Puffer	Meßwert	$m_{\text{HA}} = m_{\text{A}}^9$	m_{Cl}	E' [mV]	$p w H_{\text{Cl}}^*$	pH*
Oxalat-	(a)	0,00667	0,002	500,0	5,93	5,76
	(4)	0,00791	0,002	499,9	5,94	5,79
Succinat-	(a)	0,00667	0,002	674,5	8,88	8,73
	(4)	0,00808	0,00192	677,8	8,91	8,75
Salicylat-	(a)	0,00667	0,002	605,0	7,70	7,55
	(4)	0,008	0,002	605,0	7,69	7,53

Tab. 5. Zur Demonstration der systematischen Fehler.

ionen-Konzentration) nicht möglich. Der durch Gleichsetzen von $p w H_{\text{Cl}}^*$ und $p w H^{0*}$ in Kauf genommene Fehler beträgt nach den Daten von DE LIGNY⁴:

$$F_b = 0,007 \pm 0,002 \text{ pH}^*\text{-Einheiten.}$$

Nach diesen Abschätzungen müßten die pH*-Werte dieser Arbeit (a) generell ca. 0,007 pH*-Einheiten niedriger liegen als jene, die in abs. Methanol gemessen wurden. Die Summe der systematischen Fehler ist aber nur halb so groß, wie man aus Tab. 5 ersehen kann.

Reproduzierbarkeit

Beim Vermessen der Puffergemische, die nach den Puffertabellen hergestellt worden waren, zeigte sich, daß die Reproduzierbarkeit $\pm 2 \text{ mV} \cong 0,03 \text{ pH}^*\text{-Einheiten}$ beträgt.

Dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir für die materielle Unterstützung.

⁹ HA undissoziierte Säure, A Säureanion.

γ -Radiolyse von 2-Desoxy- D-ribose in wäßriger Lösung *

γ -Radiolysis of 2-Desoxy-D-Ribose in Aqueous Solution

V. HARTMANN und C. v. SONNTAG

Institut für Strahlenchemie, Kernforschungszentrum Karlsruhe
und

D. SCHULTE-FROHLINDE

Max-Planck-Institut für Kohlenforschung, Abt. Strahlenchemie, Mülheim/Ruhr

(Z. Naturforsch. **25 b**, 1394—1404 [1970]; eingegangen am 1. September 1970)

In the γ -radiolysis of N_2O saturated aqueous solutions of 2-deoxy-D-ribose ($8 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$) the following products (G-values) are formed: 2-deoxy-D-erythro-pentonic acid (and its γ -lacton) (1) (2,5), 2,5-dideoxy-D-erythro-pentonic acid (8) (0,6₃), 2-hydroxy-oxa-cyclohexanone-(4) (5) (1,1₅), 2-hydroxy-oxa-cyclohexanone-(5) (6) (1,0), 3-hydroxyglutaraldehyde (7) (0,5₅), further, α -hydroxy-carbonyl compounds 2—4 (0,2) and possibly malonaldehyde ($\leq 0,1$). The formation of the products can be explained by the attack of the water radicals ($\cdot\text{OH}$ and $\cdot\text{H}$) on the 2-deoxy-D-ribose to give primarily 2-deoxyribosyl radicals. These radicals may disproportionate directly, rearrange or eliminate water analogous to those from ethylene glycol¹. The main product 1 stems from a disproportionation reaction of primary 2-deoxyribosyl radicals, 8 has a rearranged radical as a precursor, while in the formation of 5—7 primary 2-deoxyribosyl radicals split off water before disproportionation. The mechanism are discussed in detail.

Fragen der Strahlensterilisation von Lebensmitteln sowie Probleme der Textilveredelung haben zu einer intensiven Untersuchung der Radiolyse von Kohlenhydraten geführt².

Der in der vorliegenden Arbeit behandelte Zucker 2-Desoxyribose (2-Desoxy-D-erythro-pentose) ist aus einem weiteren Grund von Interesse. Er ist ein Baustein der die Erbinformationen tragenden DNS.

Sonderdruckanforderungen an Priv.-Doz. Dr. C. v. SONNTAG, M.P.I. f. Kohlenforschung, Abt. Strahlenchemie, D-4330 Mülheim/Ruhr.

* Auszug aus der Dissertation von Herrn V. HARTMANN, Karlsruhe 1970.

¹ C. v. SONNTAG u. E. THOMS, Z. Naturforsch. **25 b**, 1405 [1970].

² Bibliography on the Radiation Chemistry of Aqueous Solutions. II Carbohydrates. Report COO-38-642. Radiation Chemistry Data Center, Notre Dame 1969.

Strahlenschäden an diesem Nukleinsäureteil können zu weitreichenden Schäden an der DNS führen und damit einen Beitrag zur strahleninduzierten Genschädigung leisten. Jedoch ist zu berücksichtigen, daß die 2-Desoxyribose in der DNS nicht als freier Zucker vorliegt. Demnach sind die hier veröffentlichten Ergebnisse nur mit Einschränkungen auf die in der DNS gebundene 2-Desoxyribose übertragbar.

In der vorliegenden Arbeit wird gezeigt, daß die bei der Co-60- γ -Radiolyse primär gebildeten 2-Desoxyribosyl-Radikale eine Reihe von Wasserabspaltungs-Reaktionen und Umlagerungsreaktionen eingehen können, und daß die Produktbildung weitgehend durch diese Reaktionen beeinflusst wird. Entscheidend war die Kenntnis der Wasserabspaltungs-Reaktion vicinaler Diol-Radikale, die auch zur Aufklärung der γ -Radiolyse des Äthylenglykols¹ führte. Es ist zu erwarten, daß solche Reaktionen auch bei anderen Kohlenhydraten auftreten.

Ergebnisse

Bei der Co-60- γ -Radiolyse wäßriger, N₂O-gesättigter ($2,2 \cdot 10^{-2}$ Mol/l) Lösungen von 2-Desoxyribose ($8 \cdot 10^{-3}$ Mol/l) entstehen im wesentlichen sieben Produkte, die in Tab. 1 zusammen mit ihren initialen G-Werten ** aufgeführt sind (s. auch die Abb. 6 und 7).

	Verbindung	G-Wert
1	2-Desoxyribose Abnahme	6,5
	2-Desoxy-D-erythro-pentonsäure (und ihr γ -Lacton)	2,5
2-4	α -Hydroxycarbonyl-Verbindungen	0,2
5	2-Hydroxy-oxa-cyclohexanon-(4)	1,1 ₅
6	2-Hydroxy-oxa-cyclohexanon-(5)	1,0
7	3-Hydroxy-glutaraldehyd	0,5 ₅
8	2,5-Didesoxy-D-erythro-pentonsäure	0,5*/0,6
	Malonaldehyd	$\leq 0,1$
	Wasserstoffperoxid	0,5 ₇

Tab. 1. γ -Radiolyse von 2-Desoxyribose ($8 \cdot 10^{-3}$ Mol/l) in Wasser. N₂O-gesättigt. 25 °C. Initiale G-Werte der Radiolyseprodukte. * Perjodatspaltung und anschließende gaschromatographische Bestimmung des Acetaldehyds.

Identifizierung der Produkte

a) Gaschromatographie (GC)

Das Gaschromatogramm bestrahlter gefriergetrockneter, trimethylsiliierter Proben zeigt sieben Komponenten (s. Abb. 1).

Die Komponente A₇ wird bei Dosen unter $9 \cdot 10^{18}$ eV/ml nicht mehr gebildet. Offensichtlich handelt es sich um ein Sekundärprodukt. Es wurde nicht näher untersucht. Die Komponenten A₁ bis A₄ sind den vier tautomeren Formen der 2-Desoxyribose und zwar der α,β -furanoiden und der α,β -pyranoiden Struktur zuzuordnen. A₁ und A₂ sowie A₃ und A₄ zeigen das gleiche Massenspektrum. Die massenspektrometrische Analyse der einzelnen Komponenten

Abb. 1. Gaschromatogramm (XE-60, 100° Anfangstemperatur, Aufheizrate 10°/min) der TMS-Äther der Bestrahlungsprodukte A₁: 2-Desoxy- β -D-erythro-pentofuranose; A₂: 2-Desoxy- α -D-erythro-pentofuranose; A₃: 2-Desoxy- β -D-erythro-pentopyranose; A₄: 2-Desoxy- α -D-erythro-pentopyranose; A₅: 2-Desoxy-D-erythro-pentonsäure; A₆: 2-Desoxy-D-erythro-pentono- γ -lacton; A₇: Sekundärprodukt.

** Der G-Wert ist definiert als Zahl der gebildeten Moleküle pro 100 eV absorbierter Energie. Initial = auf die Dosis Null extrapoliert.

ergab, daß A_1 und A_2 furanoide und A_3 und A_4 pyranoide Struktur haben. Durch Trimethylsilylierung kristalliner 2-Desoxyribose (β -Pyranose-Form³) in Pyridin bei 0 °C wird die Mutarotation unterbunden und im Gaschromatogramm tritt nur die Komponente A_4 auf. Demnach hat A_4 β - und A_3 α -pyranoide Struktur. Da nach FERRIER⁴ α -furanoide Tri-

methysilyläther (TMS-Äther) eine höhere Retentionszeit zeigen als die β -Formen, nehmen wir an, daß es sich bei der Komponente A_1 um die β -furanoidale Form der 2-Desoxyribose handelt. Die Komponenten A_5 und A_6 sind Bestrahlungsprodukte. Ein Vergleich der Retentionszeiten und der Massenspektren mit authentischem Material erlaubt es, diese Komponenten der 2-Desoxy-D-erythro-pentonsäure (A_5) und ihrem γ -Lacton (A_6) zuzuordnen. Eine Zusammenstellung der Produkte und ihrer Retentionsvolumina (bezogen auf den TMS-Äther des 2-Desoxy-D-erythro-pentitols) findet sich im experimentellen Teil (Tab. 2).

b) Gaschromatographie eines mit NaBH_4 reduzierten Bestrahlungsansatzes

Da die TMS-Äther einiger Hydroxycarbonyl-Verbindungen sich unter obigen Bedingungen nicht chromatographieren ließen, wurde der bestrahlte Ansatz mit Natriumborhydrid reduziert. Die TMS-Äther der entstandenen Polyalkohole ließen sich gaschromatographisch gut auftrennen. Sieben Komponenten wurden gefunden (s. Abb. 2), wovon eine (B_7) erst bei hohen Dosen gebildet wird und wahrscheinlich ein Sekundärprodukt darstellt.

B_7 wurde nicht näher untersucht. Die anderen Produkte konnten durch vergleichende GC und Massenspektrometrie identifiziert werden. Die Zuordnung der Komponenten gibt die Legende der Abb. 2. Angaben über relative Retentionsvolumina (bezogen

Peak	Name	(V_R)		
		XE 60	SE 52	NGSU
A ₁	2-Desoxy- β -D-erythro-pentofuranose	0,76	0,75	0,77
A ₂	2-Desoxy- α -D-erythro-pentofuranose	0,85	0,79	0,8
A ₃	2-Desoxy- β -D-erythro-pentopyranose	0,89	0,79	0,8
A ₄	2-Desoxy- α -D-erythro-pentopyranose	1,05	0,83	0,85
A ₅	2-Desoxy-D-erythro-pentonsäure	1,2	0,95	1,14
A ₆	2-Desoxy-D-erythro-pentono- γ -lacton	1,63	0,98	1,33
A ₇	Sekundärprodukt	1,82	—	1,44
B ₁	Pentantriol-1.3.5	0,79	0,92	0,71
B ₂	D,L-Pentantriol-1.2.5	0,83	0,92	0,74
B ₃	2.5-Didesoxy-D-erythro-pentonsäure	0,91	0,94	0,76
B ₄	2-Desoxy-D-erythro-pentitol	1,0	1,0	1,0
B ₅ = A ₅				
B ₆ = A ₆				
B ₇	Sekundärprodukt (evtl. = A ₇)	1,82	—	1,44

Tab. 2. Relative Retentionszeiten V_R der TMS-Äther der Radiolyseprodukte und der reduzierten Bestrahlungsprodukte für XE 60, SE 52 und NGSU. Bezugssubstanz: 1.3.4.5-Tetra-O-trimethylsilyl-2-desoxy-D-erythro-pentitol.

Abb. 2. Gaschromatogramm (XE-60, 100° Anfangstemperatur, Aufheizrate 10°/min) der TMS-Äther der mit NaBH_4 reduzierten Bestrahlungsprodukte B₁: Pentantriol-1.3.5; B₂: Pentantriol-1.2.5; B₃: 2.5-Didesoxy-D-erythro-pentonsäure; B₄: 2-Desoxy-D-erythro-pentitol; B₅=A₅; B₆=A₆; B₇: Sekundärprodukt.

³ S. FURBERG, Acta chem. scand. **14**, 1357 [1960].

⁴ R. J. FERRIER, Tetrahedron [London] **18**, 1149 [1962].

Verbindung	2,4-DNPH ²⁴	2-Methyl-indol ¹⁰	Pb(IV)-acetat ²⁵	2,6-Dichlor-phenol ²⁵	AgNO ₃ /NH ₃ ²⁵	Chinaldin Reagenz ²⁶	Hydroxams-Reaktion ²⁷	H ₂ SO ₄
C ₁ Sekundärprodukt	—	—	+	+	—	—	—	+
C ₂ 2-Desoxy-D-erythro-pentonsäure	—	—	+	+	—	—	—	+
C ₃ 2-Desoxy-D-erythro-pentose	+	—	+	—	+	+	—	+
C ₄ 2-Desoxy-D-erythro-pentono- γ -lacton*	+	+	—	—	—	—	+	—
C ₅ 2-Hydroxy-oxa-cyclohexanon-(4)	+	+	—	—	—	+	—	+
C ₆ 2-Hydroxy-oxa-cyclohexanon-(5)	+	+	+	—	+	—	—	+
C ₇ 3-Hydroxy-glutaraldehyd	+	+	—	—	—	+	—	+
C ₈ 2,5-Didesoxy-D-erythro-pentonsäure	—	—	+	+	—	—	—	—
D ₃ 2-Desoxy-D-erythro-pentitol	—	—	+	—	—	—	—	—
D ₅ Pentantriol-1.3.5	—	—	—	—	—	—	—	+
D ₆ D,L-Pentantriol-1.2.5	—	—	+	—	—	—	—	+

Tab. 3. Zusammenstellung der verwendeten Sprühreagenzien. * Die Anfärbung von Lactonen mit Hilfe der Hydroxamsäurebildung ist auf Kieselgel-G-Schichten nur bei großen Lactonkonzentrationen möglich²⁷. Beim Nachweis des γ -Lactons wurden Celluloseplatten als Träger verwendet.

Fleck	Verbindung	F ₁	F ₂	R _f -Werte F ₃	F ₄	F ₅
C ₁	Sekundärprodukt	0,05	0,1	0,07	0,05	0,05
C ₂	2-Desoxy-D-erythro-pentonsäure	0,45	0,4	0,39	0,45	0,25
C ₃	2-Desoxy-D-erythro-pentose	0,53	0,7	0,59	0,62	0,5
C ₄	2-Desoxy-D-erythro-pentono- γ -lacton	0,66	—	0,65	0,75	0,8
C ₅	2-Hydroxy-oxa-cyclohexanon-(4)	0,37	—	0,7	0,67	0,72
C ₆	2-Hydroxy-oxa-cyclohexanon-(5)	0,81	—	0,78	0,87	0,65
C ₇	3-Hydroxy-glutar-aldehyd	0,71	0,9	0,84	0,8	0,83
C ₈	2,5-Didesoxy-D-erythro-pentonsäure	0,53	0,57	0,59	0,5	0,35

Tab. 4. R_f-Werte der Radiolyseprodukte in den Fließmitteln F₁—F₅ (F₁: Phenol mit Wasser gesättigt²⁸; F₂: *n*-Butanol-Aceton-Wasser (4/5/1)²⁹; F₃: *n*-Butanol-Essigester-Eisessig-60-proz. Isopropanol (20/20/5/50)³⁰; F₄: Methyläthylketon-Eisessig-Methanol (6/2/2)³¹; F₅: *n*-Butanol Essigester-0,03 M Borsäurelösung (70/15/15)²⁸).

auf den TMS-Äther des 2-Desoxy-D-erythro-pentitols) finden sich im experimentellen Teil (Tab. 2).

c) Dünnschicht- und Säulenchromatographie

Von den in der Literatur angegebenen Fließmitteln für die dünnschichtchromatographische Auftrennung von Desoxyzuckern erwiesen sich Fließmittel F₁ bis F₅ als besonders geeignet (s. Legende der Tab. 4). Bei Verwendung von Fließmittel F₁ und F₂ wurden sieben Verbindungen aufgetrennt, während F₃ bis F₅ in acht Komponenten auftraten.

Die Zahl der Komponenten konnte durch Verwendung von C-14-markierter 2-Desoxyribose und durch spezifische Sprühreagenzien (s. Tab. 3) ermittelt werden. Abb. 3 zeigt die radiochromatographische Auftrennung der Radiolyseprodukte in Fließmittel F₁ und F₂. Die Zuordnung der einzelnen Komponenten der Radiochromatogramme (1) und (2) ist in der Legende angegeben. Die R_f-Werte der Pro-

dukte in den Fließmitteln F₁ bis F₅ sind im experimentellen Teil zusammengestellt (Tab. 4).

Die nahe der Startstelle zurückbleibende Komponente C₁ ist ein Sekundärprodukt, das erst bei höheren Dosen gebildet wird und nicht weiter untersucht wurde. Von den verbleibenden sieben Komponenten konnten fünf durch vergleichende Dünnschichtchromatographie gegenüber authentischem Material gesichert werden. Es sind dies die Komponenten C₂, C₄, C₇ und C₈. Die Produkte C₅ und C₆ ließen sich in größeren Mengen durch Säulenchromatographie isolieren. Ein Elutionschromatogramm zeigt Abb. 4.

Die einzelnen Fraktionen wurden radiodünnschichtchromatographisch auf ihre Einheitlichkeit untersucht und durch Verwendung von spezifischen Sprühreagenzien zugeordnet (s. Tab. 3).

Das IR-Spektrum von C₅ zeigt Banden bei 3380 cm⁻¹ (ν O—H), 2940 cm⁻¹ (ν C—H), 1720 cm⁻¹ (ν C=O), 1070 cm⁻¹ (ν C—O—C), 890 cm⁻¹

Abb. 3 a

Abb. 3 b

Abb. 3. Radiochromatogramme. Auftrennung der Radiolyseprodukte in den Fließmitteln F_1 und F_2 . C_1 : Sekundärprodukt; C_2 : 2-Desoxy-D-erythro-pentonsäure; C_3 : 2-Desoxy-ribose; C_4 : 2-Desoxy-D-erythro-pentono- γ -lacton; C_5 : 2-Hydroxy-oxa-cyclohexanon-(4); C_6 : 2-Hydroxy-oxa-cyclohexanon-(5); C_7 : 3-Hydroxy-glutaraldehyd; C_8 : 2,5-Didesoxy-D-erythro-pentonsäure.

Abb. 4. Säulenchromatographische Auftrennung der Radiolyseprodukte. Cellulose MN 300, Laufmittel *n*-Butanol-Wasser-Äthanol (5:2:3). C_7 : 3-Hydroxyglutaraldehyd; C_6 : 2-Hydroxy-oxa-cyclohexanon-(5); C_5 : 2-Hydroxy-oxa-cyclohexanon-(4). Die weiteren Produkte (C_1 – C_4 , C_8) ließen sich unter diesen Bedingungen nicht auftrennen.

(δ C_1 –H, charakteristisch für β -Zucker)⁵, 750 cm^{-1} (Atmungsschwingung des Pyranoserings). Bei der Reduktion mit NaBH_4 geht die Verbindung in Pentantriol-1.3.5 über [Reaktion (1)]. Die Struktur dieses Reduktionsproduktes wurde durch vergleichende GC und Massenspektrometrie der TMS-Äther und durch vergleichende Dünnschichtchromatographie gesichert. Wir schließen daraus, daß es sich bei C_5 um 2-Hydroxy-oxa-cyclohexanon-(4) handelt.

Radiolyseprodukt C_6 zeigt im IR Banden bei 3400 , 2940 , 1720 und 1080 cm^{-1} . Die Auflösung des Spektrums unterhalb 900 cm^{-1} ist schlecht. Bei der Reduktion mit NaBH_4 geht die Verbindung in Pentantriol-1.2.5 über [Reaktion (2)]. Die Struktur dieses Reduktionsproduktes konnte wiederum über vergleichende Dünnschichtchromatographie, vergleichende GC des TMS-Äthers und dessen massenspektrometrische Analyse gesichert werden. Eine Perjodatspaltung von C_6 liefert Formaldehyd [Reaktion (3)]. Auf Grund dieser Befunde ist C_6 als 2-Hydroxy-oxa-cyclohexanon-(5) anzusehen. Angaben über die R_f -Werte der beiden Pentantrirole finden sich in Tab. 4. Die relativen Retentionszeiten der TMS-Äther der beiden Pentantrirole sind in Tab. 2 angegeben.

Die Dünnschichtchromatographie eines reduzierten Bestrahlungsansatzes (s. Abb. 5) führte zur Auftrennung von 6 Komponenten, wobei D_1 erst bei hohen Dosen gebildet wird und als Sekundärprodukt zu betrachten ist.

Sämtliche Flecken konnten durch authentisches Material mittels vergleichender Dünnschichtchromatographie identifiziert werden. Die Zuordnung der Verbindungen und ihre R_f -Werte sind in der Legende der Abb. 5 angegeben.

⁵ KOJI NAKANISHI, Infrared Absorption Spektroskopie-Practical, Holden-Day, Int., San Francisco and Naukodo Company Ltd., Tokyo 1966, S. 34 u. 150.

Abb. 5. Maßstabgerechtes Schema der Dünnschichtchromatographischen Auftrennung eines mit NaBH_4 reduzierten Bestrahlungsansatzes in Fließmittel F_3 (R_f -Werte). Träger: Kieselgel H mit 0,02 M H_3BO_3 . D_1 : Sekundärprodukt (0,05); D_2 : 2-Desoxy-D-erythro-pentonsäure (0,32); D_3 : 2-Desoxy-D-erythro-pentitol (0,49); D_4 : 2,5-Didesoxy-D-erythro-pentonsäure (0,65); D_5 : Pentantriol-1.3.5 (0,7); D_6 : Pentantriol-1.2.5 (0,74).

d) Quantitative Bestimmung der Radiolyseprodukte

Die quantitative Bestimmung der Radiolyseprodukte erfolgte radiochromatographisch mittels C-14-markierter 2-Desoxyribose. Am geeignetsten erwiesen sich hierfür Fließmittel F_1 und für das Radiolyseprodukt **8** das Laufmittel F_2 . Der G -Wert für **8** konnte zusätzlich über eine Perjodatspaltung und gaschromatographische Bestimmung des entstandenen Acetaldehyds ermittelt werden. Die Dosisabhängigkeit der Produkte zeigen die Abbn. 6 und 7. Die initialen G -Werte sind in Tab. 1 zusammengestellt.

α -Hydroxycarbonyl-Verbindungen (**2–4** und **6**) wurden nach TREVELYAN⁶ mit 2.3.5-Triphenyltetra-

Abb. 6. γ -Radiolyse von H_2O -gesättigten wäßrigen Lösungen von 2-Desoxyribose ($8 \cdot 10^{-3}$ Mol/l). Ausbeute der Produkte (Mol/l) in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdosis (eV/ml). $\square$: 2,5-Didesoxy-D-erythro-pentonsäure (**8**); $*$: 2-Desoxy-D-erythro-pentonsäure und $\bullet$: ihr γ -Lacton (**1**).

Abb. 7. γ -Radiolyse von N_2O -gesättigten, wäßrigen Lösungen von 2-Desoxyribose ($8 \cdot 10^{-3}$ Mol/l). Ausbeute der Produkte (Mol/l) in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdosis (eV/ml). $\bullet$: Sekundärprodukt; $\circ$: 3-Hydroxy-glutaraldehyd (**7**); $\times$: 2-Hydroxy-oxa-cyclohexanon-(5) (**6**); $\triangle$: 2-Hydroxy-oxa-cyclohexanon-(4) (**5**).

zoliumchlorid quantitativ erfaßt. Neben dem 2-Hydroxy-oxa-cyclohexanon-(5) (**6**) könnten noch die Verbindungen **2–4** diese Reaktionen zeigen:

Eine Abschätzung des G -Wertes für die Summe der α -Hydroxycarbonyl-Verbindungen (**2–4**) ergab einen Wert von 0,2. (Zur Eichung wurde Glycerinaldehyd verwendet. Für den Beitrag durch das Produkt 2-Hydroxy-oxa-cyclohexanon-(5) wurde korrigiert.) Der geringe Wert zeigt, daß die Produkte **2–4** nur einen unwesentlichen Beitrag zur Produktbildung leisten. Sie konnten infolge der kleinen G -Werte im Radiochromatogramm nicht lokalisiert werden.

Die folgenden Verbindungen wurden als Bestrahlungsprodukte ausgeschlossen: 3-Hydroxy-pentanal-4-on, Lävulinsäure, D-Arabinose, D-Ribose und D-Arabinol sowie die Bruchstücke Formaldehyd, Glykolaldehyd, Glyoxal, Glycerinaldehyd und Dihydroxyaceton. Malonaldehyd, häufig als Bestrahlungsprodukt von wäßrigen Zuckerlösungen angegeben^{7,8} kann nur in untergeordneten Mengen entstehen und wir nehmen an, daß bei der 2-Desoxyribose andere Radiolyseprodukte die Malonaldehydreaktion vortäuschen. Malonaldehyd wird mit der Thiobarbitursäure- oder 2-Methylindolmethode^{9,10} nachgewiesen.

⁶ W. E. TREVELYAN, D. P. PROCTER u. J. S. HARRISON, Nature [London] **166**, 444 [1950].

⁷ M. I. SCHALNOW u. N. P. KRUSCHINSKAJA, Trans. Moscow Soc., Naturalist **16**, 99 [1966].

⁸ M. I. SCHALNOW u. N. P. KRUSCHINSKAJA, AED Conf. Report 276 [1966].

⁹ V. S. WARAVDEKAR u. L. D. SASLOW, J. biol. Chemistry **234**, 1945 [1959].

¹⁰ H. SCHERZ, G. STEHLIK, E. BANCHER u. K. KAINDL, Mikrochim. Acta **1967**, 916.

Wir vermuten, daß in unserem Fall Malonaldehyd durch das Radiolyseprodukt **5** (2-Hydroxy-oxa-cyclohexanon-(4)) vorgetäuscht wird. **5** kann als substituierter Malonaldehyd aufgefaßt werden. **5** ist jedoch im Gegensatz zu Malonaldehyd gegen HCl bei erhöhter Temperatur nicht beständig. Nach 30-minütigem Erhitzen (70 °C) einer Probe von 2 ml bestrahlter 2-Desoxyribose-Lösung, der 0,1 ml HCl conc. zugesetzt war, ging *G*(„Malonaldehyd“) von 0,32 auf 0,1 zurück. Es ist dennoch fraglich, ob auch der restliche noch nachzuweisende „Malonaldehyd“ wirklich freien Malonaldehyd darstellt.

Diskussion

Da die 2-Desoxyribose bei den hier beschriebenen Versuchen nur in einer Konzentration von $8 \cdot 10^{-3}$ Mol/l vorlag, darf ein direkter Effekt der γ -Strahlung auf die 2-Desoxyribose vernachlässigt werden. Die Radiolyseprodukte entstehen durch einen Angriff der strahlenchemisch erzeugten Radikale des Wassers auf die 2-Desoxyribose. Bei der Wasserradiolyse entstehen als reaktive Teilchen H- und OH-Radikale sowie solvatisierte Elektronen (e_{aq}^-). Daneben werden noch molekularer Wasserstoff und H_2O_2 gebildet. Die solvatisierten Elektronen werden durch das zugesetzte N_2O in weitere OH-Radikale umgewandelt [Reaktion (4)].

OH- und H-Radikale sind reaktive Radikale und entziehen der 2-Desoxyribose Wasserstoffatome, wobei H_2O bzw. H_2 und 2-Desoxyribosyl-Radikale entstehen. Die an die Kohlenstoffe 1, 3, 4 und 5 gebundenen Wasserstoffatome werden bevorzugt abstrahiert. Eine Reaktion mit der Methylengruppe, besonders aber mit den OH-Gruppen, ist sehr viel weniger wahrscheinlich, da die Wasserstoffatome dieser Positionen um einige kcal/Mol fester gebunden sind. In wäßriger Lösung liegt die 2-Desoxyribose zu über 70% in der Pyranose-Form* vor.

Daher wird bei der weiteren Diskussion in erster Linie die pyranoid Struktur der 2-Desoxyribose zugrundegelegt, doch ist für viele Reaktionen eine Unterscheidung in Pyranose- und Furanose-Form nicht nötig.

Bei einem Angriff der H- und OH-Radikale an den wahrscheinlichsten Positionen, C-1, C-2, C-3, C-4 und C-5, können die Radikale I–V entstehen.

Durch Hydrolyse kann sich der Ring öffnen. Beispiele ringoffener 2-Desoxyribosyl-Radikale sind die Radikale IV a und V a.

Durch ESR-Untersuchungen^{11–13} und Produktanalyse^{1, 14} konnte gezeigt werden, daß Radikale der Struktur (a)

leicht unter Wasserabspaltung in Radikale der Struktur (b) übergehen [Reaktion (5)]. Daher ist zu erwarten, daß auch die Radikale III, IV, IV a und V a eine Wasserabspaltungs-Reaktion eingehen. Es entstehen die 2-Desoxyribosyl-Sekundärradikale VI–IX [Reaktionen (6) – (9)].

* Die Gleichgewichtszusammensetzung (22 °C) von 2-Desoxyribose in wäßrigen Lösungen wurde mittels NMR-Spektroskopie in D_2O ermittelt (α -Pyranose und β -Pyranoseform je 39%, α -Furanose und β -Furanoseform je 11%). Zum anderen wurden wäßrige (10^{-2} M) Lösungen von 2-Desoxyribose, in denen sich das Gleichgewicht eingestellt hat, gefriergetrocknet, bei 0 °C in Pyridin aufgenommen und nach Trimethylsilylierung gaschromatographisch aufgetrennt und die Anteile der einzelnen Tautomer-Formen bestimmt. (α -Pyranose 30%, β -Pyranose 41%, α -Furanose 14%, β -Furanose 15%).

¹¹ R. LIVINGSTON u. H. ZELDES, J. Amer. chem. Soc. **88**, 4333 [1966].

¹² N. M. BAZHIN, E. V. KUZNETSOV, N. N. BUBNOV u. V. V. VOEVODSKII, Kinetika i Kataliz **7**, 732 [1966].

¹³ R. O. C. NORMAN u. R. J. PRITCHETT, J. chem. Soc. [London], Ser. B **1967**, 1329.

¹⁴ F. SEIDLER u. C. v. SONNTAG, Z. Naturforsch. **24b**, 780 [1969].

Das Radikal I kann sich nach Reaktion (10) in das Sekundärradikal X umlagern. Eine analoge Umlagerung wurde beim Radikalangriff an der 2-Position des 2-Methoxy-tetrahydropyrans beobachtet¹⁵.

Das Radikal I und die Sekundärradikale VI–X sind im wesentlichen die Vorläufer der durch weitere Radikal-Radikal-Reaktionen entstehenden Produkte. Die Produkte können entweder über eine Dimerisierung [Reaktion (11)] oder über Disproportionierung [Reaktion (12)] der Radikale gebildet werden.

Dimerisierungsreaktionen finden bei Zuckern dann bevorzugt statt, wenn freie Hydroxymethylgruppen vorliegen¹⁶. Bei solchen Zuckern wurde für Dimerisierungsprodukte ein maximaler *G*-Wert von 1,0 gefunden¹⁶. Bei der 2-Desoxyribose hat nur die Furanoseform (c) eine derartige Struktur.

Da diese Form in wäßriger Lösung nur zu etwa 30% vorliegt, ist allerhöchstens ein *G*-Wert dimerer Produkte von der Größenordnung *G* = 0,3 zu erwarten.

Dimere konnten als Primärprodukte nicht isoliert werden, aber dimere Produkte mit einem derartig geringen *G*-Wert können, zumal wenn kein einheit-

liches Dimeres gebildet wird, leicht der Analyse entgangen sein. Wir schließen daher, daß die Produkte im wesentlichen durch Disproportionierungs-Reaktionen der Radikale gebildet werden.

Bei den Produkten aus den Disproportionierungs-Reaktionen können wir zwischen oxydierten (R) und reduzierten Produkten (RH₂) unterscheiden. Aufgrund der *G*-Werte der Wasserradikale ist ein *G*-Wert der 2-Desoxyribosylradikale (RH) von 6 und damit für die Summe von *G* (oxydierte Produkte) [*G*(R)] und *G* (Dimere) [*G*(RH)₂] ein Wert von *G* = 3 zu erwarten. Oxydierte Produkte sind die 2-Desoxy-D-erythro-pentonsäure und ihre γ -Lacton [*G*(1) = 2,5] sowie die 2-Desoxy-D-erythro-pentodialdose (2), 2-Desoxy-D-glycero-pentopyranos-3-ulose (3) und 2-Desoxy-D-glycero-pentopyranos-4-ulose (4). Der maximale *G*-Wert für die Produkte 2–4 kann 0,2 betragen. Eventuell dazuzuzählen, jedoch im Ursprung unbekannt, ist der „Malonaldehyd“ mit *G* = 0,1. Die Summe dieser Produkte beträgt *G* = 2,8. Ein geringer Beitrag an Dimerenbildung von der oben erwähnten Größenordnung von 0,3 würde den Wert auf den erwarteten Wert von 3 erhöhen. Der *G*-Wert der reduzierten Produkte [*G*(RH)₂] muß gleich dem *G*-Wert der oxydierten Produkte [*G*(R)] sein. Wenn jedoch, wie im Falle des Äthylenglykols^{1,14} eine Kettenreaktion abläuft, können die Werte der reduzierten Produkte die der oxydierten und damit *G* = 3 überschreiten. Wir finden für die Summe der reduzierten Produkte (2-Hydroxy-oxa-cyclohexanon-(4) (5), 2-Hydroxy-oxa-cyclohexanon-(5) (6), 3-Hydroxy-glutaraldehyd (7), 2,5-Didesoxy-D-erythro-pentonsäure (8) ein Wert von 3,3 (Tab. 1), was im Rahmen der Meßgenauigkeit dem zu erwartenden Wert von 3 entspricht und keine Kettenreaktion von Bedeutung fordert.

Durch die Disproportionierungs-Reaktionen der 2-Desoxyribosyl-Primärradikale (I–V) und der 2-Desoxyribosyl-Sekundärradikale (VI–X) können folgende Produkte entstehen:

Die 2-Desoxy-D-erythro-pentonsäure und ihr γ -Lacton entstehen nach Reaktion (13) zusammen mit einem *G*-Wert von 2,5. Das Verhältnis von freier Säure zu γ -Lacton ist im wesentlichen von der Art der Aufarbeitung abhängig, und es ist anzunehmen, daß sich das Gleichgewicht erst während dieser Zeit

¹⁵ E. S. HUYSER, J. org. Chemistry **25**, 1820 [1960].

¹⁶ A. J. BAILEY, S. A. BARKER u. M. STACEY, Radiat. Res. **15**, 538 [1961].

einstellt und ursprünglich vielleicht das δ -Lacton gebildet wird, das sich dann in das stabilere γ -Lacton umlagert. Das δ -Lacton konnte nicht nachgewiesen werden. Außerdem kann nicht ausgeschlossen werden, daß vor Ablauf der Reaktion (13) der Ring schon hydrolytisch geöffnet wurde. Das entsprechende Radikal furanoider Struktur (I a) führt nach Reaktion (14) direkt zum γ -Lacton.

Auf Grund der Produktbildung kann nicht zwischen einem Angriff der H- und OH-Radikale an C-Atom 1 und C-Atom 2 unterschieden werden, da das bei einem H- und OH-Radikalangriff am C-Atom 2 resultierende Radikal nach Disproportionierung gemäß Reaktionen (15, 16) ebenfalls in die 2-Desoxy-D-erythro-pentonsäure bzw. ihr γ -Lacton übergehen kann. Diese Produkte werden auch durch Disproportionierung des Radikals (I) nach Gl. (13) gebildet.

Disproportionierungs-Reaktionen unter Rückbildung eines 2-Desoxyribose-Moleküls [Reaktion (17)] scheinen von untergeordneter Bedeutung zu sein, da der G-Wert der 2-Desoxyribose-Abnahme einen Wert von 6,5 ($\pm 15\%$) erreicht. Es müssen infolgedessen andere Reaktionen [(21) – (24)] zu reduzierten Produkten (RH_2) führen.

Die Radikale III, IV und V a gehen bei der Disproportionierung in die α -Hydroxycarbonyl-Verbindungen 2–4 über [Reaktionen (18) – (20)]. Ihr G-Wert kann maximal 0,2 betragen.

Im Gegensatz zu diesen drei Verbindungen (2–4) lassen sich die Produkte, die die Radikale VI, VII, IX und X als Vorläufer haben, eindeutig fassen. Über die Reaktionen (21) – (24) entstehen die Produkte 5–8.

Produkte, die aus der Oxydation der Radikale VI – IX hätten entstehen können, wurden nicht gefunden. Das Oxydationsprodukt von X ist eventuell in der Summe 6 (2–4) enthalten.

Die Radikale IV a und VIII, die durch hydrolytische Öffnung des Pyranosringes eine Wasserabspaltung in Richtung auf C-Atom 5 resultieren [Reaktion (8)], scheinen nicht gebildet zu werden, da das Disproportionierungsprodukt 9 [3-Hydroxy-pentanal-4-on, nach Gl. (25)] nicht nachgewiesen werden konnte.

Vielleicht darf angenommen werden, daß die Wasserabspaltung nach C-Atom 3 [Reaktion (7)] schneller als die Ringöffnung verläuft.

Aus diesen Reaktionsfolgen kann man Rückschlüsse auf die Wahrscheinlichkeiten ziehen, mit der die Wasserradikale (90% OH-, 10% H-Radikale) an den verschiedenen Positionen der 2-Desoxyribose angreifen. Danach entziehen etwa 50% aller angreifenden Radikale ein Wasserstoffatom vom C-Atom 1 und C-Atom 2, 20% vom C-Atom 3, 20% vom C-Atom 4 und 10% vom C-Atom 5 der 2-Desoxyribose.

Experimenteller Teil

Substanzen

2-Desoxy-D-ribose wurde von Serva (Heidelberg), 2-Desoxy-D-ribose-1-C-14 vom Radiochemical Centre Amersham (England) und N₂O von den Farbwerken Hoechst (Frankfurt/Main) bezogen.

Die 2-Desoxy-D-erythro-pentonsäure und ihr γ -Lacton wurden nach HUDSON und ISBELL¹⁷ durch Oxydation von 2-Desoxy-D-ribose mit Brom dargestellt (γ -Lacton n_D^{22} 1,4860, n_D^{23} Lit. 1,4861)¹⁸.

3-Hydroxyglutaraldehyd wurde nach FRANCK und SCHIEBEL¹⁹ durch Ozonisation von Heptadien-1.6-ol-(4) und anschließender Reduktion des Ozonids mit Zinkstaub in Essigsäure erhalten (farbloser Sirup, äußerst unbeständig; Verbindung geht nach Reduktion mit Natriumborhydrid in den Pentantriol-1.3.5 über), Pentantriol-1.3.5 (farbloser Sirup n_D^{20} 1,4750, n_D^{20} Lit. 1,4795) wurde nach PAUL und TCHELITCHEFF²⁰ und Pentantriol-1.2.5 (farbloser Sirup, Schmp. des Tri-*O*-*p*-nitrobenzylesters 130°, Schmp. Lit. 130–132°) nach HARTMAN²¹ durch Reduktion der entsprechenden Hydroxyglutarsäuredimethylester mit LiAlH₄ erhalten. 2.5-Didesoxy-D-erythro-pentitol (farbloser Sirup, n_D^{20} 1,4719, n_D^{20} Lit. 1,4721)²² und 2.5-Didesoxy-D-erythro-pentonsäure (MG des TMS-Äthers massenspektrometrisch ermittelt 350) wurden durch Reduktion von 2.5-Didesoxy-D-erythro-pentose²³ mit NaBH₄ bzw. durch Oxydation mit Brom erhalten. Malonaldehyd wurde durch Hydrolyse von 1.1.3.3-Tetraäthoxypropan¹⁰ mit konz. HCl erhalten. Die Struktur der oben genannten Referenzsubstanzen wurde durch NMR-, IR- oder massenspektrometrische Untersuchungen sichergestellt. Sämtliche Verbindungen wurden einer dünn- oder gaschromatographischen Reinheitskontrolle unterzogen.

Bestrahlungsbedingungen

Als Strahlenquelle diente eine Co-60- γ -Quelle (Gamma Cell 220, Atomic Energy of Canada Ltd.; Dosisleistung 4,2 · 10⁵ r/h). Die wäßrigen 2-Desoxyribose-

Lösungen wurden vor der Bestrahlung durch Begasen (30 min) mit N₂O gesättigt.

Gaschromatographie und Massenspektrometrie

Bestrahlte 2-Desoxyribose-Lösungen oder ein reduzierter Bestrahlungsansatz wurden nach Gefriertrocknung und Trimethylsilierung auf Nitrilsilicongummi-, Silicongummi- und Neopentylglycolsuccinat-Säulen chromatographiert; Modell F₇, Bodenseewerk Perkin Elmer, 2-m-Säulen; 100 °C Starttemperatur, Temperaturprogramm: 10 °C/min. Trägergas: 40–60 ml N₂/Minute.

Für die kombinierte GC-Massenspektrometrie* wurde als Kombinationseinheit ein Varian aerograph 1700 und ein CH5 Varian MAT Massenspektrometer verwendet. Die Substanzauftrennung wurde auf einer Nitrilsilicongummi-Säule vorgenommen. Temperaturprogramm: 100 °C Starttemperatur, Aufheizrate: 4 °C/Minute. Trägergas: 40–60 ml Helium/Minute. Temperatur des Separators betrug 160 °C, die der Ionenquelle 250 °C. Die Scanzeit über den Massenbereich 20–600 ca. 4 Sekunden.

Dünnschichtchromatographie

Als stationäre Phase wurden Cellulose F-, Kieselgel F₂₅₄-, Kieselgel G-Fertigplatten der Fa. Merck verwendet. Die Fließmittel sind in der Legende der Tab. 4 angegeben. Sprühreagenzien und Angaben über die R_f-Werte der Radiolyseprodukte in den Fließmitteln F₁ bis F₅ sind in den Tabn. 3 und 4 angegeben.

Säulenchromatographie

Als stationäre Phase wurde Cellulosepulver (MN 300) der Fa. Macherey und Nagel und als Elutionsmittel *n*-Butanol/H₂O/Äthanol (5/2/3)³² verwendet. Die Länge der Säule betrug 2,50 m, ihr Durchmesser 3 cm. Die einzelnen Fraktionen wurden mit einem Fraktions-sammler der Fa. LKB (Stockholm) aufgefangen. Die Zuordnung der Fraktionen erfolgte auf dünn- und gaschromatographischem Weg.

IR-Spektroskopie

Die Radiolyseprodukte 5 und 6 wurden nach säulenchromatographischer Isolierung auf eine Silberchloridzelle (Minicell, Fa. Wilks) als Film aufgezogen und die IR-Spektren mit einem Modell 337 der Fa. Bodenseewerk Perkin Elmer, aufgenommen.

Trimethylsilierung

Die Trimethylsilierung wurde nach SWEELEY³³ durchgeführt. Jeweils 10 mg des Bestrahlungsansatzes (gefriergetrocknet) in reduzierter oder nicht reduzier-

¹⁷ C. S. HUDSON u. H. S. ISBELL, J. Amer. chem. Soc. **51**, 2226 [1929].

¹⁸ R. J. BAYLY u. J. C. TURNER, J. chem. Soc. [London], Ser. C **1966**, 707.

¹⁹ B. FRANCK u. M. SCHIEBEL, Naturwissenschaften **48**, 717 [1961].

²⁰ R. PAUL u. S. TCHELITCHEFF, Bull. Soc. chim. France **137**, 552 [1951].

²¹ F. C. HARTMAN u. R. BARKER, J. org. Chemistry **29**, 876 [1964].

²² E. HANSCHKE, Chem. Ber. **88**, 1051 [1955].

²³ H. ZINNER u. H. WEIGERT, Chem. Ber. **92**, 2896 [1959].

* Wir danken Herrn Dr. L. STIEGLITZ für seine Hilfe bei diesen Messungen.

ter Form wurden in 1 ml Pyridin aufgenommen und mit 0,25 ml Hexamethyldisilazan und tropfenweise mit 0,25 ml Trimethylchlorsilan versetzt. Nach 5-minütigem Schütteln wurde chromatographiert.

Perjodatspaltung

25 ml bestrahlter 2-Desoxyribose-Lösung ($8 \cdot 10^{-3}$ Mol/l) oder durch DC oder Säulenchromatographie isoliertes Material (1–5 mg/2 ml H_2O) wurden bei 0 °C mit 0,1–0,5 ml 0,1 M Perjodsäurelösung versetzt. Nach 30 min war die Reaktion beendet und der Überschuß an Perjodsäure wurde mit 0,1 N Natriumarsenitlösung²⁴ zerstört.

Quantitative Bestimmungen

Die quantitative Bestimmung der Radiolyseprodukte 1, 5–8 erfolgte radiochromatographisch mittels C-14-markierter 2-Desoxyribose (Träger: Kieselgel F₂₅₄-Fertigplatten, Fließmittel F₁ und F₂). Die Auswertung der Radiochromatogramme erfolgte mit einem Dünnschichtscanner der Fa. Berthold (Wildbad) vom Typ LB 2721. Wasserstoffperoxid wurde nach EISENBERG³⁵ photo-

metrisch (PMQ II, Zeiss, Oberkochen) bestimmt. ϵ (443 nm): $700 \text{ l} \cdot \text{Mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Formaldehyd wurde nach der Methode von MACFAYDEN³⁶ mit Chromotropsäure nachgewiesen. Malonaldehyd wurde nach SCHERZ¹⁰ mit 2-Methylindol bestimmt. ϵ (555 nm): $7,8 \cdot 10^4 \text{ l} \cdot \text{Mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. α -Hydroxycarbonyl-Verbindungen wurden nach TREVELYAN⁶ mit 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid bei 0 °C und unter Lichtausschluß umgesetzt. Das entstehende Triphenylformazan wurde mit Äther ausgeschüttelt und die Extinktion bei 485 nm gemessen. Die Eichung erfolgte mit Glycerinaldehyd. Die Bestimmung des Acetaldehyds wurde gaschromatographisch ausgeführt. Stationäre Phase: NGSU, Temperatur: 70 °C. Die Auswertung der Gaschromatogramme erfolgte durch Ausmessen der Peakhöhe. Standard: Acetaldehyd. Die NMR-spektroskopische Bestimmung der Zusammensetzung der einzelnen tautomeren Formen der 2-Desoxyribose geschah analog zu der Bestimmung tautomerer Formen der Ribose durch LEMIEUX und STEVENS³⁷. Für die Aufnahme des Spektrums danken wir Herrn Dr. H. HÜTHER.

²⁴ E. BLOEM, J. Chromatogr. [Amsterdam] **35**, 108 [1968].

²⁵ E. Merck AG Darmstadt, Anfärbereagenzien für die Dünnschichtchromatographie.

²⁶ M. M. L. VELLUZ, M. PESEZ u. G. AURIARD, Bull. Soc. chim. France **1948**, 680.

²⁷ M. ABDEL-AKHER u. F. SMITH, J. Amer. chem. Soc. **73**, 5859 [1951].

²⁸ M. BRENNER u. A. NIEDERWEISER, Experientia [Basel] **16**, 378 [1960].

²⁹ M. LATO, B. BRUNELLI u. G. CIUFFINI, J. Chromatogr. [Amsterdam] **39**, 407 [1969].

³⁰ E. STAHL u. K. KALTENBACH, J. Chromatogr. [Amsterdam] **5**, 351 [1961].

³¹ H. SCHERZ, G. STEHLIK, E. BANCHER u. K. KAINDL, Chromatogr. Rev. **10**, 1 [1968].

³² W. W. BINKLEY, Advances Carbohydr. Chem. **10**, 55 [1950].

³³ C. C. SWEETLEY, R. BENTLEY, M. MAKITA u. W. W. WELLS, J. Amer. chem. Soc. **85**, 2498 [1963].

³⁴ V. S. WARAVDEKAR u. L. D. SASLAW, J. biol. Chemistry **234**, 1945 [1959].

³⁵ G. M. EISENBERG, Ind. Engng. Chem. **15**, 327 [1943].

³⁶ A. MACFAYDEN, J. biol. Chemistry **158**, 110 [1945].

³⁷ R. U. LEMIEUX u. J. D. STEVENS, Canad. J. Chem. **44**, 249 [1966].