



УДК 547.455.623'233.1+543.51

МАСС-СПЕКТРЫ ХИМИЧЕСКОЙ ИОНИЗАЦИИ МЕТИЛОВЫХ ЭФИРОВ

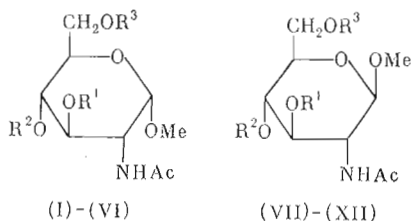
2-АЦЕТАМИДО-2-ДЕЗОКСИ-*D*-ГЛЮКОПИРАНОЗИДОВ

*Бадигицев В. И., Гаймаразов А. Г., Чижов О. С.,
Деревицкая В. А., Евстигнеев А. Ю., Ботликов М. Я.*

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

Измерены масс-спектры электронного удара и химической ионизации (газы-реагенты — метан и изобутан) и исследованы пути фрагментации частично метилированных α - и β -метил-2-ацетамидо-2-дезоксид-*D*-глюкопиранозидов. Показана возможность успешного применения масс-спектрометрии с химической ионизацией для установления структуры и стереохимии производных 2-ацетамидосахаров.

Масс-спектрометрический метод широко применяется для исследования различных производных углеводов [1, 2]. Особенно полезным он оказался для идентификации частично метилированных моносахаридов, которые предварительно превращают в соответствующие ацетаты полиолов и затем подвергают хроматомасс-спектрометрическому анализу [3]. Однако получение такого рода производных из метиловых эфиров аминсахаров связано с рядом методических трудностей. В связи с этим в настоящей работе изучены масс-спектры метиловых эфиров метил-2-ацетамидо-2-дезоксид- α (β)-*D*-глюкопиранозидов (I) — (XII) с целью дальнейшего использования полученных данных для анализа метиловых эфиров аминсахаров в виде легкодоступных метилгликозидов.



(I), (VII) $R^1=H, R^2=R^3=Me$
 (II), (VIII) $R^2=H, R^1=R^3=Me$
 (III), (IX) $R^3=H, R^1=R^2=Me$

(IV), (X) $R^1=R^2=H, R^3=Me$
 (V), (XI) $R^1=R^3=H, R^2=Me$
 (VI), (XII) $R^2=R^3=H, R^1=Me$

Масс-спектры электронного удара изученных соединений приведены в табл. 1.

Полученные нами данные, как и следовало ожидать, качественно совпадают с масс-спектрами электронного удара соответствующих метиловых

Масс-спектры электронного удара соединений (I)–(VI)

Соединение	Положение MeO-группы	m/z (относительная интенсивность, %)
(I)	4,6	71(100), 43(58), 45(49), 73(42), 59(34), 102(32), 101(28), 128(28)
(II)	3,6	43(100), 73(85), 45(67), 75(42), 115(41), 58(34), 69(31), 57(30)
(III)	3,4	73(100), 43(62), 115(59), 75(37), 45(35), 88(27), 128(24), 58(24)
(IV)	6	43(100), 59(94), 45(56), 101(41), 60(28), 73(25), 114(25), 57(22)
(V)	4	59(100), 71(57), 128(56), 43(54), 73(33), 88(32), 101(32), 60(31)
(VI)	3	43(100), 73(75), 75(53), 86(41), 115(41), 59(36), 45(32), 114(29)

Таблица 2

Масс-спектры химической ионизации (газ-реагент – метан) соединений (I)–(VI)

Тип иона	m/z	Относительная интенсивность, %			m/z	Относительная интенсивность, %		
		(I)	(II)	(III)		(IV)	(V)	(VI)
$[M+C_2H_5]^+$	304	3	3	3	290	2,6	1	–
$[M+C_2H_5]^+$	292	5	8	8,5	278	8	4	6
$[M+II]^+$	264	25	31	53	250	37	46	19
$[V-H]^+$	262	14	5	7	248	4	10	3
$[M+C_2H_5-MeOH]^+$	260	10	11	11	246	8,5	9	17
$[M+H-H_2O]^+$	246	1	3	3	232	10	3	7
$[M+H-MeOH]^+$	232	91	100	100	218	100	100	100
$[M+II-2H_2O]^+$					214	2	1	2
$[M+H-MeOH-H_2O]^+$	214	100	2,5	3	200	5,5	14	16
$[M+H-2MeOH]^+$	200	4	62	19	186	3	4	22
$[M+H-MeOH-2H_2O]^+$					182	3	2	–
$[M+H-2MeOH-H_2O]^+$	182	7	2	2	168	3	76	12
$[M+H-3MeOH]^+$	168	–	1	66				
$[M+H-MeOH-2H_2O-CH_2CO]^+$					140	2	–	–
$[M+H-2MeOH-H_2O-CH_2CO]^+$	140	5	3	2,5	126	9	6	34
$[MeOCH=CH-CH=N^+HAc]$	128	8	–	17	128	1	27	–
$[M+H-3MeOH-CH_2CO]^+$	126	2	12	2				
$[MeO-CH=CH-NHAc]^+$	115	–	10	24	115	–	4	10
$[MeOCH_2CH=CHOMe]^+$	102	11	–	–				
$[HO-CH=CH-NHAc]^+$	101	9	–	3	101	5	9	–
$[HOCH_2CH=CHOMe]^+$	88	–	–	8	88	–	–	–
$[MeO-CH=CH-OMe]$	75	–	13	22	75	–	–	14
$[MeO-CH=CH-NH_2]^+$	73	–	9	18	73	–	–	14
$[CH_2=CH-CH=OMe]$	71	22	–	–	71	–	13	–
$[HO-CH=CH-NH_2]^+$	59	10	–	–	59	5	15	–

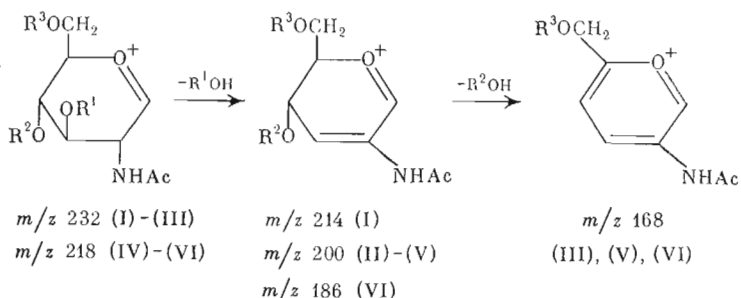
эфиров метил-2-ацетиамидо-2-дезоксид- α -D-галактопиранозид [4]. Как видно из табл. 1, наиболее интенсивные пики расположены в области низких масс и принадлежат ионам, содержащим один, два и три углеродных атома пиранозного кольца с их заместителями. Для масс-спектров соединений (II), (III), (VI), содержащих при 3-С метоксильную группу, характерно присутствие интенсивных пиков при m/z 75, 115 и 73. Замена MeO-группы в этом положении на гидроксильную ведет к исчезновению пика при m/z 75, уменьшению интенсивности пиков при m/z 115 и 73 и увеличению пиков при m/z 101 и 59. Интенсивный пик с m/z 128 характерен для масс-спектров соединений (I), (III), (V), несущих MeO-группу при 4-С. Однако этот последний признак недостаточно надежен, так как в масс-спектрах соединений (II), (IV), (VI) также имеются пики при m/z 128,

хотя и менее интенсивные. Отсутствие пиков M^+ -ионов и низкая интенсивность пиков тяжелых фрагментов, наличие характеристических фрагментных ионов лишь в области низких масс, использование которых всегда осложнено присутствием пиков примесей, делают масс-спектрометрию электронного удара недостаточно удобным аналитическим инструментом для идентификации метиловых эфиров метилгликозидов гексозаминов.

В связи с этим нами изучены масс-спектры соединений (I) – (VI) с применением химической ионизации (ХИМ-спектры, газ-реагент – метан). Результаты представлены в табл. 2.

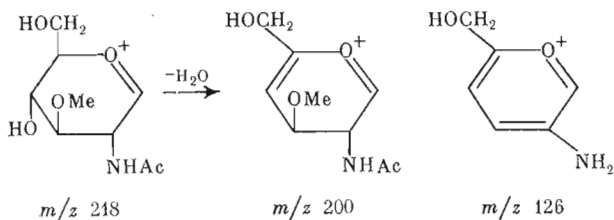
В отличие от масс-спектров электронного удара ХИМ-спектры соединений (I) – (VI) содержат всего по 3–4 интенсивных пика в области высоких масс. Протонированные молекулярные ионы имеют достаточно высокую интенсивность: порядка 20–50% с m/z 264 (для соединений (I) – (III)) и 250 (для соединений (IV) – (VI)). Наиболее интенсивные пики принадлежат гликозильным ионам $[M+H-MeOH]^+$ (кроме соединения (I)). Они располагаются при m/z 232 (соединения (I) – (III)) и m/z 218 (соединения (IV) – (VI)). Положение пиков $[M+H]^+$ - и $[M+H-MeOH]^+$ -ионов в ХИМ-спектре позволяет определить число метоксильных групп в молекуле.

Главным направлением дальнейшего распада гликозильного иона является последовательное отщепление заместителей от 3-С и 4-С в виде R^1OH и R^2OH . Аналогичный характер фрагментации наблюдается в ХИМ-спектрах метиловых эфиров метилгексопиранозидов [5]. Интересно, что отщепление R^2OH происходит в заметной степени только в том случае, если при 6-С имеется свободный гидроксил (соединения (III), (V), (VI)). Отщепление метанола от 4-С (соединения (III), (V)) идет легче, чем отщепление воды (соединение (VI)).



Таким образом, изомерные диметиловые эфиры легко отличить друг от друга по наличию интенсивных пиков при m/z 214, 200 и 168 соответственно для соединений (I) – (III), а изомерные монометиловые эфиры – по пикам при m/z 200, 168 и 186 для производных (IV) – (VI).

Наряду с описанным выше главным направлением распада $[M+H]^+$ -иона осуществляются и другие процессы его фрагментации. Так, кроме отщепления метанола от 1-С наблюдается отщепление R^1OH , R^2OH и R^3OH : пики $[M+H-H_2O]^+$ при m/z 246 (соединения (I) – (III)) и 232 (соединения (IV) – (VI)). Гликозильный ион способен терять заместитель при 4-С; таким путем образуется, например, ион с m/z 200 в ХИМ-спектре соединения (VI):



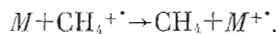
Времена удерживаний (τ , мин) и ХИМ-спектры (газ-реагент – метан) компонентов смеси (I)+(II)+(IV) и (III)+(V)+(VI) и индивидуальных соединений (I)–(VI) *

Тип иона	m/z	Относительная интенсивность, %					
		(I) τ 11,35	(II) τ 12,20	(V) τ 13,40	(III) τ 11,39	(VI) τ 13,49	(IV) τ 12,30
[M+C ₃ H ₅] ⁺	304	3(2)	3(2)	—	(2)	—	—
	290	—	—	2(2)	—	2(3)	1(4)
[M+C ₂ H ₆] ⁺	292	4(4)	5(2)	—	(2)	—	—
	278	—	—	2(2)	—	2(1)	3(1)
[M+H] ⁺	264	17(14)	12(8)	—	11(12)	—	—
	250	—	—	13(17)	—	9(8)	12(10)
[M-H] ⁺	262	12(9)	8(3)	—	3(3)	—	—
	248	—	—	6(6)	—	3(3)	3(2)
[M+C ₃ H ₅ -MeOH] ⁺	260	9(6)	13(8)	—	7(7)	—	—
	246	—	—	6(5)	—	11(8)	8(6)
[M+H-MeOH] ⁺	232	70(68)	89(65)	—	47(52)	—	—
	218	—	—	57(73)	—	100(100)	100(97)
[M+H-MeOH-H ₂ O] ⁺	214	100(100)	—	—	2(2)	—	—
	200	—	—	2(12)	—	12(5)	95(100)
[M+H-2MeOH] ⁺	200	4(2)	100(100)	—	16(21)	—	—
	186	—	—	2(2)	—	76(65)	—
[M+H-MeOH-2H ₂ O] ⁺	182	—	—	3(2)	—	2(-)	11(7)
[M+H-2MeOH-H ₂ O] ⁺	182	19(15)	18(8)	—	3(3)	—	—
	168	—	—	100(100)	—	45(34)	—
[M+H-3MeOH] ⁺	168	3(-)	—	—	100(100)	—	—

* Данные представлены в скобках.

Отщепление R¹OH и R²OH от гликозильного иона может протекать не только последовательно, но и как одностадийный процесс. Так, в ХИМ-спектре соединения (III) имеется метастабильный пик при m/z 121,6, соответствующий переходу 232→168. Ион с m/z 168 может элиминировать молекулу кетена с образованием фрагмента с m/z 126, который в случае соединения (VI) имеет довольно значительную интенсивность.

Помимо этих основных пиков в ХИМ-спектрах наблюдаются пики кластер-ионов, возникающих при ассоциации молекул субстрата с вторичными ионами газа-реагента C₃H₅⁺ и C₂H₅⁺, и пики ионов, образование которых связано с процессами перезарядки:



Получающиеся этим путем M⁺-ионы распадаются аналогично тому, как это происходит при ионизации по методу электронного удара (ср. табл. 1 и 2). Из этой части спектра можно извлечь дополнительную информацию.

Описанные выше закономерности были использованы для хроматомасс-спектрометрического анализа смесей соединений (I)–(VI). Результаты приведены в табл. 3. Для сравнения в табл. 3 представлены также ХИМ-спектры индивидуальных соединений (I)–(VI) (газ-реагент – метан), измеренные в тех же условиях (в скобках).

Капиллярная стеклянная колонка, покрытая слабополярной жидкой фазой OV-1, оказалась недостаточно эффективной для полного разделения изомерных, частично метилированных метилгликозидов аминсахаров. Вследствие этого в ХИМ-спектрах некоторых анализируемых соединений присутствуют пики, характерные для ХИМ-спектров остальных компонентов. Однако наличие пиков, характерных только для одного из анализируемых соединений, позволяет рассчитать вклад примеси и получить путем вычитания исправленный спектр, хорошо совпадающий со спектром индивидуального соединения.

Таким образом, хроматомасс-спектрометрия с химической ионизацией дает вполне удовлетворительные результаты при анализе смеси соединений (I)–(VI).

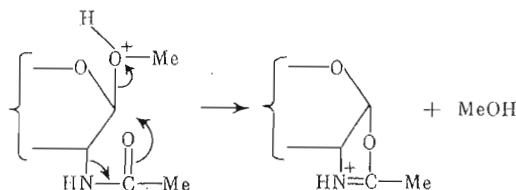
Сравнение ХИМ-спектров α - и β -аномеров частично метилированных метил-2-ацетамидо-2-дезоксид-*D*-глюкопиранозидов при использовании в качестве газа-реагента изобутана позволило проследить влияние стереоизомерии при 1-С на характер их распада (табл. 4).

Хорошо известно, что $[M+H]^+$ -ионы, образующиеся при ионизации молекул субстрата $C_5H_9^+$ -ионами, обладают меньшим запасом избыточной внутренней энергии по сравнению с $[M+H]^+$ -ионами, образующимися в газовой плазме метана, а следовательно, и меньшей склонностью к фрагментации. Поэтому в качественно совпадающих спектрах α - и β -аномеров главным образом присутствуют наиболее интенсивные пики, соответствующие $[M+H]^+$ -ионам (кроме производного (VII)) при m/z 264 (производные (I)–(III), (VII)–(IX)) и 250 (производные (IV)–(VI), (X)–(XII)) и пики, соответствующие гликозильным $[M+H-MeOH]^+$ -ионам при m/z 232 (соединения (I)–(III), (VII)–(IX)) и 218 (соединения (IV)–(VI), (X)–(XII)).

Как видно из табл. 4, для всех пар стереоизомеров интенсивность $[M+H]^+$ -ионов α -аномера выше интенсивности $[M+H]^+$ -ионов β -аномера.

Факт большей стабильности α -аномеров (аксиальный гликозидный метоксил) по сравнению с β -аномерами (экваториальный гликозидный метоксил) в условиях химической ионизации установлен ранее также для аномерных метил-2,3,4,6-тетра-*O*-метил-*D*-галактопиранозидов [5].

Сопоставление величин $\left(\frac{J_{[M+H-MeOH]^+}}{J_{[M+H]^+}}\right)_{\beta} / \left(\frac{J_{[M+H-MeOH]^+}}{J_{[M+H]^+}}\right)_{\alpha}$ для соединений (I)–(XII) (от 1,6 до 6,2), α - и β -метил-2,3,4,6-тетра-*O*-метил-*D*-галактопиранозидов (1,1) [5] и α - и β -метил-2,3,4-три-*O*-метил-*L*-арабинопиранозидов (1,9) [6] показывает, что ускорение распада β -аномеров по сравнению с α -аномерами 2-дезоксид-2-ацетамидосахаров в среднем больше, чем для нейтральных пираноз. Это может объясняться участием *N*-ацетильной группы в отщеплении β -MeO-группы:



Наблюдаемые различия в отношениях интенсивностей $[M+H-MeOH]^+$ и $[M+H]^+$ -ионов для α - (I)–(VI) и β - (VII)–(XII) аномеров достаточны для того, чтобы определять конфигурацию при 1-С путем сравнения их ХИМ-спектров.

Экспериментальная часть

Масс-спектры электронного удара соединений (I)–(VI) измеряли на масс-спектрометре СН-6 «Varian MAT» (США) при энергии ионизирующих электронов 70 эВ.

ХИМ-спектры соединений (I)–(XII) снимали на масс-спектрометре МХ-1303, модифицированном для исследований по химической ионизации [7], с прямым вводом образца в источник. В качестве газа-реагента использовали метан при давлении 0,5–0,8 торр и изобутан при давлении 0,3 торр. Энергия ионизирующих электронов составляла 400 эВ. Температура камеры ионизации: 403К в опытах с метаном и 383К в опытах с изобутаном. Температура системы напуска: 363К для метана и 358К для изобутана.

Масс-спектры химической ионизации (газ-реагент — изобутан) соединений (I) — (XII)

Тип иона	m/z	Относительная интенсивность, %							m/z	Относительная интенсивность, %						
		(I)	(VII)	(II)	(VIII)	(III)	(IX)	(IV)		(X)	(V)	(XI)	(VI)	(XII)		
[M+C ₃ H ₇] ⁺	320	1	—	1	—	6	5	1	1	5	7	5	5			
[M+C ₃ H ₇] ⁺	306	2	—	2	—	2	5	1	1	4	3	6	4			
[M+C ₄ H ₉ -MeOH] ⁺	288	3	2	1	2	1	7	—	2	1	6	2	11			
[M+C ₃ H ₇ -MeOH] ⁺	274	3	2	1	3	—	2	—	—	—	2	2	2			
[M+Et] ⁺	264	100	65	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100			
[M+H-H ₂ O] ⁺	246	8	3	7	5	1	—	1	2	1	7	4	4			
[M+H-MeOH] ⁺	232	25	100	18	39	18	77	5	19	6	36	15	22			
[M+H-MeOH-H ₂ O] ⁺	214	4,5	3	—	—	—	—	1	2	—	—	—	—			
[M+H-2MeOH] ⁺	200	3	9	2	4	4	7	—	—	—	—	—	5			
$\frac{J[M+H]^+}{\Sigma J}$		67	35	76	64	78	47	92	78	88	62	74	65			
$\frac{J[M+H-MeOH]^+}{J[M+H]^+}$		0,25	4,5	0,2	0,4	0,2	0,8	0,05	0,2	0,1	0,4	0,15	0,2			

Анализ соединений (I)–(VI) и их смесей (I+II+IV) и (III+V+VI) проводили с помощью квадрупольного хроматомасс-спектрометра «Riber 1010», снабженного капиллярной стеклянной колонкой (длина 25 м, внутренний диаметр 0,25 мм, жидкая фаза – OV-1, 190° С, газ-носитель – гелий, 1 мл/с). Эффективность колонки – 60 000 теоретических тарелок (по C₁₄H₃₀). Ввод пробы в хроматограф осуществлялся через инжектор Росса при температуре испарителя 350° С.

Масс-спектры химической ионизации соединений (I)–(VI) (газ-реагент – метан) получены при энергии ионизирующих электронов 100 эВ, токе эмиссии 200 мА. Температура камеры ионизации 473К.

Образцы соединений (I)–(XII) хроматографически однородны, согласно данным ТСХ и ГЖХ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чижов О. С., Отт А. Я. (1978) Успехи биол. химии, **19**, 151–183.
2. Lönnngren J., Svenson S. (1974) Adv. Carbohydr. Chem. and Biochem., **29**, 42–106.
3. Björndal H., Hellerquist C. G., Lindberg B., Svenson S. (1970) Angew. Chem., **82**, 643–652.
4. Heyns K., Kiessling G., Müller D. (1967) Carbohydr. Res., **4**, 452–464.
5. Kadentsev V. I., Solov'yov A. A., Chizhov O. S. (1978) Adv. in Mass Spectrom., **7**, 1465–1473.
6. Каденцев В. И., Каймаразов А. Г., Чижов О. С. (1980) Изв. АН СССР. Сер. хим., **330**–334.
7. Соловьев А. А., Каденцев В. И., Чижов О. С., Белькинд Д. И., Савельев А. Г. (1976) Приборы и техн. эксп., **223**–226.

Поступила в редакцию
26.VI.1980

CHEMICAL IONIZATION MASS SPECTRA OF 2-ACETAMIDO-2-DEOXY-D-GLUCOPYRANOSIDE METHYL ETHERS

KADENTSEV V. I., KAYMARAZOV A. G., CHIZHOV O. S.,
DEREVITSKAYA V. A., EVSTIGNEEV A. Yu., BOTNIKOV M. Ya.

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

The electron impact and chemical ionization (CI) mass spectra (with methane and isobutane as gases-reagents) were obtained and fragmentation patterns examined for partially methylated α - and β -methyl-2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranosides. The possibility of the successful employment of CI mass spectrometry for elucidation of the structure and configuration of deoxyacetamidoglycans was demonstrated.