



УДК 547.972+582.632

## ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ БЕРЕЗЫ

6. ИЗУЧЕНИЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОГО ПОВЕДЕНИЯ  
ПРИРОДНЫХ ФЛАВОНОИДНЫХ АГЛИКОНОВ, ПРОДУКТОВ  
ИХ ИСЧЕРПЫВАЮЩЕГО МЕТИЛИРОВАНИЯ И ТРИДЕЙТЕРОМЕТИЛИРОВАНИЯ \*

*Кононенко Г. П., Поправко С. А., Розынов Б. В.,  
Зайкин В. Г., Вульфсон Н. С.*

*Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина  
Академии наук СССР, Москва*

Изучены особенности распада при электронном ударе молекулярных ионов флавоноидных агликонов: 5,7,4'-замещенных флаванонов и флавонов, флавонолов с 3,5,7,4'- и 3,5,7,3',4'-замещением и продуктов их исчерпывающего метилирования и тридейтерометилирования.

Ранее мы кратко сообщили о возможности использования масс-спектрометрии для установления строения флавоноидов [2, 3]. В настоящей работе мы более подробно рассматриваем особенности распада при электронном ударе трех основных типов флавоноидных соединений: флаванонов, флавонов и флавонолов, а также продуктов их исчерпывающего метилирования и тридейтерометилирования.

Основные пути распада флавоноидов в условиях масс-спектрометрирования описаны в ряде работ [4–8]. Описаны также некоторые пути распада тридейтерометилловых эфиров флавоноидов в связи с использованием их для целей хромато-масс-спектрометрического анализа [9]. Однако в большинстве этих работ рассматриваются лишь отдельные характеристические ионы, а ряд весьма существенных особенностей масс-спектрометрического поведения флавоноидов в литературе практически не освещен.

Нами изучены масс-спектры трех флавононов: 5,7,4'-триоксифлаванона (нарингенина, I), 5,4'-диокси-7-метоксифлаванона (сакуранетина, II) и 5-окси-7,4'-диметоксифлаванона (III) (схема 1), для которых характерна довольно высокая интенсивность пиков молекулярного иона, иона  $(M-H)^+$ , ионов (а) и (б) (происхождение которых без особых доказательств объясняется ретродиеновым распадом), ионов  $(a-CO)$  и  $(b-R_2)$ , а также ионов (в), (г) и (д) (см. схему 1 и табл. 1). Пики ионов, образующихся в результате выброса из молекулярного иона воды, гидроксильной и карбонильной групп имеют интенсивность, не превышающую 5%. Структура и характеристичность ионов (а), (б) и (в) неоднократно отмечалась ранее [4–9], элементный состав и структура остальных ионов установлены не были. На основании данных масс-спектров высокого раз-

\* Сообщение 5 см. [1].

Массовые числа ( $m/e$ ) характеристических ионов в масс-спектрах флаванонов (I)–(III)

В скобках относительная интенсивность в %

Ионы	(I)	(II)	(III)	Ионы	(I)	(II)	(III)
$M^+$	272 (63)	286 (86)	300 (71)	( $\varepsilon$ )	166 (25)	180 (35)	180 (2)
( $M-H$ ) <sup>+</sup>	271 (29)	285 (44)	299 (33)	( $a+H$ )	153 (100)	167 (100)	167 (13)
( $M-OH$ ) <sup>+</sup>	255 (4)	269 (6)	283 (4)	( $a$ )	152 (20)	166 (38)	166 (20)
( $M-CO$ ) <sup>+</sup>	244 (3)	258 (6)	272 (3)	( $a-CO$ )	124 (18)	138 (33)	138 (11)
( $M-H_2O$ ) <sup>+</sup>	254 (4)	268 (5)	282 (3)	( $\beta$ )	120 (71)	120 (58)	134 (100)
( $M-CO-CH_3$ ) <sup>+</sup>	229 (3)	243 (5)	257 (2)	( $\beta-R_2$ )	119 (13)	119 (18)	119 (16)
( $\varepsilon$ )	179 (26)	193 (34)	193 (17)	( $\delta$ )	107 (21)	107 (17)	121 (72)
( $\varepsilon-H$ )	178 (10)	192 (11)	192 (6)				

Таблица 2

## Элементный состав основных ионов в масс-спектрах флаванонов (II) и (III) по данным масс-спектров высокого разрешения

Ион	(II)			(III)		
	Измерено	Элементный состав	Вычислено	Измерено	Элементный состав	Вычислено
$M^+$	286,0841	$C_{16}H_{14}O_5$	286,0841	300,0986	$C_{17}H_{16}O_5$	300,0974
( $M-H$ ) <sup>+</sup>	285,0753	$C_{16}H_{13}O_5$	285,0743	299,0945	$C_{17}H_{15}O_5$	299,0970
( $M-OH$ ) <sup>+</sup>				283,0989	$C_{17}H_{15}O_4$	283,1008
( $M-H_2O$ ) <sup>+</sup>				282,0935	$C_{17}H_{14}O_4$	282,0979
( $\varepsilon$ )	193,0522	$C_{10}H_9O_4$	193,0543	193,0531	$C_{10}H_9O_4$	193,0543
( $\varepsilon-H$ )	192,0462	$C_{10}H_8O_4$	192,0502	192,0463	$C_{10}H_8O_4$	192,0502
( $\varepsilon$ )	180,0454	$C_9H_8O_4$	180,0486			
( $a+H$ )	167,0359	$C_8H_7O_4$	167,0374	167,0433	$C_8H_7O_4$	167,0374
( $a$ )	166,0280	$C_8H_6O_4$	166,0294	166,0331	$C_8H_6O_4$	166,0294
( $a-CO$ )	138,0232	$C_7H_6O_3$	138,0147	138,0382	$C_7H_6O_3$	138,0147
( $\beta$ )	120,0582	$C_8H_8O$	120,0589	134,0758	$C_{10}H_8O$	134,0785
( $\delta$ )				121,0727	$C_8H_9O$	121,0760
( $\beta-R_2$ )	119,0474	$C_8H_7O$	119,0451	119,0567	$C_8H_7O$	119,0451

решения флаванонов (II) и (III) установлен элементный состав ионов ( $a+H$ )<sup>+</sup>, ( $a-CO$ ), ( $\beta-R_2$ ), ( $\varepsilon-H$ ), ( $\varepsilon$ ) и ( $\delta$ ) (см. табл. 2) и предположены их структуры. По-видимому, ионы ( $\varepsilon$ ) и ( $\delta$ ) образуются синхронно при разрыве связей  $O-C_{(2)}$  и  $C_{(2)}-C_{(3)}$  кольца  $C$  и локализации заряда на обоих осколках, причем в случае иона ( $\delta$ ) процесс сопровождается миграцией протона к заряженному фрагменту. Многие из этих ионов могут также иметь диагностическое значение. Следует отметить, что масс-спектры флаванонов (I) и (II) по интенсивностям основных характеристических пиков мало отличаются друг от друга, в то время как спектр флаванона (III) отличается от них весьма значительно. По-видимому, это обусловлено влиянием метоксильной группы при 4'-С.

Флаваноны в условиях исчерпывающего алкилирования в присутствии оснований размыкаются с образованием эфиров соответствующих халконов. Поэтому было необходимо изучить масс-спектрометрическое поведение последних. Это существенно и по той причине, что флаваноны и флавоны в растениях часто присутствуют одновременно.

В литературе описано лишь ограниченное число масс-спектров халконов. в основном с одним или двумя заместителями [5, 6, 10, 11], причем сведения о путях их распада подчас противоречивы. Большинство авторов предполагает в качестве первичного акта распада  $o$ -оксихалко-

Схема 1

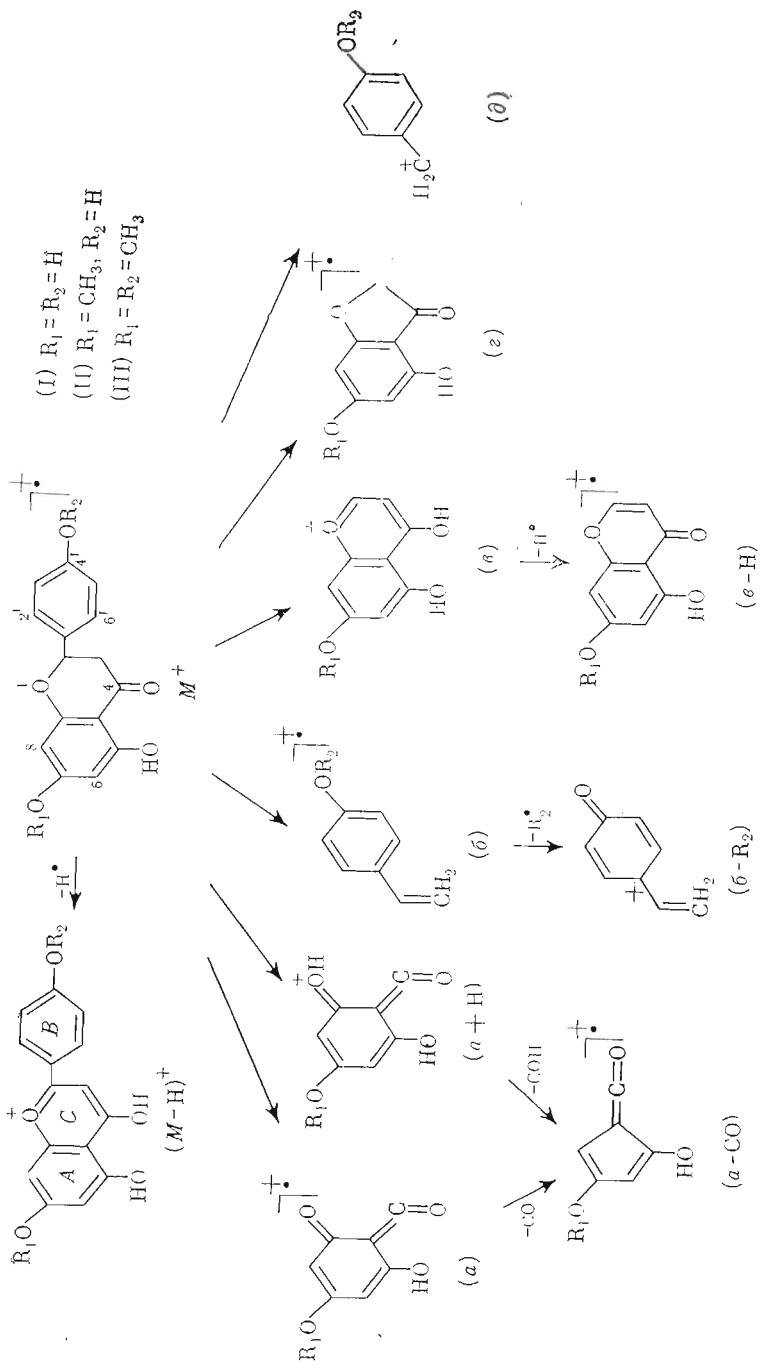


Таблица 3

Массовые числа ( $m/e$ ) характеристических ионов в масс-спектрах халконов (IV)–(VII)  
В скобках относительная интенсивность в %

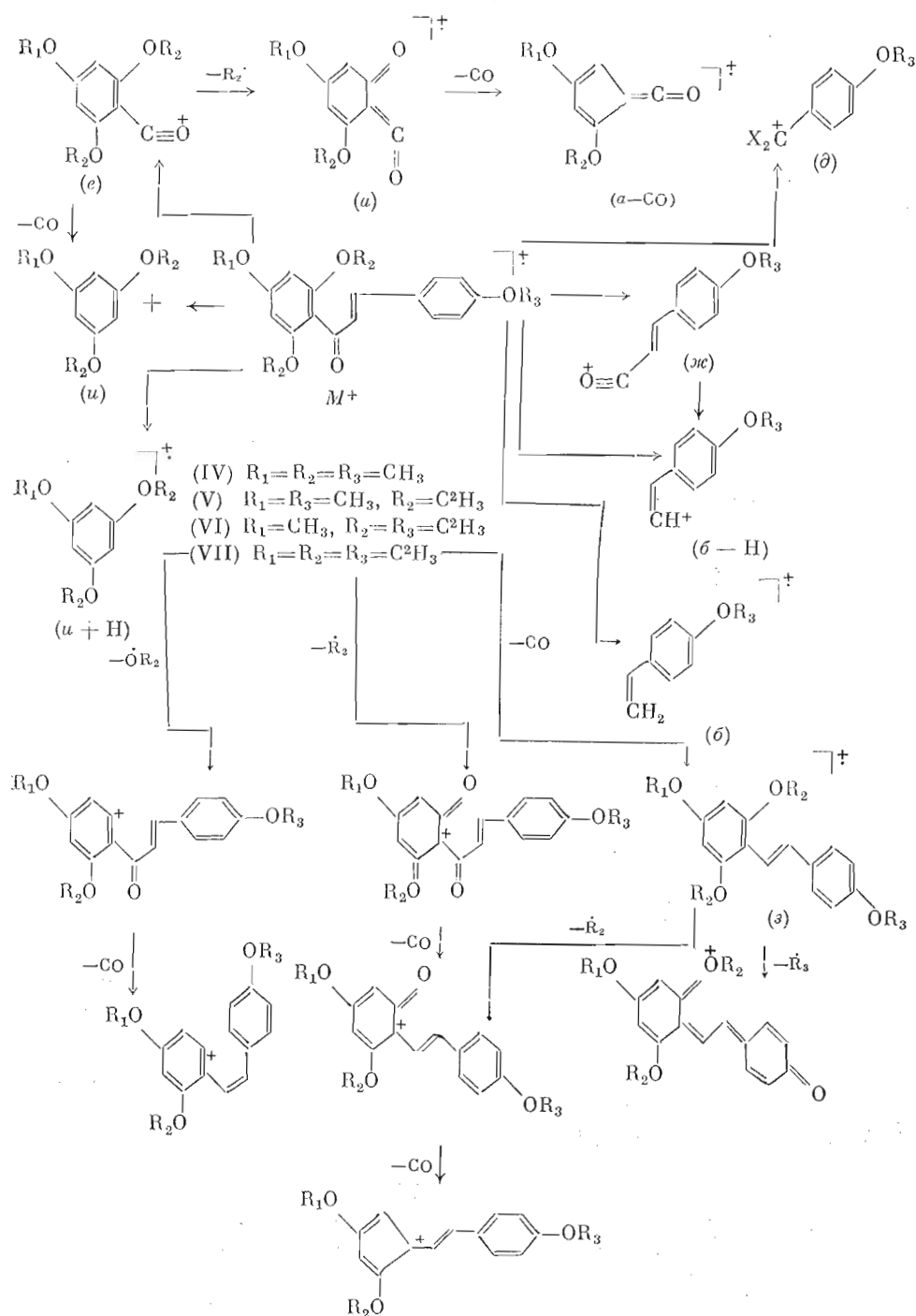
Ионы	(IV)	(V)	(VI)	(VII)
$M^+$	328(51)	334(44)	337(47)	340(46)
$(M-H)^+$	327(6)	333(6)	336(7)	339(6)
$(M-CH_3)^+$	313(14)	—	—	—
$(M-C^2H_3)^+$	—	316(15)	319(17)	322(16)
$(M-OH)^+$	311(8)	317(5)	320(6)	323(5)
$(M-CO)^+$	300(100)	306(100)	309(100)	312(100)
$(M-CH_3O)^+$	297(7)	—	—	—
$(M-C^2H_3O)^+$	—	300(5)	303(6)	306(5)
$(M-CO-CH_3)^+$	285(15)	291(14)	—	—
$(M-CO-C^2H_3)^+$	—	288(3)	291(13)	294(14)
$(M-CH_3O-CO)^+$	269(4)	—	—	—
$(M-C^2H_3O-CO)^+$	—	272(4)	275(5)	278(4)
$(M-CH_3-2CO)^+$	257(5)	—	—	—
$(M-C^2H_3-2CO)^+$	—	260(4)	263(5)	266(4)
( $e$ )	195(45)	201(42)	201(43)	204(48)
( $e-CH_3$ )	180(17)	—	—	—
( $e-C^2H_3$ )	—	183(12)	183(14)	186(11)
( $e-CO+H$ )	168(10)	174(9)	174(9)	177(8)
( $e-CO$ )	167(5)	173(2)	173(3)	176(1)
( $\kappa$ )	161(18)	161(16)	164(17)	164(14)
( $e-CH_3-CO$ )	152(9)	—	—	—
( $e-C^2H_3-CO$ )	—	155(8)	155(18)	158(7)
$(M-CO)^{2+}$	150(31)	153(29)	154,5(30)	156(30)
( $\kappa-CO$ )	133(13)	133(11)	136(12)	136(16)
( $\delta$ ) R=H	121(30)	121(4)	124(9)	124(4)
R= $^2H$	—	123(15)	126(16)	126(13)
R=H $^2$ , H	—	122(8)	125(19)	125(8)

нов таутомерное превращение их молекулы в условиях масс-спектрометрирования в соответствующий флаванон, прослеживая в масс-спектрах наличие путей фрагментации обеих таутомерных форм. Для распада молекулярного иона, происходящего из халкона, характерно образование ионов ( $e$ ) и ( $\kappa$ ). В работе [11] описывается выброс из молекулярного иона группы CO с образованием ион-радикала ( $\alpha$ ), интенсивность пика которого еще меньше. Лишь в работе Шмида с сотр. [9] кратко приведены данные масс-спектров халконов, полученных при исчерпывающем тридейтерометилировании полиоксифлаванонов (пиноцембрин, нарингенин (I) и эриодиктиол). Авторы впервые отмечают наличие в спектрах этих халконов пиков ионов  $(M-CO)^+$ , имеющих максимальную интенсивность. Они полагают, что это является следствием присутствия в орто-положении к группе CO двух алкоксильных групп.

Нами были изучены масс-спектры 2',4',6',4'-тетразамещенных халконов (IV)–(VII) (см. схему 2), полученных при исчерпывающем метилировании и тридейтерометилировании флаванонов (I)–(III).

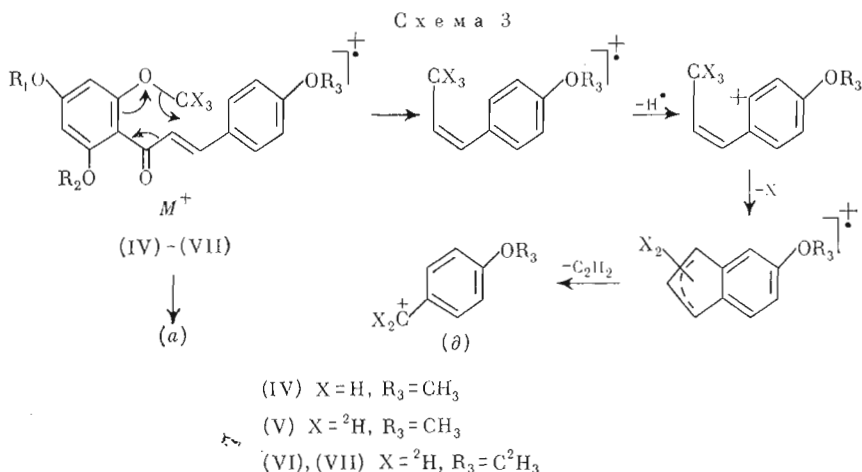
По сравнению с флаванонами (I)–(III) в масс-спектрах халконов (IV)–(VII) несколько снижена интенсивность пиков молекулярных ионов и значительно — пиков ионов  $(M-H)^+$ . Отмеченные в литературе флаваноновые пути распада просматриваются нечетко или не просматриваются вовсе. Доминирующим процессом распада является выброс из молекулярного иона группы CO, во всех случаях подтверждаемый наличием

Схема 2



метастабильных пиков ( $m^*$ ), с последующим элиминированием радикалов  $R_2\cdot$  или  $R_3\cdot$ . Кроме того, молекулярный ион элиминирует радикал  $OR_2\cdot$ , о чем свидетельствует наличие метастабильного пика в спектре халкона (VII), и далее группу CO (см. схему 2 и табл. 3). В спектрах наблюдаются также малоинтенсивные пики ионов  $(M-R_2)^+$  и  $(M-OH)^+$ . Однако все рассмотренные ионы не дают информацию о расположении заместителей

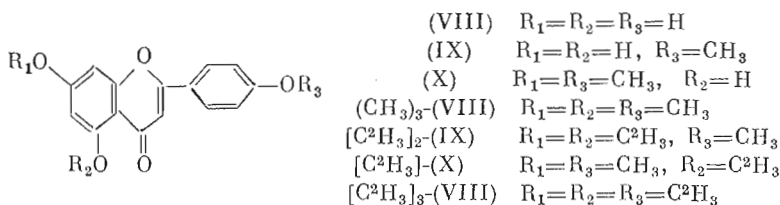
в ароматических кольцах. Как и в описанных в литературе случаях, наиболее характеристичными в изученных нами масс-спектрах халконов (IV)–(VII) являются ионы, образующиеся при разрыве связей около группы CO, а именно ионы (*e*) и (*ж*). Одновременно при локализации заряда на другой части молекулы образуются ионы (*б*-H) и (*u*), а при миграции к ним протона — ионы (*б*) и (*u*+H) (см. схему 3). Ион (*e*), элиминируя радикал  $R_2\cdot$ , превращается в ион (*a*), далее теряющий группу CO. Описанного в работе [11] выброса из молекулярного иона элементов кольца *B* в изученных нами случаях не наблюдалось.



Следует особо остановиться на происхождении иона (*б*) (спектр халкона (IV)), который по величине ( $m/e$  121) совпадает со значением  $m/e$  иона (*б*) в спектре флаванона (III). В спектрах халконов (V)–(VII) этот пик смещается к  $m/e$  123, 126 соответственно (см. табл. 3). Это смещение указывает на участие в образовании этого иона одной из *o*-тридегтерометильных групп. Основываясь на литературных аналогиях [11, 12], этот процесс можно изобразить схемой 3.

Таким образом, диагностическое значение для определения характера и локализации заместителей в кольцах *A* и *B* в полиоксизамещенных халконах имеют ионы (*a*), (*a*-CO), (*б*), (*б*-H), (*б*), (*e*), (*ж*), (*e*-CO) и (*ж*).

Далее нами были изучены масс-спектры трех 5, 7, 4'-замещенных флавонов: 5,7,4'-триоксифлавона (апигенина, VIII), 5,7-диокси-4'-метоксифлавона (акацетина, IX) и 5-окси-7,4'-диметоксифлавона (X), их полного метилового эфира (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-(VIII) и тридегтерометильных эфиров [C<sup>2</sup>H<sub>5</sub>]<sub>3</sub>-(VIII)–[C<sup>2</sup>H<sub>5</sub>]<sub>3</sub> (X).



Полученные спектры апигенина (VIII) и акацетина (IX) близко совпадают с описанными в литературе [4]. Для спектров всех флавонов этой группы (см. табл. 4) характерна 100%-ная интенсивность пика молекулярного иона и низкая интенсивность пика иона (*M*-H)<sup>+</sup>. В случае фла-

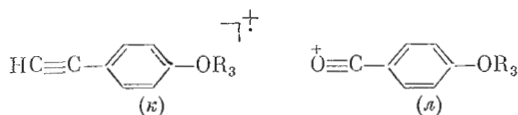
Массовые числа ( $m/e$ ) характеристических ионов в масс-спектрах флавонов (VIII)–(X) и продуктов их полного метилирования и тридегтерометилирования  
В скобках относительная интенсивность в %

Ионы	(VIII)	(IX)	(X)	$[(CH_3)_3]_3^-$ (VIII)	$[C^2H_3]_3^-(X)$	$[C^2H_3]_2^-$ (IX)	$[C^2H_3]_3^-$ (VIII)
$M^+$	270(100)	284(100)	298(100)	312(100)	315(100)	318(100)	321(100)
$(M-H)^+$	269(14)	283(9)	297(11)	311(57)	314(27)	317(27)	320(28)
$(M-^2H)^+$	—	—	—	—	313(30)	316(32)	319(27)
$(M-CH_3)^+$	—	269(4)	283(2)	297(2)	—	—	—
$(M-C^2H_3)^+$	—	—	—	—	297*(6)	300*(6)	303*(7)
$(M-OH)^+$	—	—	—	295(6)	298(3)	301(3)	304(2)
$(M-O^2H)^+$	—	—	—	—	297*(6)	300*(6)	303*(7)
$(M-H_2O)^+$	—	—	—	294(4)	297*(6)	300*(6)	303*(7)
$(M-^2H_2O)^+$	—	—	—	—	295(5)	298(5)	301(6)
$(M-CO)^+$	242(10)	256(5)	270(4)	284(6)	287(1)	290(1)	—
$(M-HCO)^+$	241(5)	255(4)	269(15)	283(28)	286(5)	289(6)	292(6)
$(M-^2HCO)^+$	—	—	—	—	285(24)	288(22)	291(20)
$(M-CH_2O)^+$	—	254(1)	268(5)	282(13)	—	—	—
$(M-C^2H_2O)^+$	—	—	—	—	283(10)	286(11)	289(10)
$(M-CH_3O)^+$	—	253(2)	267(2)	281(17)	284(13)	287(4)	—
$(M-C^2H_3O)^+$	—	—	—	—	281(2)	284(12)	287(12)
$(M-CH_3-CO)^+$	—	241(9)	255(9)	269(4)	272(4)	275(3)	—
$(M-C^2H_3-CO)^+$	—	—	—	—	269(3)	272(5)	275(6)
$(M-CO-H_2O)^+$	—	—	—	266(29)	—	—	—
$(M-CO-^2H_2O)^+$	—	—	—	—	267(28)	270(29)	273(29)
$(a+H)$	153(23)	153(4)	167(2)	—	—	—	—
$(a)$	152(18)	152(12)	166(14)	180(1)	183(2)	—	—
$(a-CO)$	124(12)	124(9)	138(9)	152(3)	155(3)	158(3)	—
$(a-CH_3CO)$	—	—	123(3)	137(6)	140(2)	—	—
$(a-C^2H_3CO)$	—	—	—	—	137(6)	140(8)	—
$(\lambda)$	121(21)	135(6)	135(19)	135(5)	135(4)	135(7)	138(16)
$(\kappa)$	118(15)	132(29)	132(14)	132(27)	132(29)	132(29)	135(25)
$(\kappa-R_3)$	117(4)	117(9)	117(5)	117(8)	117(7)	117(8)	117(9)
$(\lambda-CO)$	93(5)	—	107(2)	107(3)	107(6)	107(3)	110(13)

\* По-видимому, в данном случае имеет место наложение пиков ионов разного состава.

ионов (IX) и (X) молекулярный ион теряет группы CO, HCO, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>O, CH<sub>3</sub>O и CH<sub>3</sub>CO. Присутствие метастабильного иона в спектре флавона (X) ( $m/e$  298 →  $m/e$  269,  $m^*$  243,0, вычислено 242,8) указывает на образование иона  $(M-CHO)^+$ . Представляет интерес тот факт, что метилирование группы OH при 4'-C флавона (IX) не влияет на интенсивность пика этого иона, но введение второй метоксильной группы в положение 7-C флавона (X) приводит к возрастанию его интенсивности почти в 4 раза, а также к резкому возрастанию интенсивности пика иона  $(M-CH_2O)^+$ . В отличие от рассмотренных выше флавонов с таким же характером замещения у флавонов (VIII)–(X) не наблюдается выброса из молекулярного иона воды и гидроксильной группы. Только при полном метилировании молекулы [соединение  $(CH_3)_3^-$  (VIII)] в спектре появляются слабоинтенсивные пики ионов  $(M-OH)^+$  и  $(M-H_2O)$  ( $m/e$  312 →  $m/e$  294,  $m^*$  277,0, вычислено 277,0).

Ионы ( $\kappa$ ), ( $\kappa$ ), ( $\lambda$ ), имеющие важное диагностическое значение при структурной идентификации флавонов [7], очень интенсивны в спектрах соединений (VIII) и (IX). Для образования иона ( $\lambda$ ) характер заместителей в положениях 7-С и 4'-С не имеет значения, так как интенсивности соответствующих пиков в спектрах флавонов (VIII)–(X) близки. Замещение оставшейся гидроксильной группы на метоксильную приводит к резкому снижению интенсивности пика иона ( $\lambda$ ).



Ранее было показано [7], что 5,7,4'-триоксифлавоны (VIII) наряду с ионом ( $\lambda$ ) образует ион ( $\lambda+\text{H}$ ), причем считалось, что он не имеет диагностического значения для структурного анализа этого типа соединений. Как видно из данных табл. 4, появление в положении 4'-С метоксильной группы у флавона (IX) сразу приводит к практически полному исчезновению этого иона. Последующее введение метоксильных групп в положения 5-С и 7-С флавонов (X) и (XI) уже не влияет на интенсивность соответствующего ему пика. Таким образом, наличие в спектрах флавонов пиков иона ( $\lambda+\text{H}$ ) может свидетельствовать о присутствии свободной гидроксильной группы при 4'-С.

Последовательное метилирование флавонов (VIII)–(X) приводит к изменению соотношения интенсивностей пиков ионов ( $\kappa$ ) и ( $\lambda$ ) (см. табл. 4), что трудно поддается объяснению. При введении одной метоксильной группы в положение 4'-С наблюдается возрастание интенсивности пика иона ( $\kappa$ ) и снижение интенсивности пика иона ( $\lambda$ ). Напротив, при наличии второй группы в положении 7-С соотношение интенсивностей между ними практически то же, что и в спектре флавона (VIII). Метилирование оставшейся гидроксильной группы вновь приводит к возрастанию интенсивности пика иона ( $\kappa$ ) и снижению таковой у пика иона ( $\lambda$ ).

Полное метилирование молекулы (соединение  $(\text{CH}_3)_3$ - (VIII)) сопровождается возрастанием интенсивности ряда пиков по сравнению со спектром флавона (X), имеющего одну гидроксильную группу при 5-С, а именно пиков ионов  $(\text{M}-\text{H})^+$ ,  $(\text{M}-\text{HCO})^+$  ( $m/e$  312  $\rightarrow$   $m/e$  281,  $m^*$  253,0, вычислено 253,1),  $(\text{M}-\text{CH}_2\text{O})^+$ ,  $(\text{M}-\text{CH}_3\text{O})^+$  ( $m/e$  312  $\rightarrow$   $m/e$  283,  $m^*$  256,5, вычислено 256,7), и появлением в спектре пика иона  $(\text{M}-\text{CH}_2\text{O}_2)^+$  с интенсивностью 29% ( $m/e$  312  $\rightarrow$   $m/e$  266,  $m^*$  226,5, вычислено 226,8). Введение одной тридейтерометоксильной группы в положение 5-С эфира  $[\text{C}^2\text{H}_3]$ - (X) вызывает появление в спектре ионов, содержащих атомы дейтерия. Интенсивность пиков этих ионов во всех случаях превосходит интенсивность пиков аналогичных ионов в спектрах соединений, не содержащих дейтерия. Это указывает на то, что в образовании этих ионов участвует в основном заместитель при 5-С. В спектрах всех тридейтерометилловых эфиров  $[\text{C}^2\text{H}_3]_3$ - (VIII)– $[\text{C}^2\text{H}_3]_3$ - (X) присутствуют примерно равные по интенсивности пики ионов  $(\text{M}-\text{H})^+$  и  $(\text{M}-^2\text{H})^+$ . Это указывает на то, что в образовании иона  $(\text{M}-\text{H})^+$  в равной степени участвуют как атомы водорода заместителя при 5-С, так и ароматического кольца молекулы (видимо, прежде всего атом водорода при 3-С).

Далее были изучены масс-спектры четырех флавонолов с 3,5,7,4'-типом замещения: 3,5,7,4'-тетраоксифлавоны (кемпферола, XI), 3,5-диокси-7,4'-диметоксифлавоны (XII), 5,7-диокси-3,4'-диметоксифлавоны (XIII), 3,5,7-триокси-4'-метоксифлавоны (кемпфериды, XIV), полного метилового эфира  $(\text{CH}_3)_4$ - (XI) и тридейтерометилловых эфиров  $[\text{C}^2\text{H}_3]_2$ - (XII)– $[\text{C}^2\text{H}_3]_3$ - (XIV) и  $[\text{C}^2\text{H}_3]_4$ - (XI) (см. табл. 5).

В масс-спектрах флавонолов доминируют пики молекулярных ионов. У соединений (XII)–(XIV) молекулярный ион элиминирует группы CO,



Таблица 5

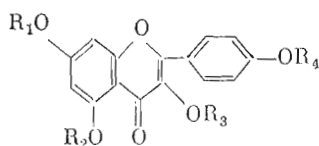
Массовые числа ( $m/e$ ) характеристических ионов в масс-спектрах флавонолов (XI)–(XIV) и продуктов их полного метилирования и тридегтерометилирования

В скобках относительная интенсивность в %

Ионы	(XI)	(XII)	(XIII)	(XIV)	$[CH_3]^+$ (XI)	$[C^2H_3]^+$ (XII)	$[C^2H_3]^+$ (XIII)	$[C^2H_3]^+$ (XIV)	$[C^2H_3]^+$ (XV)
$M^+$	286 (100)	314 (100)	314 (100)	300 (100)	342 (91)	348 (98)	348 (91)	351 (93)	354 (97)
$(M-H)^+$	285 (17)	313 (6)	313 (69)	299 (9)	341 (100)	347 (100)	347 (100)	350 (100)	353 (100)
$(M-^2H)^+$	—	—	—	—	—	346 (20)	346 (9)	349 (23)	352 (15)
$(M-CH_3)^+$	—	299 (11)	299 (9)	285 (13)	327 (16)	333 (6)	333 (13)	336 (6)	—
$(M-C^2H_3)^+$	—	—	—	—	—	330* (15)	330 (10)	333* (15)	336* (19)
$(M-H_2O)^+$	—	—	296 (14)	—	324 (9)	330* (15)	330* (10)	333* (15)	336* (19)
$(M-H-H_2O)^+$	—	—	295 (10)	—	323 (39)	329 (6)	329 (19)	332 (7)	335 (6)
$(M-H-HO^2H)^+$	—	—	—	—	—	328 (14)	328 (23)	331 (23)	334 (14)
$(M-H-^2H_2O)^+$	—	—	—	—	—	327 (31)	327 (2)	330 (35)	333 (30)
$(M-CO)^+$	258 (8)	286 (3)	286 (3)	272 (3)	314 (3)	—	—	—	—
$(M-HCO)^+$	257 (7)	285 (6)	285 (16)	271 (6)	313 (14)	319 (5)	319 (3)	322 (5)	325 (3)
$(M-^2HCO)^+$	—	—	—	—	—	318 (12)	318 (14)	321 (11)	324 (11)
$(M-CH_3O)^+$	—	283 (2)	283 (9)	269 (1)	311 (14)	317 (6)	317 (8)	320 (5)	324 (11)
$(M-C^2H_3O)^+$	—	—	—	—	—	314 (6)	314 (4)	317 (7)	320 (7)
$(M-CH_3-CO)^+$	—	271 (10)	271 (47)	257 (7)	299 (8)	305 (4)	305 (8)	308 (3)	—
$(M-C^2H_3-CO)^+$	—	—	—	—	—	302 (8)	302 (3)	305 (9)	308 (8)
$(M-HCO-CO)^+$	229 (6)	257 (1)	257 (1)	243 (2)	285 (1)	—	—	—	—
$(M-CH_3-2CO)^+$	—	243 (4)	243 (2)	229 (6)	271 (1)	—	—	—	—
$(M-C^2H_3-2CO)^+$	—	—	—	—	—	274 (1)	274 (2)	277 (1)	280 (1)
$(a+H)$	153 (5)	167 (2)	153 (2)	153 (2)	181 (7)	184 (3)	187 (9)	187 (2)	187 (1)
$(a+^2H)$	—	—	—	—	—	185 (9)	188 (2)	188 (7)	188 (7)
$(a)$	152 (1)	166 (1)	152 (3)	152 (1)	180 (3)	183 (4)	186 (3)	186 (3)	186 (3)
$(a-CO)$	124 (1)	138 (1)	124 (3)	124 (3)	152 (1)	155 (9)	158 (5)	158 (5)	158 (3)
$(a-CH_3-CO)$	—	123 (2)	—	109 (1)	137 (5)	140 (3)	—	—	—
$(a-C^2H_3-CO)$	—	—	—	—	—	137 (10)	140 (8)	140 (9)	140 (8)
$(a)$	121 (14)	135 (11)	135 (18)	135 (7)	135 (28)	135 (28)	135 (21)	135 (23)	138 (20)
$(a-CO)$	93 (5)	107 (2)	107 (4)	107 (2)	107 (5)	107 (9)	107 (6)	107 (6)	110 (5)
$(M-CO)^{2+}$	—	—	—	136 (7)	157 (27)	160 (30)	160 (31)	161,5 (29)	163 (27)

\* См. примечание к табл. 4.

НСО, CH<sub>3</sub> и CH<sub>3</sub>O, но выброса фрагмента CH<sub>2</sub>O не наблюдается.



(XI)	R <sub>1</sub> =R <sub>2</sub> =R <sub>3</sub> =R <sub>4</sub> =H
(XII)	R <sub>1</sub> =R <sub>4</sub> =CH <sub>3</sub> , R <sub>2</sub> =R <sub>3</sub> =H
(XIII)	R <sub>1</sub> =R <sub>2</sub> =H, R <sub>3</sub> =R <sub>4</sub> =CH <sub>3</sub>
(XIV)	R <sub>1</sub> =R <sub>2</sub> =R <sub>3</sub> =H, R <sub>4</sub> =CH <sub>3</sub>
[CH <sub>3</sub> ] <sub>4</sub> -(XI)	R <sub>1</sub> =R <sub>2</sub> =R <sub>3</sub> =R <sub>4</sub> =CH <sub>3</sub>
[C <sup>2</sup> H <sub>3</sub> ] <sub>2</sub> -(XII)	R <sub>1</sub> =R <sub>4</sub> =CH <sub>3</sub> , R <sub>2</sub> =R <sub>3</sub> =C <sup>2</sup> H <sub>3</sub>
[C <sup>2</sup> H <sub>3</sub> ] <sub>2</sub> -(XIII)	R <sub>1</sub> =R <sub>2</sub> =C <sup>2</sup> H <sub>3</sub> , R <sub>3</sub> =R <sub>4</sub> =CH <sub>3</sub>
[C <sup>2</sup> H <sub>3</sub> ] <sub>3</sub> -(XIV)	R <sub>1</sub> =R <sub>2</sub> =R <sub>3</sub> =C <sup>2</sup> H <sub>3</sub> , R <sub>4</sub> =CH <sub>3</sub>
[C <sup>2</sup> H <sub>3</sub> ] <sub>4</sub> -(XI)	R <sub>1</sub> =R <sub>2</sub> =R <sub>3</sub> =R <sub>4</sub> =C <sup>2</sup> H <sub>3</sub>

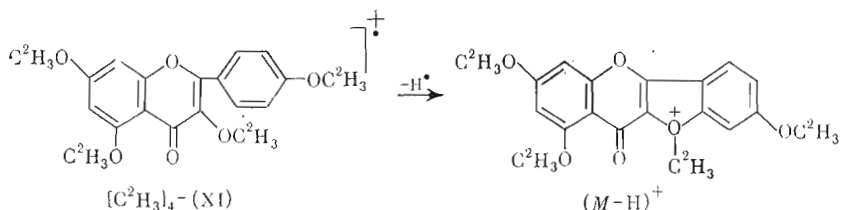
Судя по присутствию в спектрах метастабильных пиков, образование иона ( $M-\text{CH}_3-\text{CO}$ )<sup>+</sup> у флавонолов происходит ступенчато: сначала выбрасывается группа CH<sub>3</sub>, а затем группа CO [(XII),  $m/e$  299 →  $m/e$  271,  $m^*$  245,5, вычислено 245,6; (XIV),  $m/e$  285 →  $m/e$  257,  $m^*$  232,0, вычислено 231,7]. Пики этих ионов у флавонолов (XII) и (XIV) с двумя гидроксильными группами при 3-С и 5-С имеют низкую интенсивность. Введение метоксильной группы в положение 3-С [флаван (XIII)] приводит к резкому возрастанию интенсивности пика рассматриваемого иона, но метилирование обеих гидроксильных групп в положениях 3-С и 5-С снижает его интенсивность до того уровня, который имеется в спектрах флавонолов (XII) и (XIV). По-видимому, необходимым условием образования иона ( $M-\text{CH}_3-\text{CO}$ )<sup>+</sup> является присутствие в положении 3-С метоксильной и в положении 5-С гидроксильной групп, т. е. этот ион также может иметь диагностическое значение. Ионы ( $M-\text{CH}_3-\text{CO}$ )<sup>+</sup> у флавонолов элиминируют вторую группу CO, что также подтверждается наличием метастабильных пиков [(XII) и (XIII),  $m/e$  271 →  $m/e$  243,  $m^*$  217,9, вычислено 218,0; (XIV),  $m/e$  257 →  $m/e$  229,  $m^*$  204,0, вычислено 204,1].

Ион ( $M-\text{НСО}$ )<sup>+</sup> у флавонолов образуется путем непосредственного элиминирования фрагмента НСО из молекулярного иона, на что указывает наличие соответствующих метастабильных пиков в спектрах (XII) и (XIII). Введение в положение 3-С метоксильной группы у флавана (XIII) приводит к возрастанию интенсивности пика этого иона. При полном метилировании молекулы пик иона ( $M-\text{НСО}$ )<sup>+</sup> сохраняет сравнительно высокую интенсивность. В спектрах тридейтерометилловых эфиров [C<sup>2</sup>H<sub>3</sub>]<sub>2</sub>-(XII) и [C<sup>2</sup>H<sub>3</sub>]<sub>2</sub>-(XIII) интенсивности пиков ионов ( $M-\text{НСО}$ )<sup>+</sup> одинаковы и превосходят интенсивность иона ( $M-\text{НСО}$ )<sup>+</sup>, который, по-видимому, образуется преимущественно за счет заместителя при 5-С, как это имеет место у полных метиловых эфиров флавонов. При дальнейшей фрагментации иона ( $M-\text{НСО}$ )<sup>+</sup> у флавонолов наблюдается выброс группы СО, что подтверждается присутствием соответствующего метастабильного пика в спектре соединения (XI).

Пики ионов ( $M-\text{Н}$ )<sup>+</sup> в масс-спектрах всех флавонолов, содержащих две гидроксильные группы в положениях 3-С и 5-С (XI, XII, XIV), имеют низкую интенсивность. Введение в положение 3-С метоксильной группы у флавана (XIII) вызывает возрастание интенсивности пика иона ( $M-\text{Н}$ )<sup>+</sup>, а также появление в спектре ионов ( $M-\text{Н}_2\text{O}$ )<sup>+</sup> и ( $M-\text{Н}-\text{Н}_2\text{O}$ )<sup>+</sup>. Полное метилирование сопровождается дальнейшим возрастанием интенсивностей пиков ионов ( $M-\text{Н}$ )<sup>+</sup> и ( $M-\text{Н}-\text{Н}_2\text{O}$ )<sup>+</sup>. Образование последнего иона путем выброса воды из иона ( $M-\text{Н}$ )<sup>+</sup> подтверждается соответствующим метастабильным пиком в спектре (CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>-(XI) ( $m/e$  341 →  $m/e$  323,  $m^*$  306,0, вычислено 306,0).

В спектрах всех тридейтерометилловых эфиров флавонолов, в том числе и полностью тридейтерометилированного соединения [C<sup>2</sup>H<sub>3</sub>]<sub>4</sub>-(XI), пик иона ( $M-\text{Н}$ )<sup>+</sup> доминирует, а пик иона ( $M-\text{Н}$ )<sup>+</sup> значительно менее интенсивен. Это указывает на то, что у полных метиловых эфиров флавонолов в

образовании иона  $(M-H)^+$  участвуют в основном протоны ароматического кольца. Основываясь на литературной аналогии [7], можно полагать, что отрыв протона в этом случае происходит от 6-С или 2-С кольца *B* с образованием стабильной циклической структуры:



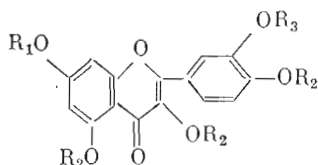
Наличие в спектре наряду с  $(M-H)^+$  менее интенсивного иона  $(M-^2H)^+$  указывает и на альтернативную возможность выброса атома водорода от заместителя при 3-С, что и было предположено ранее для аналогичных случаев [7].

В спектрах эфиров флавонолов, имеющих две тридейтерометоксильные группы в положениях 3-С и 5-С, наряду с малоинтенсивным пиком иона  $(M-H-H_2O)^+$  наблюдается образование интенсивности пика иона  $(M-H-^2H_2O)^+$ , что подтверждается присутствием в спектрах соединений  $[C^2H_3]_2^-$  (XII),  $[C^2H_3]_3^-$  (XIV) и  $[C^2H_3]_4^-$  (XI) соответствующих метастабильных пиков. В спектре эфира  $[C^2H_3]_2^-$  (XIII), содержащего при 3-С метоксильную и при 5-С тридейтерометоксильную группы, выброс  $^2H_2O$  из  $(M-H)^+$  является нехарактерным ( $m/e$  326, 2%), но наряду с пиком иона  $(M-H-H_2O)^+$  ( $m/e$  329, 19%) в спектре присутствует превосходящий его по интенсивности пик с  $m/e$  328 (23%), соответствующий иону  $(M-H-HO^2H)^+$ . По-видимому, при образовании этого иона у полных метиловых эфиров флавонолов элиминируемая молекула воды формируется за счет атомов водорода заместителей при 3-С и 5-С одновременно.

В отличие от флавонов у флавонолов ионы (*a*) и (*κ*) практически отсутствуют в спектрах. Пик иона (*l*) имеет достаточную интенсивность и может быть использован при их структурной идентификации. Интенсивность иона (*a+H*) у флавонолов составляет всего 2–5% независимо от типа заместителя при 3-С, а у полного метилового эфира равна 7%. У полных метиловых эфиров флавонолов, имеющих при 3-С метоксильную группу, пик иона (*a+H*) интенсивнее пика иона (*a+^2H*). Это согласуется с предложенным ранее механизмом образования этого иона путем миграции атома водорода заместителя при 3-С к фрагменту кольца *A* [7].

В отличие от флаванонов и флавонов в спектрах флавонолов присутствуют пики двузарядных ионов  $(M-CO)^{2+}$ , имеющие интенсивность 7–8%. В спектрах полных метиловых эфиров интенсивность пиков этих ионов возрастает до 27–31%.

Далее мы изучили масс-спектры двух флавонолов с 3,5,7,3',4'-типом замещения: 3,5,7,3',4'-пентаоксифлавона (кверцетина, XV), 3,5,7,4'-тетраокси-3'-метоксифлавона (изорафлетина, XVI), полного метилового эфира  $(CH_3)_5-$  (XV) и тридейтерометиловых эфиров  $[C^2H_3]_4-$  (XVI) и  $[C^2H_3]_5-$  (XV) (см. табл. 6).



(XV)	$R_1=R_2=R_3=H$
(XVI)	$R_1=R_2=H, R_3=CH_3$
$(CH_3)_5-$ (XV)	$R_1=R_2=R_3=CH_3$
$[C^2H_3]_4-$ (XVI)	$R_1=R_2=C^2H_3, R_3=CH_3$
$[C^2H_3]_5-$ (XV)	$R_1=R_2=R_3=C^2H_3$

Распад молекулярных ионов этих флавонолов и их эфиров качественно не отличается от распада рассмотренных выше флавонолов с 3,5,7,4'-типом

Массовые числа ( $m/e$ ) характеристических ионов в масс-спектрах флавонолов (XV), (XVI) и продуктов их полного метилирования и тридейтерометилирования  
В скобках относительная интенсивность в %

Ионы	(XV)	(XVI)	(CH <sub>3</sub> ) <sub>5</sub> <sup>-</sup> (XV)	[C <sup>2</sup> H <sub>3</sub> ] <sub>4</sub> <sup>-</sup> (XVI)	(C <sup>2</sup> H <sub>3</sub> ) <sub>5</sub> <sup>-</sup> (XV)
$M^+$	302(100)	316(100)	372(100)	384(100)	387(100)
$(M-H)^+$	301(16)	315(12)	371(74)	383(74)	386(77)
$(M-^2H)^+$	—	—	—	382(18)	385(19)
$(M-CH_3)^+$	—	301(6)	357(57)	369(48)	—
$(M-C^2H_3)^+$	—	—	—	366(15)	369(60)
$(M-H_2O)^+$	—	—	354(6)	—	—
$(M-H-H_2O)^+$	—	—	353(20)	365(5)	368(10)
$(M-H-HO^2H)^+$	—	—	—	364(9)	367(9)
$(M-H-^2H_2O)^+$	—	—	—	363(17)	366(18)
$(M-CO)^+$	274(6)	288(4)	344(3)	356(2)	359(1)
$(M-HCO)^+$	273(7)	287(10)	343(10)	355(6)	358(3)
$(M-^2HCO)^+$	—	—	—	354(16)	357(7)
$(M-CH_3O)^+$	—	285(2)	341(20)	353(15)	—
$(M-C^2H_3O)^+$	—	—	—	350(11)	353(19)
$(M-CH_3-CO)^+$	—	273(3)	329(10)	341(4)	—
$(M-C^2H_3-CO)^+$	—	—	—	338(13)	341(14)
$(M-HCO-CO)^+$	245(4)	259(1)	315(1)	—	—
$(M-^2HCO-CO)^+$	—	—	—	326(1)	—
$(M-CH_3-2CO)^+$	—	245(6)	301(2)	—	—
$(a+H)$	153(8)	153(5)	181(7)	187(3)	187(2)
$(a+^2H)$	—	—	—	188(7)	188(7)
$(a)$	152(1)	152(1)	180(1)	186(2)	186(2)
$(a-CO)$	124(2)	124(3)	152(2)	158(4)	158(3)
$(a-CH_3)$	—	137(2)	165(7)	171(3)	—
$(a-C^2H_3)$	—	—	—	168(10)	168(2)
$(a-CH_3CO)$	—	109(2)	137(5)	143(2)	—
$(a-C^2H_3CO)$	—	—	—	140(11)	140(7)
$(\lambda)$	137(12)	151(5)	165(7)	168(10)	171(8)
$(\lambda-CO)$	109(4)	123(4)	137(5)	140(11)	143(3)
$(M-CO)^{2+}$	—	—	172(23)	178(25)	179,5(29)

замещения. Преобладающим по интенсивности в их спектрах является пик молекулярного иона. Пик иона  $(M-H)^+$  в спектре полного метилового эфира имеет интенсивность 74%. У полностью тридейтерометилированного соединения  $[C^2H_3]_5^-$  (XV), как и в случае рассмотренного выше соединения  $[C^2H_3]_4^-$  (XI), пик иона  $(M-H)^+$  значительно превосходит по интенсивности пик иона  $(M-^2H)^+$  (см. табл. 5). Это дополнительно свидетельствует об образовании иона  $(M-H)^+$  за счет протонов ароматического кольца у молекул этого типа. Оба изученных тридейтерометилловых эфира (см. табл. 6) имеют в положениях 3-С, 5-С тридейтерометоксильные группы. Поэтому в ряду дегидратационных ионов по интенсивности преобладает пик иона  $(M-H-^2H_2O)^+$ . Поскольку оба эфира имеют в положении 3-С тридейтерометоксильную группу, естественно, что пик иона  $(a+^2H)$  в спектрах превосходит по интенсивности пики ионов  $(a)$  и  $(a+H)$ . В спектрах полных метиловых эфиров присутствует пик двузарядного иона  $(M-CO)^{2+}$  с интенсивностью 23—29%, отсутствующий в спектрах флавонолов.

## Экспериментальная часть

Масс-спектры записаны на приборе LKB-2091 при температуре 100–120°С, потенциал ионизации 70 эВ\*. Спектры высокого разрешения снимали на приборе AEIMS-30 с системой обработки данных DS-50. УФ-спектры записаны на приборе Spesord (ГДР), спектры ЯМР — на приборе Varian XL-100 (США). В качестве растворителя использовали дейтерохлороформ. ИК-спектры снимали на приборе UR-20 (ГДР). Используемые сокращения: п — плечо, с — синглет, д — дублет, к — квадруплет.

Соединения (II), (III), (VIII)–(X), (XII)–(XIV), (XVI) выделены нами ранее из почек березы бородавчатой [2]. 5,7,4'-Триоксифлаванон (нарингенин, I) получили из ВИПР Министерства медицинской промышленности, образцы 3,5,7,4'-тетраоксифлавона (кемпферол, XI) и 3,5,7,3',4'-пентаоксифлавона (кверцетин, XV) — из Института органической химии СО АН СССР. Способ получения и спектральные характеристики 2',4',6',4'-тетраметоксифлавона (IV) и 3,5,7,4'-тетраметоксифлавона (СН<sub>3</sub>)<sub>4</sub>-(XI) описаны ранее [13].

5,7,4'-Триметоксифлаванон (СН<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-(VIII) получили из 5-окси-7,4'-диметоксифлавона (IX), как описано ранее [13], С<sub>18</sub>Н<sub>16</sub>О<sub>5</sub>, т. пл. 156–157°С (бензол — гептан); ИК (КВг, ν, см<sup>-1</sup>): 1650, 1608, 1570, 1515, 1490; УФ (этанол, λ<sub>макс</sub>, нм): 266, 326 (lg ε 4,47; 4,52); спектр ЯМР (м.д.): 3,89 с (4'-ОСН<sub>3</sub>), 3,92с (7-ОСН<sub>3</sub>), 3,97с (5-ОСН<sub>3</sub>), 6,36д (J 2 Гц, 6-Н), 6,56д (J 2 Гц, 8-Н), 6,58с (3-Н), 7,00д (J 9 Гц, 3'- и 5'-Н), 7,82д (J 9 Гц, 2'-, 6'-Н).

3,5,7,3',4'-Пентаметоксифлаванон (СН<sub>3</sub>)<sub>5</sub>-(XV) получили из изорамнетина (XVI), как описано ранее [13], С<sub>20</sub>Н<sub>20</sub>О<sub>7</sub>, т. пл. 152–153°С (бензол — гептан); ИК (КВг, ν, см<sup>-1</sup>): 1635, 1610, 1520, 1490; УФ (этанол, λ<sub>макс</sub>, нм): 249, 265п, 340 (lg ε 4,44; 4,49); спектр ЯМР (м.д.): 3,90с (4'-ОСН<sub>3</sub>), 3,93с (7-ОСН<sub>3</sub>), 3,96с (5-ОСН<sub>3</sub>, 3'-ОСН<sub>3</sub>, 3-ОСН<sub>3</sub>), 6,36д (J 2 Гц, 6-Н), 6,51д (J 2 Гц, 8-Н), 6,98д (J 9 Гц, 5'-Н), 7,60к (J 2 и 9 Гц, 2',6'-Н). Отнесение сигналов метоксильных групп основывали на данных ЯМР-спектров соответствующих тридейтерометиловых эфиров [3]. Тридейтерометилирование флавоноидов проводили в условиях, описанных ранее [13].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Коновенко Г. П., Поправко С. А., Вульфсон П. С. (1979) Биоорг. химия, 5, 1836–1842.
2. Коновенко Г. П., Поправко С. А., Вульфсон Н. С. (1975) Биоорг. химия, 1, 506–511.
3. Поправко С. А., Коновенко Г. П., Тихомирова В. И., Вульфсон Н. С. (1979) Биоорг. химия, 5, 1662–1667.
4. Reed R. I., Wilson J. M. (1963) J. Chem. Soc., 5949–5956.
5. Barnes C. S., Occolowitz J. L. (1964) Austr. J. Chem., 17, 975–986.
6. Audier H. (1966) Bull. Soc. chim. (France), 2892–2899.
7. Kingston D. G. I. (1971) Tetrahedron, 27, 2691–2700.
8. Mabry T. J., Markham K. R. (1975) in: The flavonoids (Harnborne J. B., Mabry T. J., eds), pp. 78–126, Chapman and Hall, London.
9. Schmid R. D., Mues R., McReynolds J. H., Velde G. V., Nakatani N., Rodriguez E., Mabry T. J. (1973) Phytochemistry, 12, 2765–2772.
10. Itagaki J., Kurokawa T., Sasaki S., Chang C.-F., Chen F.-C. (1966) Bull. Chem. Soc. Japan, 39, 538–543.
11. Van de Sande C., Serum J. W., Vandewalle M. (1972) Org. Mass Spectrom., 6, 1333–1346.
12. Köppel C., Schwarz H., Bohlmann F. (1974) Org. Mass Spectrom., 8, 25–29.
13. Поправко С. А., Гуревич А. И., Колосов М. Н. (1969) Химия природн. соед., 476–482.

Поступила в редакцию  
3.VIII.1979

\* Авторы выражают благодарность А. В. Сулема за снятие масс-спектров.

SECONDARY METABOLITES OF BIRCH. 6. A STUDY OF MASS SPECTROMETRIC  
BEHAVIOUR OF NATURAL FLAVONOID AGLYCONES AND THEIR  
PERMETHYLATION AND TRIDEUTERIOMETHYLATION PRODUCTS

KONONENKO G. P., POPRAYKO S. A., ROZYNOV B. V., ZAIKIN V. G.,  
WULFSON N. S.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences  
of the USSR, Moscow*

Electron impact induced fragmentation of molecular ions has been studied for the following flavonoid aglycones: 5,7,4'-substituted flavonones and flavones, 3,5,7,4'- and 3,5,7,3',4'-substituted flavonols, as well as for the products of their permethylation and trideuteromethylation.