокое сродство к протону, чем гидроксильные группы. Благодаря этому основной пик в масс-спектрах БУА олигосахаридов (I)–(VIII), как правило, принадлежит протонированному молекулярному иону $[M+H]^+$ (табл. 1). Присутствие в образцах примесных катионов щелочных металлов приводит к появлению в их спектрах аддукт-ионов $[M+Na]^+$ и $[M+K]^+$. В спектрах образцов (IV) и (VI) основной пик соответствует иону $[M+Na]^+$ и сопровождается пиками аддукт-ионов моно- и дизамещенных солей соединений (IV) и (VI). Для олигосахаридов (I), (II), (VI)–(VIII) характерны ионы $[M+H-42]^+$, образующиеся скорее всего в результате отрыва молекулы кетена. В спектрах восстанавливающих трисахаридов (I) и (II) присутствует также пик иона $[M+43]^+$ с m/z 763 (интенсивность 16–17% от пика иона $[M+H]^+$), являющегося, по-видимому, аддуктом с ацетил-катионом, а в спектрах гликозилполиолов (VI) и (VII), отличающихся отсутствием основной функции, — пик молекулярного иона с m/z 723 и интенсивностью 70–80% от пика иона $[M+H]^+$. Кроме того, масс-спектры трисахаридов (I) и (II) содержат также низкоинтенсивные пики ионов, соответствующих отрыву от иона $[M+H]^+$ молекул воды и ацетамида.

Полученные результаты показывают, что для олигосахаридов (I)–(VIII) методом масс-спектрометрии БУА могут быть определены только

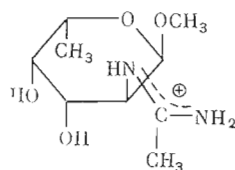
молекулярные массы. Нижний предел детектирования составляет 10^{-5} г.



(IX) R=H
(X) R=2-ацетамидо-2,6-дидезокси- α -D-глюкопиранозил



(XI)



(XII)

m/z 219

Иная картина наблюдается при БУА метилгликозидов дисахарида (IX) и трисахарида (X) (табл. 2). В масс-спектрах этих соединений наряду с пиками ионов $[M+H]^+$ с m/z 535 и 722 соответственно присутствует интенсивный пик иона с m/z 219, для которого наиболее вероятной представляется структура (XII). Образование этого иона возможно вследствие разрыва наименее устойчивой гликозидной связи 5,7-диацетамидо-3,5,7,9-тетрадезоксинулозоновой кислоты, а его устойчивость определяется локализацией заряда на ацетамидиновой группе. Кроме того, спектры соединений (IX) и (X) содержат пики ионов m/z 201 и 187, являющихся продуктами отщепления от иона (XII) молекулы воды и метанола соответственно с образованием двойной связи или 2-имидазолинового цикла.

Таким образом, при БУА олигосахаридов с малоустойчивыми гликозидными связями происходит их разрыв с локализацией положительного заряда на фрагменте восстанавливающего конца олигосахарида.

В масс-спектре БУА дисахарида (XI), в котором моносахаридные остатки соединены как гликозидной, так и амидной связями, как и следовало ожидать, содержится практически только один пик иона $[M+H]^+$ с m/z 476.

Экспериментальная часть

Масс-спектры БУА получены на приборе VG 70/70 HS с источником ускоренных атомов аргона ION TECH (интенсивность пучка 1 мА, энергия 8 кВ, температура мишени $\sim 30^\circ\text{C}$). В качестве матрицы использован глицерин фирмы Serva (ФРГ).

Олигосахариды (I)–(XI) получены как описано в работах [8–10].

Авторы благодарят д-ра хим. наук О. С. Чижова за помощь при обсуждении результатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Reinhold V. N., Carr S. A. Mass Spectrom. Rev., 1983, v. 2, № 1, p. 153–189.
2. Dell A., Taylor G. W. Mass Spectrom. Rev., 1984, v. 3, № 3, p. 357–394.
3. Dell A., Ballou C. E. Carbohydr. Res., 1983, v. 120, p. 95–114.
4. Housell E. F., Madigan M. J., Lawson A. M. Biochem. J., 1984, v. 219, № 3, p. 947–952.
5. Puzo C., Fournie J.-J., Prome J.-C. Anal. Chem., 1985, v. 57, № 5, p. 892–894.
6. Forsberg L. S., Dell A., Walton D. J., Ballou C. E. J. Biol. Chem., 1982, v. 257, № 7, p. 3555–3567.

7. Dell A., Morris H. R., Egge H., van Nicolai H., Strecker G. Carbohydr. Res., 1983, v. 115, p. 41-42.
8. Книрель Ю. А., Виноградов Е. В., Шашков А. С., Дмитриев Б. А., Кочетков Н. К. Биоорг. химия, 1986, т. 12, № 6, с. 848-851.
9. Книрель Ю. А., Парамонов Н. А., Виноградов Е. В., Шашков А. С., Кочетков Н. К. Биоорг. химия, 1986, т. 12, № 7, с. 992-994.
10. Книрель Ю. А., Парамонов Н. А., Виноградов Е. В., Шашков А. С., Дмитриев Б. А., Кочетков Н. К. Биоорг. химия, 1986, т. 12, № 7, с. 995-997.

Поступила в редакцию
19.III.1986

FAST-ATOM-BOMBARDMENT MASS-SPECTRA OF AMINOOLIGOSACCHARIDES

ELKIN Y. N., KNIREL Y. A.*, VINOGRADOV E. V.*, PARAMONOV N. A.*,
TROSHKOV M. L.**, AMINEV I. H.**

*Pacific Ocean Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of
Sciences of the USSR, Vladivostok;*

**N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of
Sciences of the USSR, Moscow;*

***Institute of Molecular Biology, Novosibirsk*

Fast-atom-bombardment mass-spectra of oligosaccharides built up of mono- and diaminosugar derivatives were studied. The method allows reliable determination of molecular masses of amino oligosaccharides in the amount of 10^{-5} g. Oligosaccharides containing 5,7-diacetamido-3,5,7,9-tetraoxynonulosonic acid gave ions resulted from cleavage of glycosidic linkages of this monosaccharide.