



УДК 577.152.37:577.175.82/85

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ  
ФТОРИРОВАННЫХ ПРОСТАГЛАНДИНОВ. СРАВНЕНИЕ ПУТЕЙ  
ФРАГМЕНТАЦИИ ПРИ ЭЛЕКТРОННОМ УДАРЕ ПРОИЗВОДНЫХ  
15-ФТОР-15-ДЕЗОКСИПРОСТАГЛАНДИНОВ  $A_2$ ,  $B_2$ ,  $E_2$ ,  $E_1$   
И СООТВЕТСТВУЮЩИХ ПРИРОДНЫХ ПРОСТАГЛАНДИНОВ

Когтев Л. С., Садовская В. Л., Розынов Б. В.,  
Безуглов В. В., Бергельсон Л. Д.

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

Изучены пути масс-спектрометрической фрагментации метиловых, триметилсилиловых, *трет*-бутилдиметилсилиловых эфиров 15-фтор-15-дезоксипростагландинов  $A_2$ ,  $B_2$ ,  $E_2$  и  $E_1$  в сравнении с соответствующими природными простагландинами. Показано, что для масс-спектрометрического распада 15-фтор-15-дезоксипростагландинов характерен преимущественный выброс молекулы HF из молекулярных или осколочных ионов с образованием 15,16-двойной связи, появление которой делает невозможным распад с выбросом радикала  $C_8H_7^+$ , присущий всем природным простагландинам.

Фторированные аналоги простагландинов в ряде случаев отличаются от природных простагландинов повышенной селективностью биологического действия и метаболической стабильностью. Нами недавно синтезированы различные 15-фтор-15-дезоксипростагландины, проявляющие высокую биологическую активность [1–3].

Для дальнейшего исследования поведения фтордезоксипростагландинов различных типов в биологических системах необходимо было разработать метод их качественного и количественного анализа. Мы остановились на масс-спектрометрическом методе, который в настоящее время успешно используется при анализе природных простагландинов и их метаболитов, а в сочетании с газожидкостной хроматографией — для количественных определений простагландинов в биологических и клинических исследованиях [3–6].

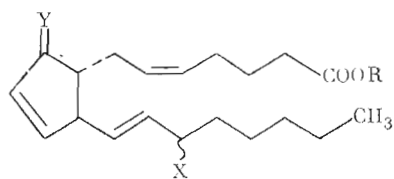
С этой целью нами в качестве предварительного этапа были выявлены особенности поведения различных производных 15-фтор-15-дезоксипростагландинов в условиях масс-спектрометрии. В настоящей работе приведены результаты исследований масс-спектрометрической фрагментации ряда производных 15-фтор-15-дезоксипростагландинов  $A_2$ ,  $B_2$ ,  $E_2$  и  $E_1$  в сравнении с соответствующими природными простагландинами (соединения (I) — (XVI)).

Метиловые эфиры 15-фтор-15-дезоксипростагландинов  
 $A_2$ ,  $B_2$ ,  $E_2$  и  $E_1$

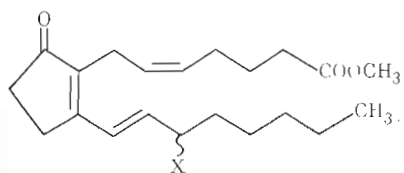
Масс-спектры изученных нами метиловых эфиров 15-фтор-15-дезоксипростагландинов (I), (VII), (IX) и (XIII) содержат пики молекулярных ионов, составляющие примерно 0,5–7% общей суммы ионизации, а также ряд пиков характеристических ионов, таких, как  $(M - HF)^+$ ,  $(M - OCH_3)^+$ ,  $(M - HF - OCH_3)^+$ , общих для всех указанных соединений.

В то же время в масс-спектрах отчетливо проявляются особенности строения различных простагландинов, связанные с расположением гидроксильных групп и двойных связей в их молекулах.

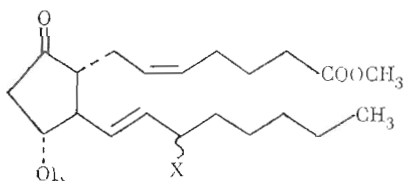
Сокращения: ТМС — триметилсилан, ТБДМС — *трет*-бутилдиметилсилан.



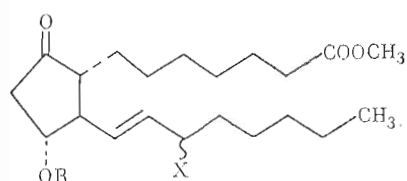
(I)-(VI)



(VII), (VIII)



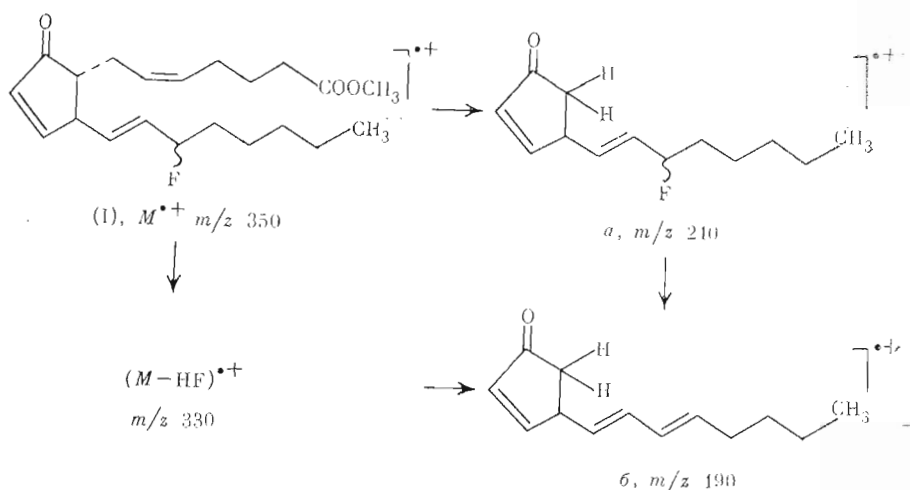
(IX)-(XII)



(XIII)-(XVI)

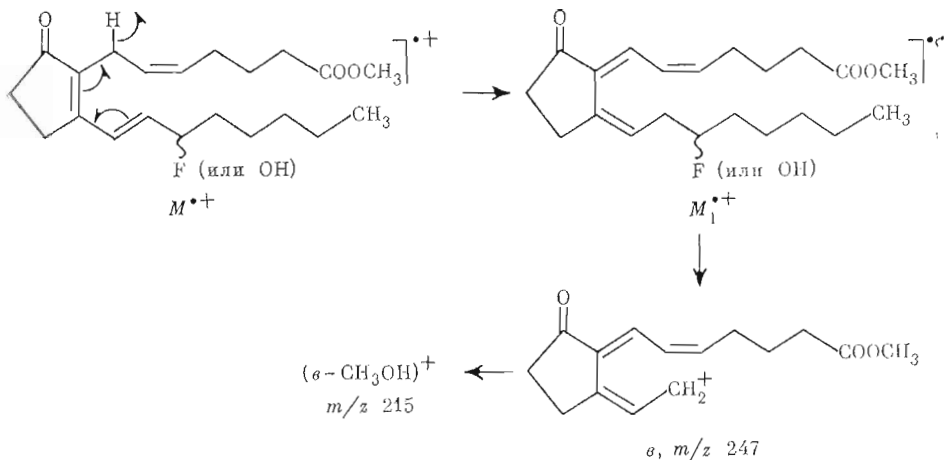
(I) Y=O, X=F, R=CH<sub>3</sub>; (II) Y=O, X=OH, R=CH<sub>3</sub>; (III) Y=O, X=F, R=  
=Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>; (IV) Y=NOCH<sub>3</sub>, X=F, R=Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>; (V) Y=O, X=F, R=  
=Si(*trans*-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>)(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; (VI) Y=O, X=OSi(*trans*-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>)(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R=Si(*trans*-  
C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>)(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; (VII) X=F; (VIII) X=OH; (IX) X=F, R=H; (X) X=OH,  
R=H; (XI) X=F, R=Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>; (XII) X=F, R=Si(*trans*-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>)(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;  
(XIII) X=F, R=H; (XIV) X=OH, R=H; (XV) X=F, R=Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>; (XVI)  
X=F, R=Si(*trans*-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>)(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

Так, в случае метилового эфира 15-фтор-15-дезоксипростагландина A<sub>2</sub> (рис. 1) наиболее характерным процессом распада при электронном ударе является разрыв 7,8-связи с последующим элиминированием из молекулярного иона α-цепи по схеме:



Ион типа *б* ( $m/z$  190), наиболее характерный для масс-спектра метилового эфира природного простагландина A<sub>2</sub> (II), (рис. 1), образуется, по-видимому, из иона  $(M - H_2O)^{+\bullet}$ , так как пик иона типа *а* в масс-спектре (II) не наблюдался.

Принципиально иные пути диссоциации приводят к образованию иона типа *в* ( $m/z$  247), характерного для масс-спектров метиловых эфиров простагландина B<sub>2</sub> (VIII) и его 15-фтор-15-деоксианалога (VII) (рис. 2). Один из наиболее вероятных путей образования иона *в* связан с разрывом 14,15-связи, которому предшествует перегруппировка двойных связей в молекулярном ионе:



Отличительной особенностью природного простагландина  $B_2$  является наличие в масс-спектре его метилового эфира интенсивных пиков ионов  $(\sigma+2H)^+$  и  $(\sigma - \text{CH}_3\text{OH}+2H)^+$ , а также пика с  $m/z$  277, образующегося в результате элиминирования радикала  $\text{C}_5\text{H}_{11}^{\bullet}$  из молекулярного иона — наиболее общего процесса фрагментации всех природных простагландинов.

Интересно, что масс-спектры метиловых эфиров 15-фтор-15-дезоксипростагландинов  $E_2$  и  $E_1$  (IX) и (XIII) (рис. 3) очень напоминают спектры соответствующих природных соединений (X) и (XIV) [7], но в отличие от них содержат пики молекулярных ионов.

Сравнивая масс-спектры метиловых эфиров 15-фтор-15-дезоксипростагландинов  $E_2$  и  $E_1$  (рис. 3), можно отметить существенное сходство их распадов под электронным ударом, связанное с наличием в их молекулах оди-

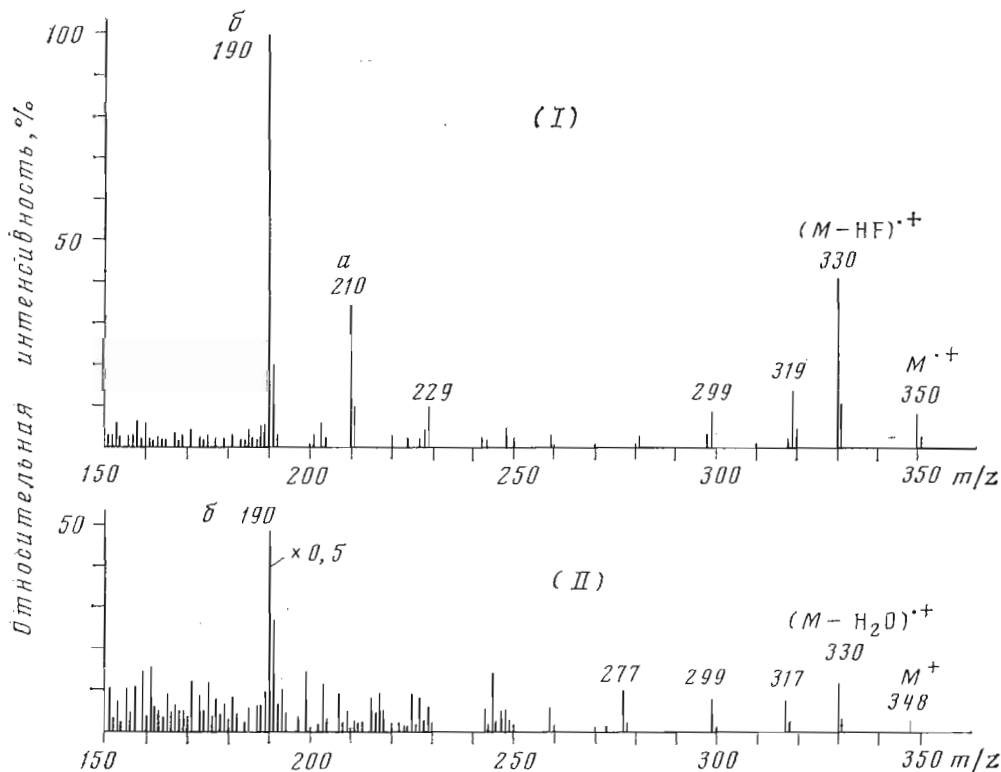


Рис. 1. Масс-спектры метиловых эфиров 15-фтор-15-дезоксипростагландина  $A_2$  (I) и простагландина  $A_2$  (II)

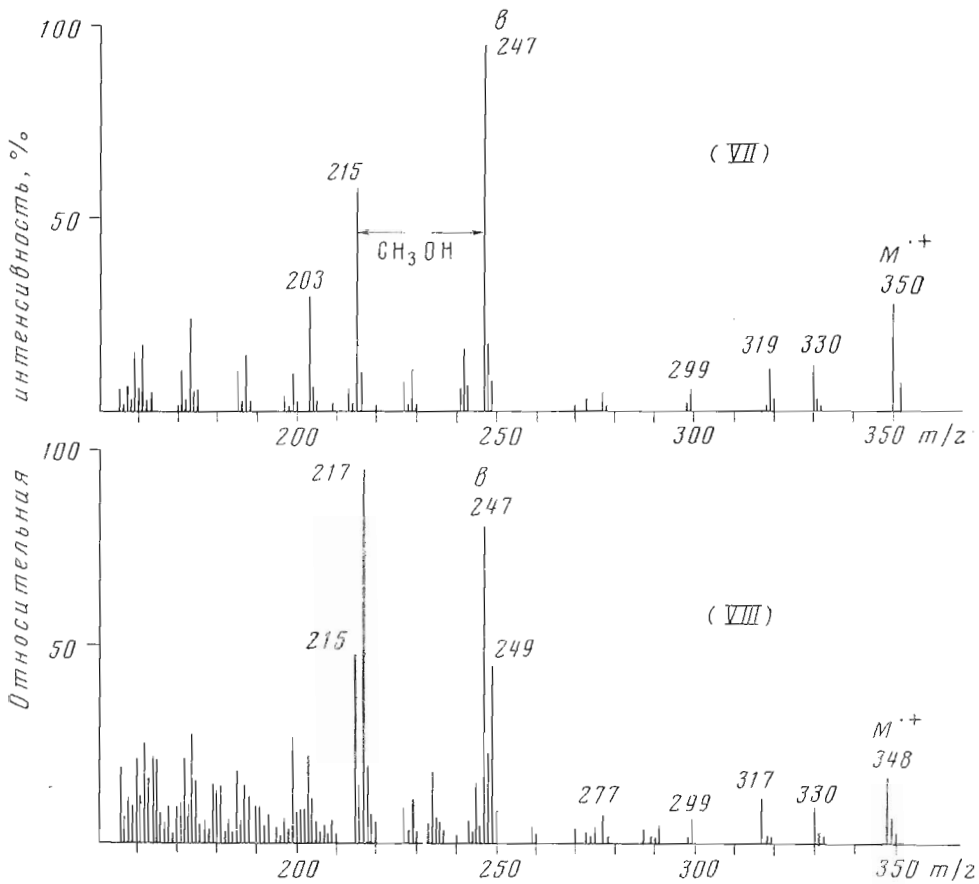
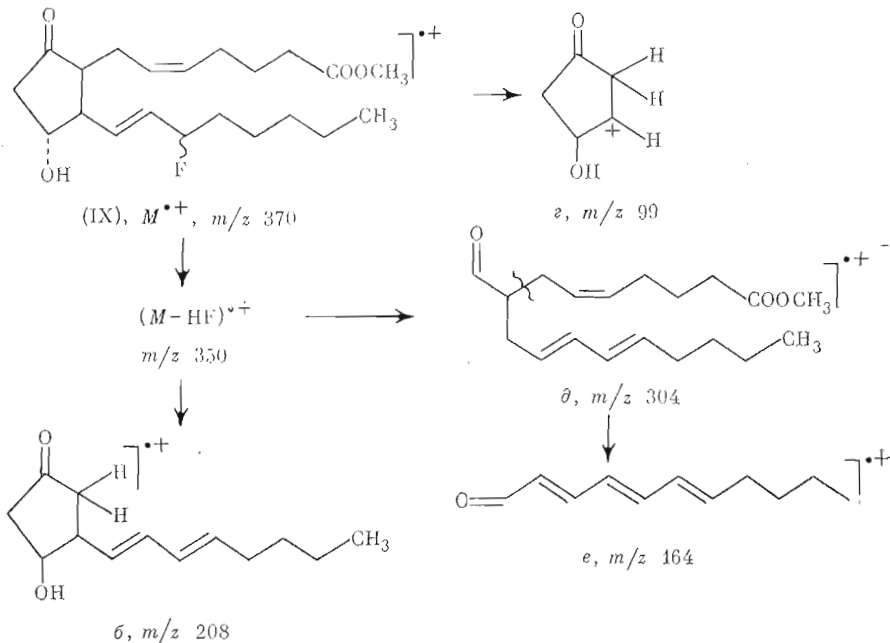


Рис. 2. Масс-спектры метиловых эфиров 15-фтор-15-дезоксипростагландин  $B_2$  (VII) и простагландин  $B_2$  (VIII)

наковых структурных элементов: протекание последовательных процессов элиминирования их молекулярного иона молекул  $HF$ ,  $H_2O$ ,  $CH_3OH$  или радикала  $OCH_3^{\cdot}$ ; образование циклопентанового фрагмента с  $m/z$  99 (ион  $\varepsilon$ ), а также ионов типа  $\delta$ ,  $\beta$ ,  $e$ , образующихся из иона  $(M - HF)^{\cdot+}$ :



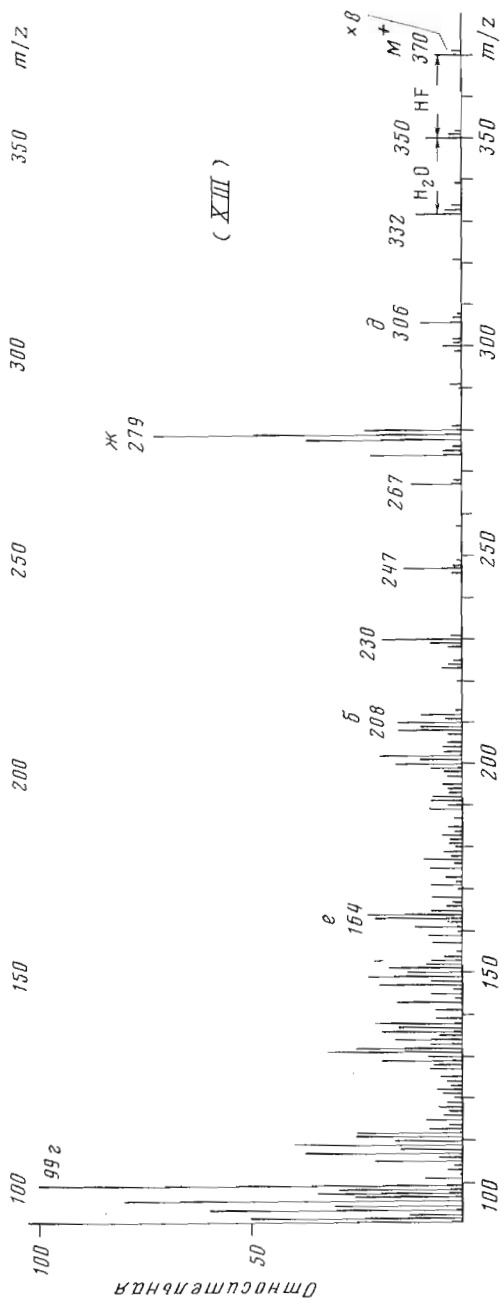
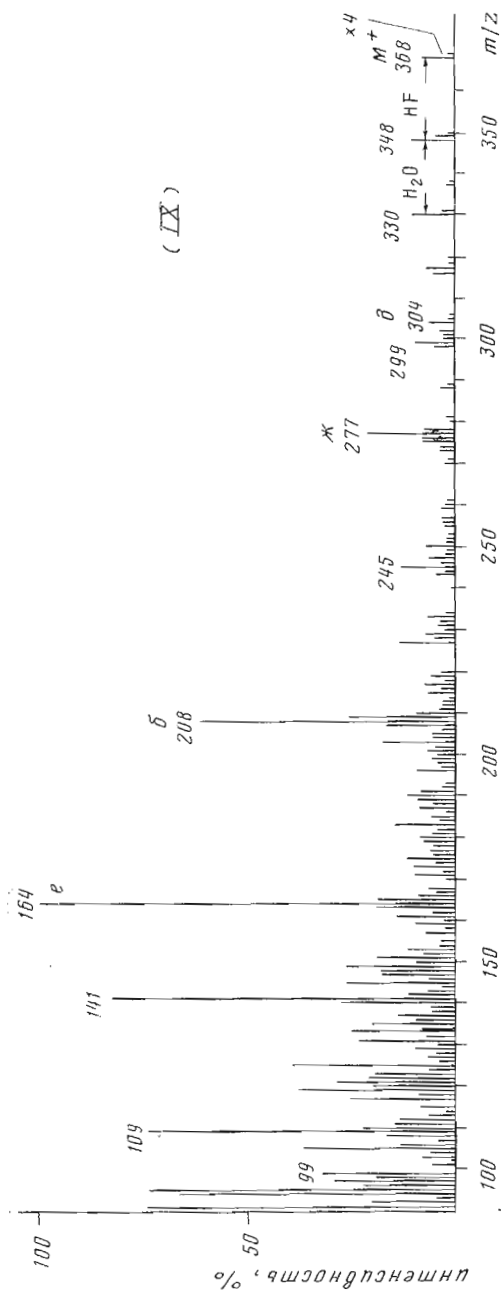
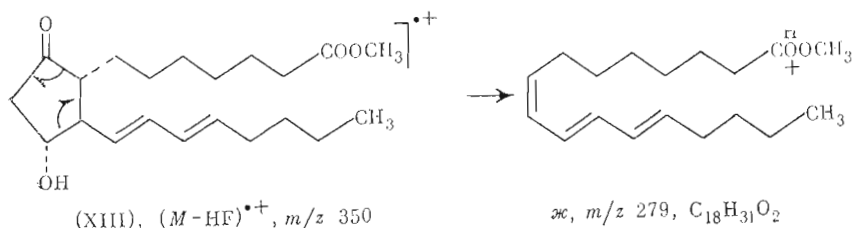


Рис. 3. Масс-спектры метиловых эфиров 15-фтор-15-дезоксипростагландина  $E_2$  (IX) и  $E_4$  (XIII)

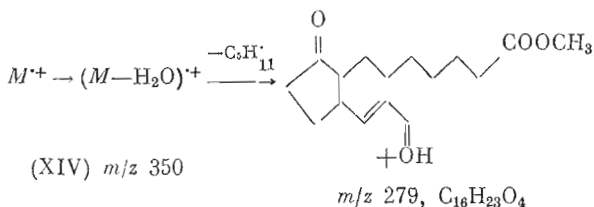
Значительное возрастание интенсивностей пиков ионов *b* и *e* в спектре 15-фтор-15-дезоксипростагландина E<sub>2</sub> (IX) по сравнению с величиной пиков этих ионов в спектре 15-фтор-15-дезоксипростагландина E<sub>1</sub> (XIII) связано с наличием в молекуле первого соединения 5,6-двойной связи, которая существенно облегчает разрыв аллильной 7,8-связи и образование ионов *b* и *e*.

Общим и наиболее характерным распадом метиловых эфиров 15-фтор-15-дезоксипростагландин E<sub>2</sub> и E<sub>1</sub> является процесс элиминирования из иона (*M* - HF)<sup>•+</sup> фрагмента циклопентанового кольца с образованием иона типа *ж*:



В масс-спектрах соединений (IX) и (XIII) значения *m/z* ионов типа *ж* (277 и 279 соответственно) совпадают с массовыми числами наиболее характерных ионов в масс-спектрах метиловых эфиров природных простагландин E<sub>2</sub> (X) и E<sub>1</sub> (XIV). Однако, по данным масс-спектрометрии высокого разрешения, строение ионов с *m/z* 277 и 279 в спектрах природных соединений (X) и (XIV) и ионов, имеющих те же массовые числа в масс-спектрах их 15-фтор-15-дезоксипростагландин (X) и (XIII), совершенно различно.

Образование иона с *m/z* 279 в спектре метилового эфира простагландина E<sub>1</sub> можно представить следующим образом:



В то же время ион с *m/z* 279 в спектре соединения (XIII) имеет, по данным высокого разрешения, элементный состав C<sub>18</sub>H<sub>31</sub>O<sub>2</sub>, что позволяет предположить для него строение иона типа *ж*. Аналогичную структуру следует приписать и иону с *m/z* 277 (C<sub>18</sub>H<sub>29</sub>O<sub>2</sub>) в масс-спектре метилового эфира (IX).

В масс-спектре высокого разрешения метилового эфира природного простагландина E<sub>2</sub> (X) наблюдался дублет пиков с *m/z* 277, 1440 и 277, 2167 примерно равной интенсивности, соответствующих иону -(*M* - H<sub>2</sub>O - C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>)<sup>+</sup> и иону типа *ж*. Аналогичный дублет был обнаружен также и для ионов с *m/z* 245, образование которых протекает в результате элиминирования молекулы CH<sub>3</sub>OH как из иона (*M* - H<sub>2</sub>O - C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>)<sup>+</sup>, так и из иона типа *ж*.

Согласно полученным данным, основное отличие масс-спектрометрического поведения метиловых эфиров 15-фтор-15-дезоксипростагландин A<sub>2</sub>, B<sub>2</sub>, E<sub>2</sub> и E<sub>1</sub> от соответствующих природных простагландин состоит в преимущественном элиминировании из молекулярных ионов молекулы HF с образованием 15,16-двойной связи, что затрудняет отрыв пентильного радикала C<sub>5</sub>H<sub>11</sub><sup>•</sup>.

Вследствие этого при масс-спектрометрировании 15-фтор-15-дезоксипростагландин группы E происходит выброс фрагмента циклопентанового кольца и образование иона типа *ж*. В то же время в случае метилового эфира простагландина E<sub>2</sub>, содержащего две группы OH (при

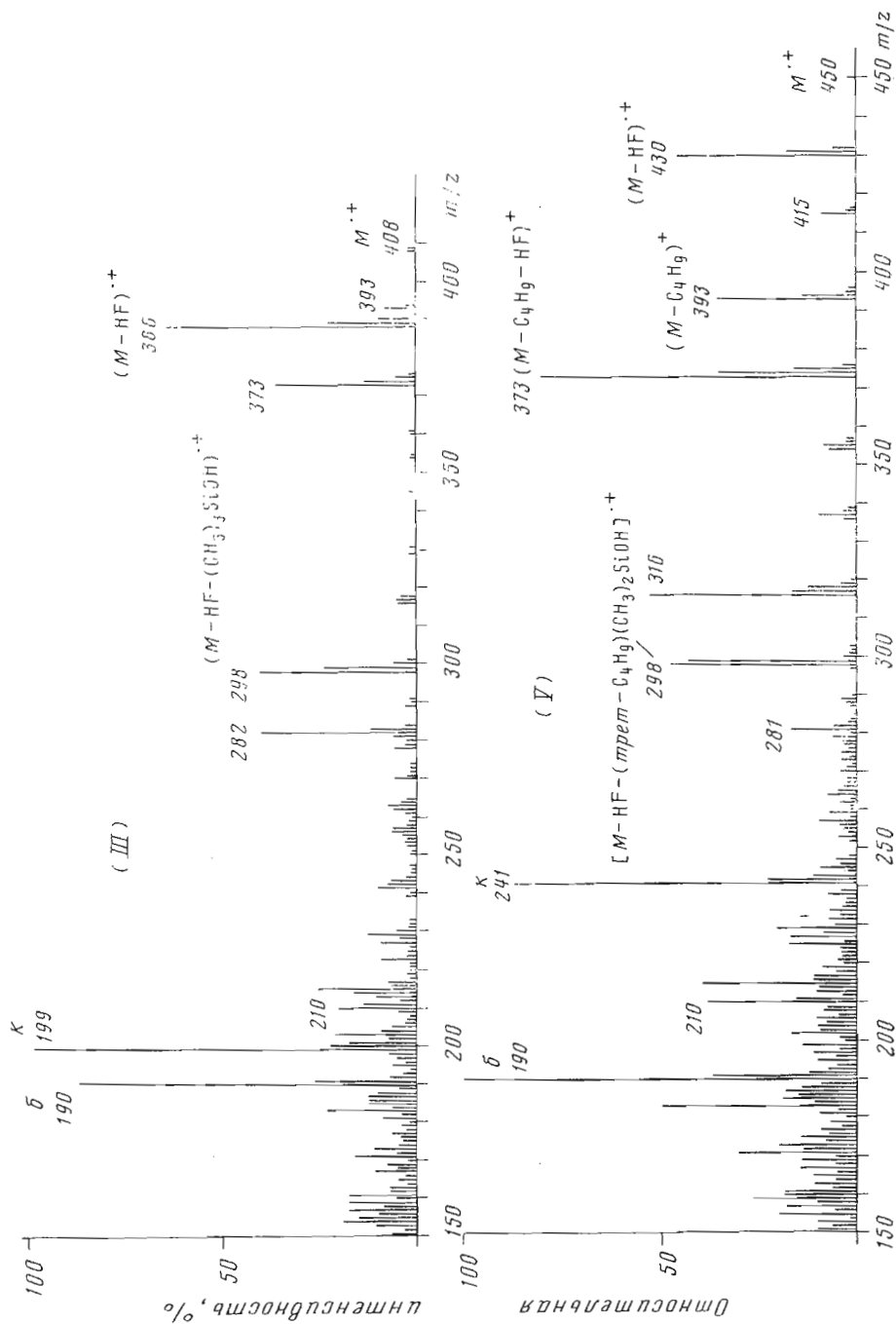


Рис. 4. Масс-спектры ТВДМС-эфира 15-фтор-15-дезоксипро-статландина  $A_2$  (III) и ТМС-эфира 15-фтор-15-дезоксипро-статландина  $A_2$  (IV)

C-11 и C-15), элиминирование молекулы воды может приводить к двум различным ионам  $(M - H_2O)^+$ , которые в свою очередь распадаются, образуя дублет, состоящий из иона  $(M - H_2O - C_5H_{11})^+$  и иона типа  $\kappa$ .

В случае метилового эфира простагландина  $E_1$  элиминирование молекулы  $H_2O$  протекает предпочтительно с участием группы OH в положении C-11, в результате чего в его масс-спектре наблюдается лишь пик иона  $(M - H_2O - C_5H_{11})^+$ .

#### Триметилсилильные и трет-бутилдиметилсилильные производные

Для анализа 15-фтор-15-дезоксипростагландинов  $A_2$ ,  $E_2$  и  $E_1$  методами ГЖХ и ГЖХ-масс-спектрометрии нами были приготовлены триметилсилильные (ТМС) и трет-бутилдиметилсилильные (ТБДМС) производные и изучены их масс-спектры.

Масс-спектры ТМС-(III) и ТБДМС-эфира (V) 15-фтор-15-дезоксипростагландина  $A_2$  (рис. 4) сохраняют характерные черты масс-спектра метилового эфира (I): наиболее интенсивными ионами в спектрах соединений (III) и (V) остаются ионы типа  $\kappa$  с  $m/z$  190.

Кроме того, разрыв 7,8-связи приводит к образованию ионов типа  $\kappa$  с  $m/z$  199 и 241, содержащих  $\alpha$ -цепь, причем ион с  $m/z$  199 характерен также и для масс-спектра ди-ТМС-производного природного простагландина  $A_2$  [8]. В масс-спектрах (III) и (V) наблюдаются типичные для ТМС- и ТБДМС-производных распады, например элиминирование молекул  $(CH_3)_3SiOH$ ,  $(CH_3)_2$ (трет- $C_4H_9$ ) $SiOH$  и радикала  $C_4H_9\cdot$ .

Отличительной особенностью масс-спектра O-метилоксима соединения (IV) является присутствие интенсивных ионов в молекулярной области:  $M^+$ ,  $(M - HF)^+$ ,  $(M - OCH_3)^+$ ,  $(M - HF - OCH_3)^+$ . В то же время в спектре присутствуют характерные для ТМС-эфира 15-фтор-15-дезоксипростагландина  $A_2$  ионы типа  $\kappa$  ( $m/z$  219) и  $\kappa+1$  ( $m/z$  239).

Как и в случае метиловых эфиров, наблюдаются принципиальные различия в характере масс-спектрометрической фрагментации ТМС- и ТБДМС-эфиров простагландина  $A_2$  и его 15-фтор-15-дезоксиданалога. Известно, что основное направление масс-спектрометрического распада молекул ди-ТМС-эфиров природных простагландинов  $A_2$  и  $B_2$  связано с элиминированием карбонильной группы и радикала  $C_5H_{11}\cdot$  из молекулярного иона, что приводит к появлению в их спектрах интенсивных пиков ионов  $(M - CO - C_5H_{11})^+$ ,  $(M - C_5H_{11} - (CH_3)_3SiOH)^+$  [8, 9, 11]. Кроме того, разрыв 14,15-связи приводит к образованию характерных ионов  $(M - 173)^+$ . Пики аналогичных ионов, хотя и менее интенсивные, наблюдались нами и в масс-спектре ди-ТБДМС-эфира простагландина  $A_2$  (VI). В отличие от природных простагландинов в масс-спектрах ТМС- и ТБДМС-производных 15-фтор-15-дезоксиданалога простагландина  $A_2$  (соединения (III)–(V)) пики ионов, образующихся в результате потери молекулярным ионом пентильного радикала, не наблюдались.

Введение ТМС-группы в молекулы метиловых эфиров 15-фтор-15-дезоксипростагландинов  $E_2$  и  $E_1$  не вызывает изменения характера их фрагментации под электронным ударом. В спектрах соединений (XI) и (XV) появляются пики ионов, образование которых связано с потерей молекулы  $(CH_3)_3SiOH$  из  $M^+$ , но наиболее интенсивными в спектрах оказываются пики ионов типа  $\kappa - 1$  с  $m/z$  276 для простагландина  $E_2$  (рис. 5) и  $m/z$  278 для простагландина  $E_1$ .

Масс-спектры ТБДМС-производных метиловых эфиров 15-фтор-15-дезоксипростагландинов  $E_2$  и  $E_1$  (XII) и (XVI) (см. рис. 5), очень просты и содержат интенсивные пики характеристических ионов в области высоких массовых чисел, что выгодно отличает их от масс-спектров соответствующих ТМС-производных. Основной распад ТБДМС-производных связан с выбросом из молекулярного иона радикала  $C_4H_9\cdot$  и образованием иона  $(M - 57)^+$ , который далее теряет молекулу HF. Второй по интенсивности ион в масс-спектрах ТБДМС-производных (XII) и (XVI) — это ион типа  $\kappa$  ( $m/z$  277 и 279 соответственно).



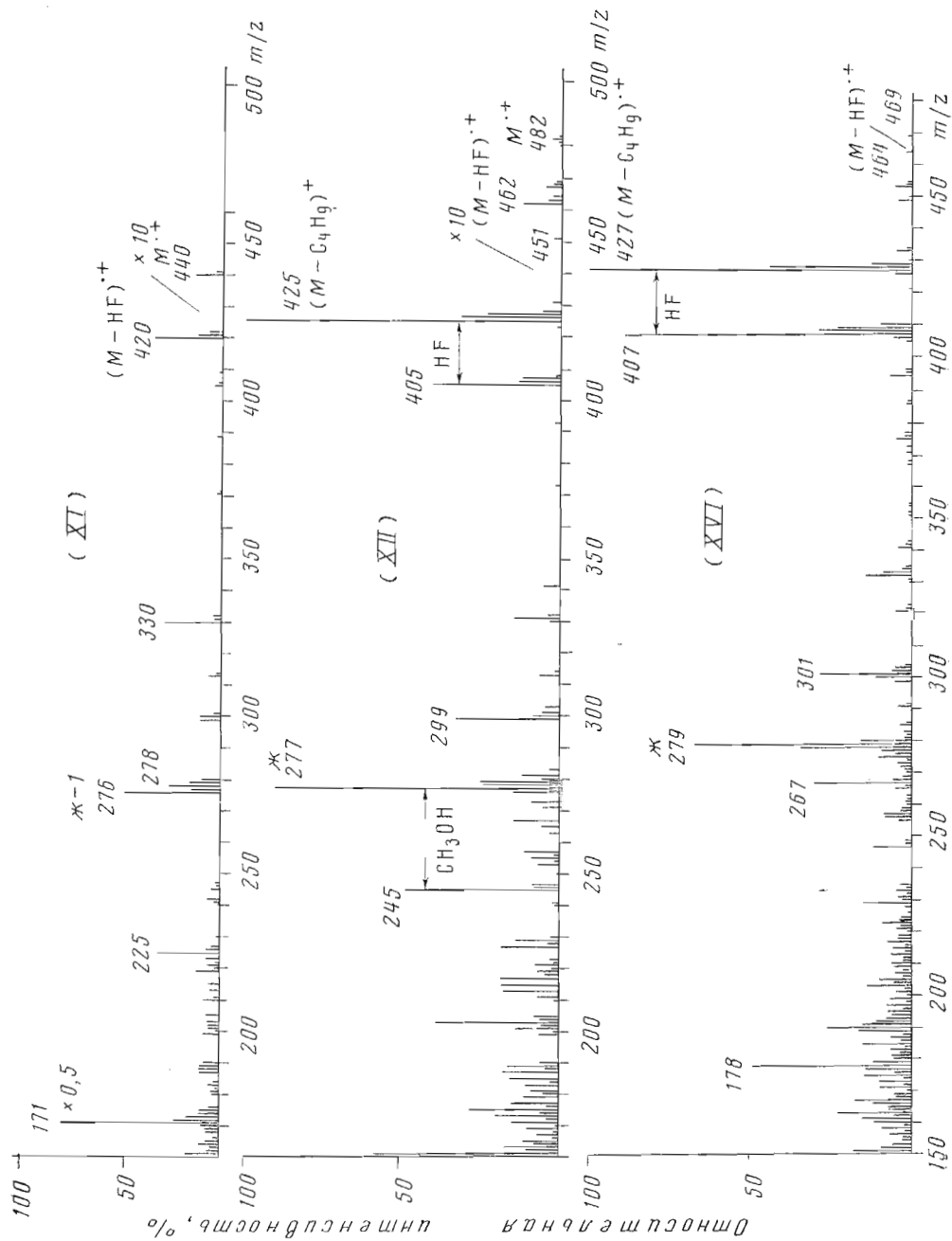


Рис. 5. Масс-спектры метиловых эфиров ТМС-производного 15-фтор-15-дезоксипростагландина  $E_2$  (XI), ТБДМС-производного 15-фтор-15-дезоксипростагландина  $E_2$  (XII) и ТБДМС-производного 15-фтор-15-дезоксипростагландина  $E_4$  (XVI)

В последнее время появились работы, в которых *трет*-бутилдиметилсилильные производные использовались при количественном анализе природных простагландинов и тромбосана В<sub>2</sub> [6, 10].

Следует отметить, что хотя масс-спектры ТБДМС-производных 15-фтор-15-дезоксипростагландинов уступают масс-спектрам ТМС-производных при решении задач по структурной идентификации, тем не менее ТБДМС-производные предпочтительны при количественных определениях 15-фтор-15-дезоксипростагландинов с использованием метода идентификации соединений по выбранному характеристическому иону (selected ion monitoring).

### Экспериментальная часть

Масс-спектры низкого разрешения получены на масс-спектрометре СН-5 (Varian MAT) введением вещества непосредственно в ионный источник при температуре ионизационной камеры 250° С, ионизирующем напряжении 70 эВ и температуре испарения 100–110° С (для метиловых эфиров) и 70–80° С (для ТМС- и ТБДМС-производных). Точные массы ионов были измерены при разрешающей силе масс-спектрометра 10 000. Ошибка измерения составляла 3–5 м.д.

#### Получение производных простагландинов

1. *Получение метиловых эфиров.* К раствору вещества в минимальном количестве эфира прибавляли эфирный раствор диазометана при 0° С до появления устойчивой желтой окраски. Реакционную смесь выдерживали 15 мин при 0° С, упаривали досуха, остаток высушивали в вакууме масляного насоса.

2. *Получение триметилсилиловых эфиров.* Тщательно высушенную пробу вещества обрабатывали 1 ч избытком N,O-бис-триметилсилилтрифтороацетамида (Serva) при 25° С в инертной атмосфере. Полученный раствор силильного производного использовали для масс-спектрометрического анализа.

3. *Получение трет-бутилдиметилсилильных производных.* Тщательно высушенную пробу вещества обрабатывали 18 ч смесью ТБДМС-хлорида, имидазола и ДМФА (Applied Science Division) при 25° С в инертной атмосфере. Продукт реакции экстрагировали смесью гексан — эфир, 1 : 1 (3×2 мл). Экстракт промывали насыщенным раствором хлорида натрия (1×2 мл), водой (1×2 мл) и упаривали досуха. Остаток тщательно высушивали в вакууме масляного насоса и растворяли в хлороформе.

4. *Получение O-метилоксима 15-фтор-15-дезоксипростагландина А<sub>2</sub>.* К 200 мкг тщательно высушенного 15-фтор-15-дезоксипростагландина А<sub>2</sub> прибавляли 0,5 мл раствора O-метилгидроксиламина гидрохлорида (Fluka) в абсолютном пиридине (5 мг/мл) в атмосфере аргона. Реакционную смесь выдерживали 18 ч при 25° С. После удаления пиридина в вакууме остаток смешивали с 1 мл насыщенного раствора хлористого натрия, продукт реакции экстрагировали эфиром (3×2 мл). Экстракт промывали водой (1×2 мл) и упаривали. Остаток высушивали в вакууме масляного насоса.

15-Фтор-15-дезоксипростагландин А<sub>2</sub> получен из соответствующего метилового эфира омылением эстеразой из кораллов *P. homomolla*, как описано ранее [12]. Метиловый эфир 15-фтор-15-дезоксипростагландина Е<sub>1</sub> получен селективным восстановлением ТБДМС-производного метилового эфира 15-фтор-15-дезоксипростагландина Е<sub>2</sub> водородом в присутствии хлоротрис(трифенилфосфин)родия-1 [13]. Метиловые эфиры 15-фтор-15-дезоксипростагландинов А<sub>2</sub>, В<sub>2</sub> и Е<sub>2</sub> синтезированы как описано ранее [1].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Безуглов В. В., Бергельсон Л. Д. Биоорганическая химия, 1979, т. 5, № 10, с. 1531–1536.
2. Безуглов В. В., Бергельсон Л. Д. Докл. АН СССР, 1980, т. 250, № 2, с. 468–469.
3. Безуглов В. В., Бергельсон Л. Д. В кн.: Липиды биологических мембран. Ташкент: ФАН, 1980, с. 88–91.

4. Hamberg M., Samuelsson B. J. Biol. Chem., 1971, v. 246, № 22, p. 6713-6720.
5. Fisher C., Frölich C. J. Adv. Lipid Res., 1982, v. 19, p. 185-202.
6. Kelly R. W., Abel M. H. Biomed. Mass Spectrom., 1983, v. 10, № 4, p. 276-279.
7. Budzikiewicz H., Djerassi C., Williams D. H. In: Structural elucidation of natural products by mass spectrometry. Holden Day Inc., 1964, v. 2, p. 175-176.
8. Rosello J., Tusell J., Gelpi E. J. Chromatogr., 1977, v. 130, № 1, p. 65-76.
9. Middleditch B. S., Desiderio D. M. Lipids, 1973, v. 8, № 5, p. 267-270.
10. May J., German B., Kinsella J. E. J. Chromatogr., 1983, v. 254, p. 91-107.
11. Kelly R. C., Schletter I., Jones R. L. Prostaglandins, 1973, v. 4, № 5, p. 653-660.
12. Schneider W. P., Bundy G. L., Lincoln F. H., Daniels E. G., Pike J. E. J. Amer. Chem. Soc., 1977, v. 99, № 4, p. 1222-1232.
13. Шевченко В. П., Лазуркина Т. Ю., Масюков Н. Ф., Безуглов В. В., Бергельсон Л. Д. В кн.: Синтез и исследование простагландинов. Рязань: Знание, 1982, с. 59.

Поступила в редакцию  
27.XII.1983

**MASS SPECTROMETRY OF FLUORINATED PROSTAGLANDINS. COMPARISON OF  
ELECTRON IMPACT FRAGMENTATION PATHWAYS FOR 15-FLUORO-  
15-DEOXYPROSTAGLANDINS A<sub>2</sub>, B<sub>2</sub>, E<sub>2</sub> AND E<sub>1</sub> DERIVATIVES AND  
CORRESPONDING NATURAL PROSTAGLANDINS**

KOGTEV L. S., SADOVSKAYA V. L., ROZYNOV B. V., BEZUGLOV V. V.,  
BERGELSON L. D.

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

The fragmentation patterns of methyl, trimethylsilyl, and *tert*-butyldimethylsilyl ethers of 15-fluoro-15-deoxy analogues of prostaglandins A<sub>2</sub>, B<sub>2</sub>, E<sub>2</sub> and E<sub>1</sub> have been studied in comparison with those of the corresponding natural prostaglandins. A common feature of all studied 15-fluoro-15-deoxyprostaglandins is the HF elimination from the molecular or fragment ions with the concomitant formation of the 15,16-double bond, which makes impossible a loss of the C<sub>5</sub>H<sub>11</sub><sup>•</sup> radical, characteristic for all natural prostaglandins fragmentation.