



УДК 547.915 : 543.51

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ ЛИПИДОВ С ПРОСТОЙ  
ЭФИРНОЙ СВЯЗЬЮ

## III. МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ НЕЙТРАЛЬНЫХ АЛЬДЕГИДОГЕННЫХ ЛИПИДОВ

*Батраков С. Г., Василенко И. А., Розин А. Э.,  
Серебренникова Г. А., Евстигнеева Р. П.*

*Московский институт тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова;  
Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина  
Академии наук СССР, Москва*

Измерены масс-спектры нейтральных альдегидогенных липидов: 1-О-1'-алкенил-2,3-ди-О-ацилглицерина, 1-О-1'-алкенил-2-О-ацилглицерина и 1-О-1'-алкенилглицерина. Показано, что данные масс-спектрометрии позволяют полностью идентифицировать структуры соединений указанных типов.

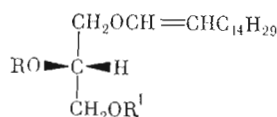
Одна из основных проблем, возникающих при исследовании метаболизма и биологической роли плазмалогенов, состоит в структурной идентификации липидов этого типа и, в частности, в определении локализации 1-О-алкенильноэфирных и жирнокислотных заместителей. Обычный подход к решению этой проблемы заключается в деградации анализируемого липида при помощи кислотного, щелочного, а также энзиматического гидролиза и последующего изучения продуктов деградации хроматографическими методами [1]. Однако эти методы трудоемки и связаны со значительной затратой времени и вещества. Опыт применения масс-спектрометрии для структурного анализа липидов различных классов показывает, что этот метод может дать большую по сравнению с другими физико-химическими методами информацию при минимальном расходе исследуемого объекта [2]. Естественно, интерпретация масс-спектров нативных липидных смесей значительно упрощается при наличии данных о масс-спектрометрическом поведении соответствующих индивидуальных синтетических соединений. Имеющиеся в настоящее время данные по масс-спектрам альдегидогенных соединений ограничены и касаются лишь 1-О-1'-алкениловых эфиров глицерина и диольных плазмалогенов [3, 4].

Поэтому при разработке метода масс-спектрометрической идентификации природных нейтральных альдегидогенных липидов мы предварительно изучили характерные особенности фрагментации под электронным ударом следующих синтетических соединений: 1-О-1'-гексадецил-2,3-ди-О-октадеканоил-*sn*-глицерина (I), 1-О-1'-гексадецил-2,3-ди-О-гексадеканоил-*sn*-глицерина (II), 1-О-1'-гексадецил-2-О-октадеканоил-*sn*-глицерина (III), 1-О-1'-гексадецил-2-О-гексадеканоил-*sn*-глицерина (IV) и 1-О-1'-гексадецил-*sn*-глицерина (V).

## Основные пики в масс-спектрах соединений (I) и (II)

Приведены значения  $m/e$  (интенсивность, %)

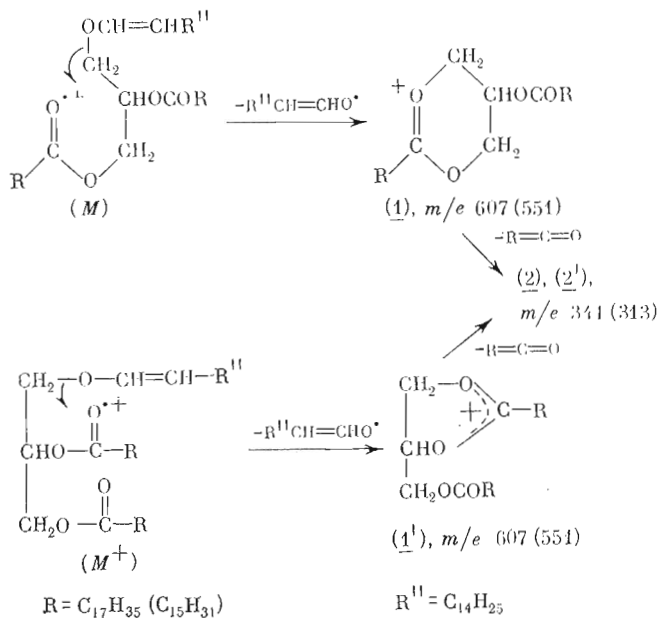
Тип иона	Соединение (I)	Соединение (II)	Тип иона	Соединение (I)	Соединение (II)
$M$	846 (0,08)	790 (0,05)	$\underline{4}$ п $\underline{4}$ $n = 1$	409 (1,5)	381 (0,8)
$\underline{16}$	663 (0,5)	607 (0,05)	» $n = 0$	395 (9,3)	367 (5,2)
$\underline{1}$ и $\underline{1}'$	607 (100)	551 (100)	$\underline{7}$	383 (3,1)	355 (1,5)
$\underline{19}$	593 (0,9)	537 (2,2)	$\underline{8}$	382 (5,4)	354 (2,7)
$\underline{4}$ п $\underline{4}'$ ( $n = 14$ )	591 (0,6)	— —	$\underline{9}$	369 (5,0)	341 (1,3)
$\underline{4}$ п $\underline{4}'$ ( $n = 13$ )	577 (8,0)	— —	$\underline{10}$	339 (4,0)	—
$\underline{5}$	563 } (4,4)	535 } (2,4)	$\underline{2}$ п $\underline{2}'$	341 (34,0)	313 (13,1)
$\underline{4}$ и $\underline{4}'$ $n = 12$	563 }	535 }	$\underline{11}$	325 (4,1)	297 (1,8)
» $n = 11$	549 (1,8)	521 (1,0)	$\underline{12}$	324 (3,4)	296 (2,4)
» $n = 9$	521 (1,6)	493 (0,7)	$\underline{20}$	297 (2,5)	269 (0,6)
» $n = 8$	507 (2,2)	479 (0,9)	$\underline{15}$	285 (3,7)	257 (1,5)
» $n = 7$	493 (2,2)	465 (1,2)	$\underline{14}$	284 (2,4)	256 (0,5)
» $n = 6$	479 (2,5)	451 (1,2)	$\underline{13}$	267 (28,6)	239 } (7,7)
» $n = 5$	465 (2,0)	437 (1,1)	$\underline{3}$	239 (3,2)	239 }
» $n = 4$	451 (3,2)	423 (1,3)	$\underline{18}$	223 (4,0)	223 (2,8)
» $n = 3$	437 (2,0)	409 (1,2)	$\underline{17}$	222 (5,4)	222 (3,2)
» $n = 2$	423 (1,3)	395 (0,6)			



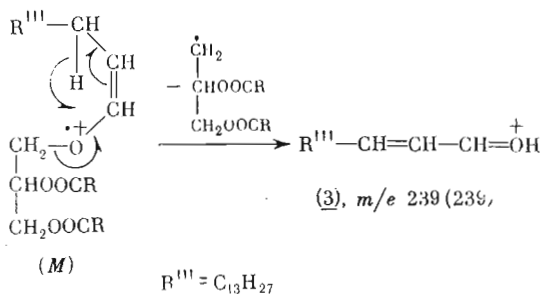
- (I)  $R = R' = \text{COC}_{17}\text{H}_{35}$ ; (II)  $R = R' = \text{COC}_{15}\text{H}_{31}$ ;  
 (III)  $R = \text{COC}_{17}\text{H}_{35}$ ;  $R' = \text{H}$ ; (IV)  $\text{H} = \text{COC}_{15}\text{H}_{31}$ ,  $R' = \text{H}$ ;  
 (V)  $R = R' = \text{H}$ .

Масс-спектры нейтральных плазмалогенов (I) и (II) (см. табл. 1) содержат малоинтенсивные, но заметные пики молекулярных ионов ( $M^+$ ) с  $m/e$  846 (790)\*, величина  $m/e$  которых дает представление о молекулярном весе исследуемого липида. Основные пути распада под электронным ударом молекулярных ионов соединений (I) и (II) в основном совпадают с направлениями фрагментации молекулярных ионов триацилглицеринов [5, 6]. Однако имеются и некоторые особенности, связанные с наличием замещенной винильноэфирной группировки. Наибольшей интенсивностью в спектре обладает пик иона с  $m/e$  607 (551), образующийся при отщеплении молекулярным ионом винильноэфирного остатка: величины  $m/e$  этого иона в масс-спектрах соединений (I) и (II) различаются на 56 массовых единиц. Рассматриваемый ион, вероятно, имеет стабильную шестичленную (1) или пятичленную (1') структуру [7, 8]. Элиминируя молекулу жирного кетена, фрагменты (1) и/или (1') дают ионы (2) и (2') с  $m/e$  341 (313). Сопоставление значений  $m/e$  молекулярного иона и фрагментов (1) и (1') дает возможность судить о размере углеводородной цепи винильноэфирного остатка.

\* Здесь и далее приводятся значения  $m/e$  ионов в масс-спектре октадеканоилового производного, в скобках указаны значения  $m/e$  соответствующих ионов в масс-спектре гексадеканоилового производного.

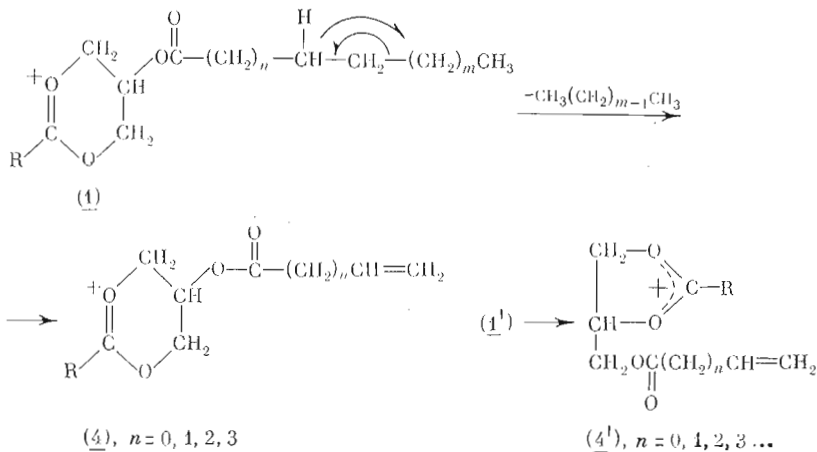


Разрыв той же связи, но при локализации заряда на винильноэфирном остатке молекулярного иона приводит к иону с  $m/e$  239 (239), который предположительно имеет структуру (3).

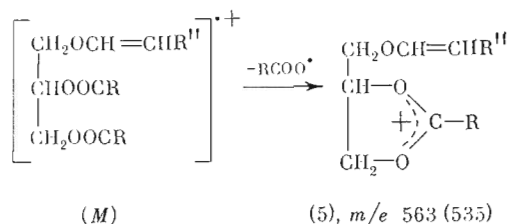


Пик при  $m/e$  239 в масс-спектрах соединений (I) и (II) малоинтенсивен, но в спектрах соединений (III) — (V) его интенсивность достаточно высока для того, чтобы он мог использоваться в аналитических целях.

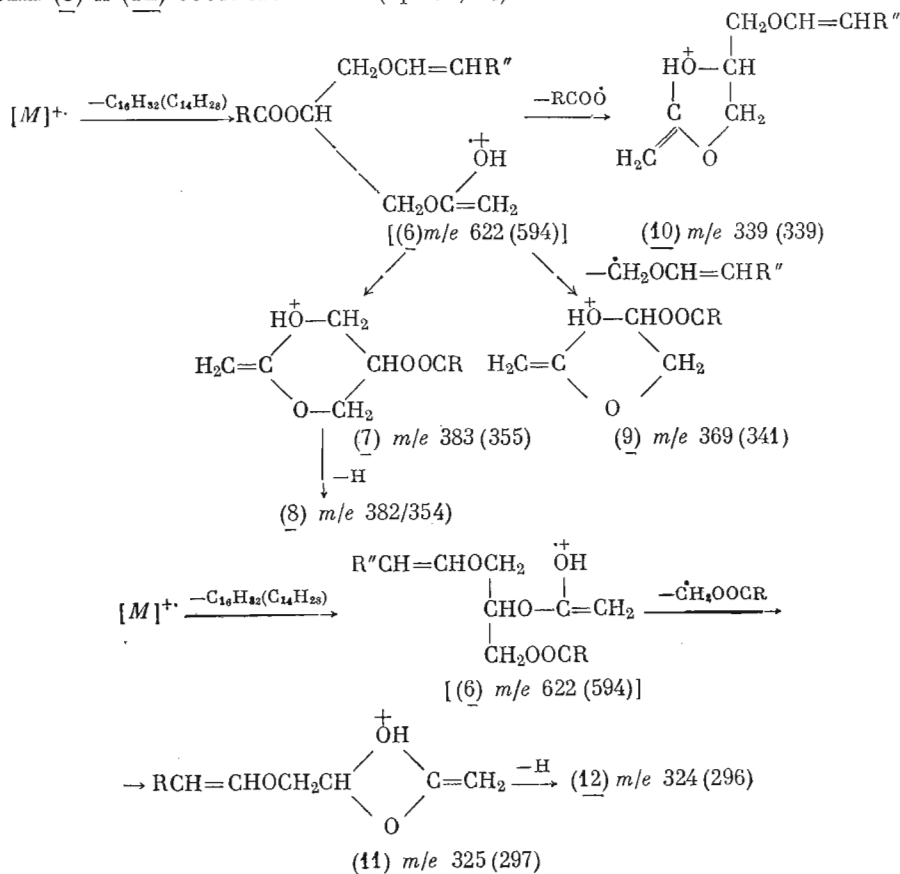
В результате деградации алифатических цепей ионов (1) и (1') возникает ряд гомологичных фрагментов (4) и (4') ( $n = 0, 1, 2, 3, \dots$ ), из которых наибольшую интенсивность имеют члены с  $n = 0$  и  $m/e$  395 (367).



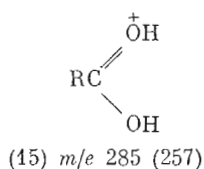
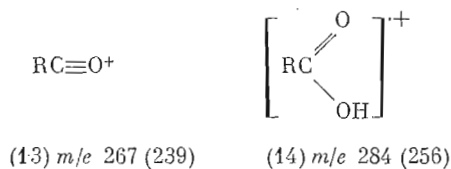
По-видимому, алкенильноэфирным аналогом фрагмента  $1'$  является ион с  $m/e$  563 со структурой 5. Различие в значениях  $m/e$  для этого иона в масс-спектрах соединений (I) и (II) составляет 28 массовых единиц, откуда следует, что в состав фрагмента входит только один жирнокислотный остаток. Процесс образования этого фрагмента можно представить как элиминирование ацилоксильного радикала от молекулярного иона:



Для молекулярных ионов соединений (I) и (II), как и для триацилглицеринов, характерен путь распада, начальная стадия которого представляет собой перегруппировку Мак-Лафферти. Пик первичного продукта фрагментации иона (6) с  $m/e$  622 (594) в масс-спектре отсутствует, вероятно, вследствие нестабильности иона. Однако пики его осколков (7—12) довольно интенсивны. Последние возникают в результате отщепления ионом (6) либо винильноэфирного радикала — ион (7), либо  $\text{R}''\text{CH}=\text{CHO}\dot{\text{C}}\text{H}_2$  — ион (9), либо ацилоксильного радикала — ион (10), либо  $\text{RCOO}\dot{\text{C}}\text{H}_2$  — ион (11). Теряя атом водорода, фрагменты (7) и (11) дают ионы (8) и (12) соответственно (ср. [5, 6]).

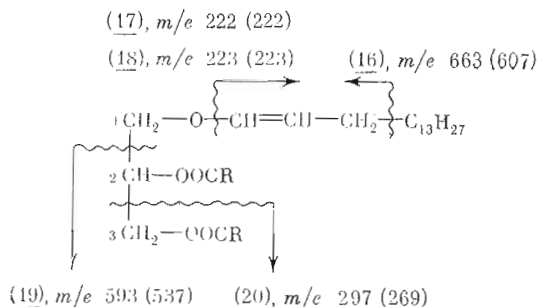


Помимо рассмотренных выше, необходимо отметить еще некоторые пики, наблюдаемые в масс-спектрах соединений (I) и (II), которые представляют интерес с аналитической точки зрения. Для определения жирнокислотного состава липида весьма важны пики ацильных ионов (13),  $m/e$  267 (239), имеющие довольно высокую интенсивность, а также менее интенсивные пики, соответствующие ионизированным молекулам жирных кислот (14) с  $m/e$  284 (256) и их протонированным формам (15) с  $m/e$  285 (257).



Структура альдегидогенного остатка, помимо ионов (1, 1', 3), дополнительно характеризуется ионами, образующимися при аллильном расщеплении углеводородной цепи этого заместителя — ионом (16) с  $m/e$  663 (607), а также углеводородными ионами, к которым приводит разрыв связи между кислородным и ненасыщенным углеродными атомами того же заместителя с миграцией H-атома — ионом (17) с  $m/e$  222 (222) — и без такой миграции — ионом (18) с  $m/e$  223 (223).

На расположении альдегидогенного заместителя при  $C_{(1)}$  указывает пик фрагмента (19) с  $m/e$  593 (537), возникающего при разрыве связи  $C_{(1)} - C_{(2)}$  глицериновой части молекулярного иона, а о локализации одного из ацильных остатков при  $C_{(3)}$  свидетельствует пик иона (20) с  $m/e$  297 (269), образующегося в результате расщепления связи  $C_{(2)} - C_{(3)}$ .



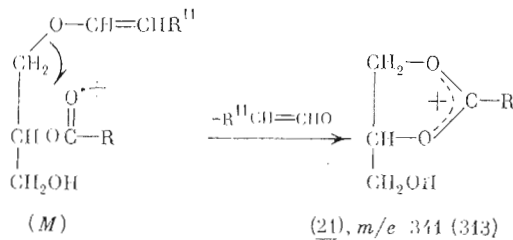
Таким образом, строение нейтральных плазмалогенов может быть полностью установлено на основании данных масс-спектра.

Масс-спектры плазмалогенных диглицеридов (III) и (IV) (см. табл. 2) содержат значительно более интенсивные, чем масс-спектры триглицеридных плазмалогенов (I) и (II), пики молекулярных ионов с  $m/e$  580 (552). Последним сопутствуют пики ионов  $[M - 1]^+$  с  $m/e$  579 (551) и  $[M - \text{H}_2\text{O}]^+$  с  $m/e$  562 (534), что обычно наблюдается при масс-спектрометрии свободных спиртов [9]. Максимальный пик в спектре отвечает фрагменту (21)

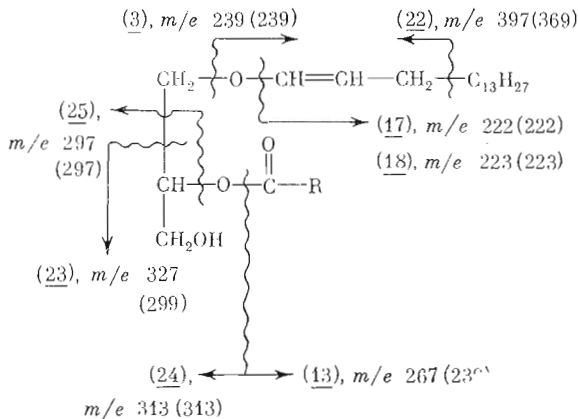
Основные пики в масс-спектрах соединений (III) и (IV)  
Приведены значения  $m/e$  (интенсивность, %)

Тип иона	Соединение (III)	Соединение (IV)	Тип иона	Соединение (III)	Соединение (IV)
$M$	580 (2,1)	552 (0,8)	<u>24</u>	313 (8,1)	313 (100)
$M - H$	579 (1,0)	551 (0,9)	<u>25</u>	297 (3,8)	297 (1,2)
$M - H_2O$	562 (0,5)	534 (0,3)	<u>13</u>	267 (24)	239 } (18,4)
<u>22</u>	397 (1,4)	369 (0,4)	<u>3</u>	239 (7,5)	239 }
<u>21</u>	341 (100)	313 (100)	<u>18</u>	223 (16,0)	223 (11,4)
<u>23</u>	327 (5,4)	299 (2,8)	<u>17</u>	222 (12,0)	222 (7,8)

с  $m/e$  341 (313), образуемому в результате элиминирования от молекулярного иона алкенильноэфирного остатка, т. е. аналогу рассмотренного выше иона (1').



При локализации заряда на алкенильноэфирном остатке разрыв простой эфирной связи приводит к иону (3) с  $m/e$  239, характеризующему природу этого остатка. Дополнительные данные о его строении дают пики фрагментов, образующихся при расщеплении аллильной и простой эфирной связей. Первая реакция приводит к иону (22) с  $m/e$  397 (369), идентичному с ионом (19); продуктами второго процесса являются углеводородные фрагменты с  $m/e$  222 (222) и 223 (223), идентичные ионам (17) и (18). На локализацию альдегидогенного остатка при  $C_{(1)}$  указывает образование иона (23) с  $m/e$  327 (299), которое является результатом разрыва связи  $C_{(1)} - C_{(2)}$  глицеринового остатка.



Природа жирнокислотных остатков в молекуле соединений типа (III) и (IV) легко устанавливается по значениям  $m/e$  ацильных ионов (13), пики которых довольно интенсивны, а также ионов  $[RCOOH]^+$  (14) и  $[RCOOH_2]^+$

(15). Полезными в этом отношении могут быть и пики ионов  $[M^+ - RCO]^+$  (24),  $[M - RCOO]^+$  (25) и  $[M - RCOOH]^+$ , правда, интенсивность этих пиков невелика.

Данные масс-спектра плазмалогенных диглицеридов (III) и (IV) не позволяют определить положение жирнокислотного остатка в молекуле. Следует, однако, учитывать вероятность миграции ацильной группы в условиях нагрева вещества в ионном источнике масс-спектрометра. Поэтому регистрируемый масс-спектр скорее всего отвечает равновесной смеси двух возможных позиционных изомеров.

Как отмечалось выше, масс-спектры 1-О-(1'-алкениловых) эфиров глицерина типа (V) уже изучались. К имеющимся в литературе сведениям о фрагментации молекулярных ионов этих соединений под электронным ударом [4] целесообразно добавить полученные нами данные о происхождении ионов  $[C_nH_{2n-1}O]^+$ ,  $[C_nH_{2n-1}]^+$ ,  $[C_nH_{2n-3}]^+$  и  $[M^+ - C_{n-3}H_{2n-5}]^+$ , которые в случае соединения (V) имеют  $m/e$  239, 223, 222 и 131 соответственно. Первые три фрагмента, очевидно, представляют собой, как и в случае соединений (I) — (IV), ионы (3), (17) и (18); четвертый аналогичен ионам (16, 22), возникающим в результате разрыва аллильной связи  $C_{(3)} - C_{(4)}$  альдегидогенного остатка. Пики перечисленных ионов могут дать дополнительную информацию об этом соединении.

### Экспериментальная часть

Синтез нейтральных плазмалогенов (I—V), изучавшихся в настоящей работе, описан в сообщениях [10—12].

Масс-спектры регистрировали на масс-спектрометре ЛКВ-9000 (Швеция) при энергии ионизирующих электронов 70 эВ и ускоряющем напряжении 3,5 кВ. Анализируемые образцы вводили непосредственно в ионный источник, температура испарения для триглицеридов 110—120°, для диглицеридов около 80°.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Кейтс М. (1975) Техника липидологии, «Мир», М.
2. Ryhage R., Stenhagen E. (1970) J. Lipid Res., 7, 361—369.
3. Frosolono M. F., Kiscic A., Rapport M. M. (1967) J. Org. Chem., 32, 3998—4003.
4. Bergelson L. D., Vaver V. A., Prokashova N. V., Ushakov A. N., Stefanov K., Ilukhina L. I., Simonova T. N. (1972) Biochim. et biophys. acta, 260, 571—582.
5. Lauer W. M., Ausen A. J., Graff G., Holman R. T. (1970) Lipids, 5, 869—874.
6. Lauer W. M., Ausen A. J., Graff G., Holman R. T. (1970) Lipids, 5, 861—868.
7. Klein R. A. (1971) J. Lipid Res., 12, 628—634.
8. Klein R. A. (1972) J. Lipid Res., 5, 672—679.
9. Будзиевич Г., Джерасси К., Уильямс Д. (1966) Интерпретация масс-спектров органических соединений, «Мир», М.
10. Серебрякова Т. В., Серебренникова Г. А., Преображенский Н. А. (1967) Ж. орган. химии, 3, 1412—1415.
11. Титов В. И., Серебренникова Г. А., Преображенский Н. А. (1970) Ж. орган. химии, 6, 1154—1159.
12. Василенко И. А., Серебренникова Г. А., Евстигнеева Р. П. (1975) Биоорган. химия, 1, 56—61.

Поступила в редакцию  
4.VI.1976

### MASS-SPECTROMETRY OF ETHER LIPIDS. III. MASS-SPECTROMETRY OF NEUTRAL ALDEHYDOGENIC LIPIDS

BATRAKOV S. G., VASILENKO I. A., ROZIN A. E.,  
SREBRENNIKOVA G. A., EVSTIGNEEVA R. P.

*M. V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technology, Moscow;  
M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy  
of Sciences of the USSR, Moscow*

Mass-spectra were taken for neutral aldehydogenic lipids: 1-O-1'-alkenyl-2,3-diacylglycerol, 1-O-1'-alkenyl-2-acylglycerol, and 1-O-1'-alkenyl-glycerol. It was shown that basing on mass-spectrometry data the structures of the above types could be completely indentified.