



УДК 547.392.52.057

© -1994 Д. В. Куклев, В. В. Безуглов

НОВЫЙ ПОДХОД К МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ОКСИГЕНИРОВАННЫХ  
КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ. ПИРРОЛИДИДЫ*Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина и  
Ю. А. Овчинникова, РАН, Москва*Ключевые слова: простагландины, гидроксикислоты,  
эпоксикислоты, кетокислоты, пирролидиды, масс-спектрометрия.

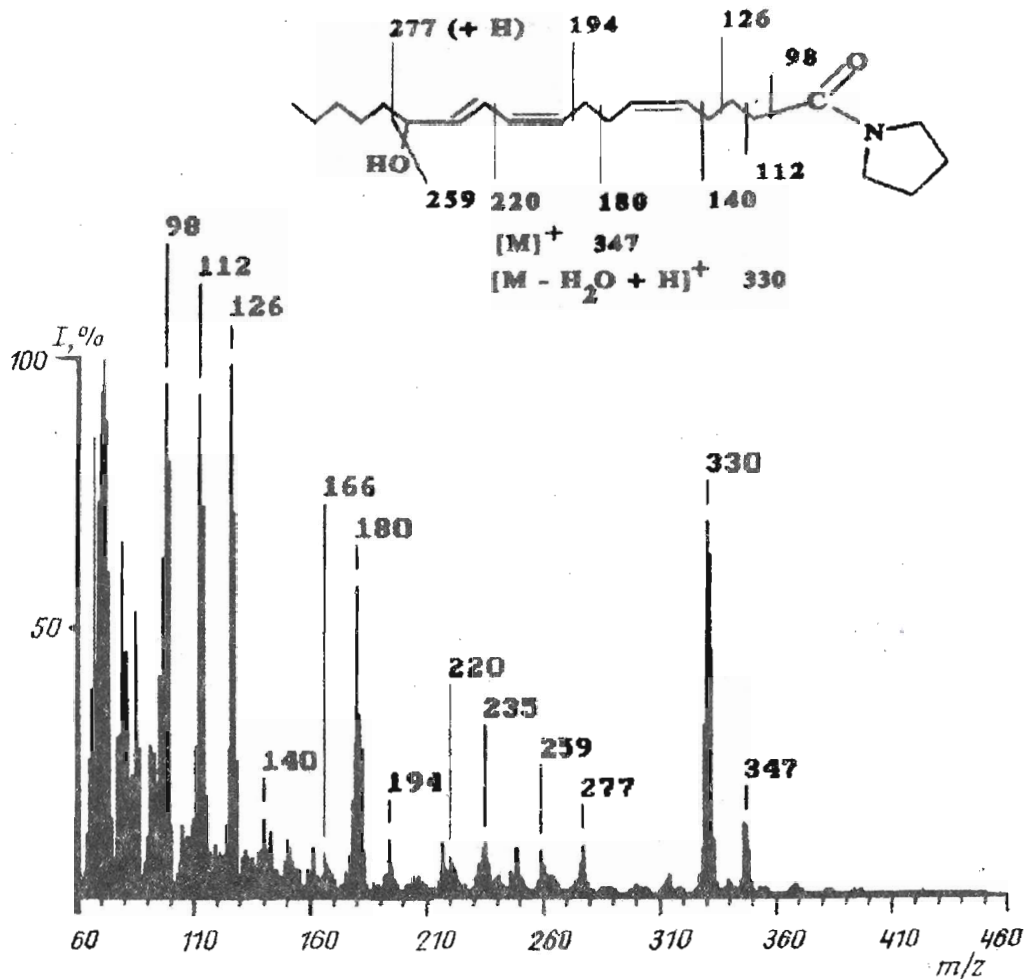
Впервые о применении пирролидидов для масс-спектрометрии карбоновых кислот сообщил в 1971 г. Веттер [1]. Впоследствии применение этих производных для масс-спектрометрического анализа ненасыщенных жирных кислот было описано в работах Андерссона [2—4]. Нами пирролидиды были впервые использованы для установления структур высоконенасыщенных жирных кислот с ацетиленовыми и алленовыми структурными фрагментами [5].

Основными преимуществами пирролидидов в качестве удобных производных для масс-спектрометрии жирных кислот являются четкость и хорошая интерпретируемость масс-спектров исследуемых соединений, а также простота их синтеза. Ионизируясь под воздействием электронного удара, пирролидиды в результате протекающих по радикальному механизму процессов расщепления углерод-углеродных связей образуют серию фрагментов, причем положительный заряд локализуется в основном на фрагменте, содержащем атом азота. При этом расщепление связей не маскируется миграцией атомов водорода (основная проблема, затрудняющая интерпретацию масс-спектров метиловых эфиров). Получающийся масс-спектр соединения состоит из последовательности ионов с инкрементом 14 а. е. м. (при расщеплении по  $\text{C}_2\text{H}_2$ -связи) либо 12 а. е. м. (при расщеплении  $\text{C}\equiv\text{C}$ -связи) при отсутствии ионов от расщепления ацетиленовых связей. Эти закономерности позволяют однозначно определять структуру исследуемой жирной кислоты [6].

Однако обычно используемая процедура образования пирролидидов, состоящая в превращении исходной кислоты в эфир с последующим аминолизом в пирролидине в течение 1—2 ч при 100° С, не позволяет распространить применение этих полезных производных для анализа более широкой группы лабильных полифункциональных карбоновых кислот.

Развивая работы по применению смешанных ангидридов к синтезу производных природных карбоновых кислот [7], мы разработали удобный метод синтеза пирролидидов ряда сложных карбоновых кислот с разнообразными кислородсодержащими функциональными группами.

*Общая процедура синтеза* состоит в следующем: к охлажденному до —20° С раствору 0,1 мг исследуемой кислоты в 100 мкл тетрагидрофурана (либо ацетонитрила в зависимости от растворимости кислоты) прибавляют 0,06 мкл изобутилхлороформиата и 0,06 мкл триэтиламина, реакционную смесь выдерживают 15 мин, затем добавляют 0,08 мкл пирролидина. Реакционную смесь нагревают до



Масс-спектр и основные пути фрагментации пирролидида 13-гидрокси-5Z,9Z,11E-октадекатриеновой кислоты (II) при ионизации электронным ударом (эммитерный ввод)

0—5° С (в течение 5—10 мин), упаривают в струе аргона, растворяют в органическом растворителе (пентане, хлороформе, метаноле) и используют для масс-спектрометрии.

Согласно этой методике, с количественным выходом были получены пирролидиды: 11,12-эпокси-5Z,8Z,14Z-эйкозатриеновой кислоты (I), 13-гидрокси-5Z,9Z,11E-октадекатриеновой кислоты (II), 13-оксо-5Z,9Z,11E-октадекатриеновой кислоты (III), простагландина A<sub>2</sub> (IV), простагландина F<sub>2α</sub> (V).

*Соединение (I).* R<sub>f</sub> 0,8 (хлороформ — ацетон, 10 : 1). Масс-спектр, m/z, I (%): 374 [M + H]<sup>+</sup>, 8; 373 [M]<sup>+</sup>, 6; 357 [M + H — OH]<sup>+</sup>, 5; 303 [M — C<sub>5</sub>H<sub>11</sub> + H]<sup>+</sup>, 8; 302 [M — C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup>, 6; 263 [M — C<sub>5</sub>H<sub>11</sub> (CH=CH—CH<sub>2</sub>) + H]<sup>+</sup>, 28; 262 [M — C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>(CH=CH—CH<sub>2</sub>)]<sup>+</sup>, 28; 221 [M — CH(O)—CH(CH=CH—CH<sub>2</sub>)C<sub>5</sub>H<sub>11</sub> + H]<sup>+</sup>, 9; 206 [M — CH<sub>2</sub>(CH(O)—CH)CH=CH—CH<sub>2</sub>)C<sub>5</sub>H<sub>11</sub> + H]<sup>+</sup>, 6; 180 [C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N(CO)(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH=CH—CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 19; 166 [C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N(CO)(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>(CH=CH)]<sup>+</sup>, 14; 140 [C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N(CO)(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 12; 126 [C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N(CO)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 33; 113 [C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N(CO)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 100; 98 [C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>NCO]<sup>+</sup>, 27.

*Соединение (II).* R<sub>f</sub> 0,6 (хлороформ — ацетон, 10 : 1), УФ-спектр: λ<sub>max</sub> 234 нм (ε 26 200, этанол). Масс-спектр — см. рисунок.

Соединение (III).  $R_f$  0,8 (хлороформ — ацетон, 10 : 1), УФ-спектр:  $\lambda_{\text{max}}$  278 нм ( $\epsilon$  18 100, этанол). Масс-спектр,  $m/z$ ,  $I(\%)$ : 346  $[M + H]^+$ , 10; 331  $[M - \text{Me} + H]^+$ , 18; 274  $[M - \text{C}_5\text{H}_{11}]^+$ , 8; 246  $[M - (\text{CO})\text{C}_5\text{H}_{11}]^+$ , 15; 232  $[M - \text{C}_4\text{H}_8\text{N}(\text{CO})\text{CH}_2]^+$ , 10; 194  $[\text{C}_4\text{H}_8\text{N}(\text{CO})(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}_2]^+$ , 6; 180  $[\text{C}_4\text{H}_8\text{N}(\text{CO})(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CHCH}_2]^+$ , 100; 140;  $[\text{C}_4\text{H}_8\text{N}(\text{CO})(\text{CH}_2)_3]^+$ , 5; 126  $[\text{C}_4\text{H}_8\text{N}(\text{CO})\text{CH}_2\text{CH}_2]^+$ , 19; 113  $[\text{C}_4\text{H}_8\text{N}(\text{CO})\text{CH}_2]^+$ , 99.

Соединение (IV).  $R_f$  0,63 (бензол — диоксан — уксусная кислота, 20 : 10 : 1). Масс-спектр,  $m/z$ ,  $I(\%)$ : 388  $[M + H]^+$ , 11; 391  $[M]^+$ , 9,5; 370  $[M - \text{H}_2\text{O} + H]^+$ , 28; 316  $[M - \text{C}_5\text{H}_{11} + H]^+$ , 67; 298  $[M - \text{C}_5\text{H}_{11} - \text{H}_2\text{O}]^+$ , 7; 288  $[M - \text{C}_5\text{H}_{11} - \text{CO} + H]^+$ , 8; 260  $[M - \text{CH}=\text{CHCH}(\text{OH})\text{C}_5\text{H}_{11} + H]^+$ , 12; 181  $[\text{C}_4\text{H}_8\text{N}(\text{CO})(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CHCH}_2 + H]^+$ , 47; 167  $[\text{C}_4\text{H}_8\text{N}(\text{CO})(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CH} + H]^+$ , 8; 127  $[\text{C}_4\text{H}_8\text{N}(\text{CO})(\text{CH}_2)_2 + H]^+$ , 5; 114 (перегруппировка Мак-Лафферти), 23; 98  $[\text{C}_4\text{H}_8\text{N}(\text{CO})]^+$ , 22.

Соединение (IV).  $R_f$  0,24 (бензол — диоксан — уксусная кислота, 20 : 10 : 1). Масс-спектр,  $m/z$ ,  $I(\%)$ : 408  $[M + H]^+$ , 4; 390  $[M - \text{H}_2\text{O}]^+$ , 10; 371  $[M - 2\text{H}_2\text{O}]^+$ , 8; 353  $[M - 3\text{H}_2\text{O}]^+$ , 7; 337  $[M - \text{C}_5\text{H}_{11} + H]^+$ , 40; 318  $[M - \text{C}_5\text{H}_{11} - \text{H}_2\text{O}]^+$ , 31; 301  $[M - \text{C}_5\text{H}_{11} - 2\text{H}_2\text{O} + H]^+$ , 5; 181  $[\text{C}_4\text{H}_8\text{N}(\text{CO})(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CHCH}_2 + H]^+$ , 38; 167  $[\text{C}_4\text{H}_8\text{N}(\text{CO})(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CH} + H]^+$ , 9; 127  $[\text{C}_4\text{H}_8\text{N}(\text{CO})(\text{CH}_2)_2 + H]^+$ , 33; 114 (перегруппировка Мак-Лафферти), 100; 98  $[\text{C}_4\text{H}_8\text{N}(\text{CO})]^+$ , 32.

В масс-спектрах исследованных соединений наиболее характерны: молекулярный ион и его протонированная форма, ионы, образующиеся из него при отщеплении элементов воды, а также фрагментные ионы, возникающие в результате расщепления углерод-углеродных связей, аналогичные описанным ранее в масс-спектрах пирролидидов неоксигенированных жирных кислот [1—6]. Сказанное можно проиллюстрировать на примере масс-спектра пирролидида 13-гидрокси-5Z,9Z,11E-октадекатриеновой кислоты (см. рисунок). Присутствующие в спектре молекулярный и фрагментные ионы позволяют однозначно подтвердить структуру данной гидроксикислоты, включая расположение двойных связей и гидроксила, баз получения силильных производных и проведения исчерпывающего гидрирования, что является стандартной процедурой идентификации этого класса соединений.

Таким образом, использование предложенного нами удобного метода дериватизации полифункциональных карбоновых кислот позволяет существенно расширить круг биологически активных соединений, пирролидиды которых могут быть использованы для структурной идентификации с помощью масс-спектрометрии.

Авторы выражают благодарность Ю. П. Козьмину и В. К. Царапкину (ИБХ им. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН) за помощь в получении масс-спектров.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Vetter W., Walther W., Vecchi M. // *Helv. chim. acta*. 1971. V. 54. P. 1599—1605.
2. Andersson B. A., Holman R. T. // *Lipids*. 1974. V. 9. № 3. P. 185—190.
3. Andersson B. A., Christie W. M., Holman R. T. // *Lipids*. 1975. V. 10. № 4. P. 215—219.
4. Andersson B. A. // *Prog. Chem. Fats and Other Lipids*. 1978. V. 16. P. 279—308.
5. Куклев Д. В., Шевченко В. П., Нагаев И. Ю., Латышев Н. А., Безуглов В. В. // *Биоорганическая химия*. 1991. Т. 17. № 11. С. 1574—1581.
6. Schmitz B., Klein R. A. // *Chem. Phys. Lipids*. 1986. V. 39. № 4. P. 285—312.
7. Безуглов В. В., Грецкая Н. М., Когтева Г. С., Маневич Е. М., Королева Е. В., Беленький Б. Г., Лилле Ю. Э., Бергельсон Л. Д. // *Докл. АН СССР*. 1989. Т. 308. № 1. С. 231—234.

Поступило в редакцию  
23.VII.1993

*D. V. Kuklev, V. V. Bezuglov*

**A NEW APPROACH TO MASS SPECTROMETRY OF OXYGENATED  
CARBONIC ACIDS. PYRROLIDIDES**

*M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic  
Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow*

A conventional one-pot procedure is described for the synthesis of pyrrolidides from natural labile carboxylic acids (prostaglandins, epoxy-, hydroxy-, ketoacids) through a mixed anhydride (isobutylchloroformate and triethylamine in THF, 15 min at  $-20^{\circ}\text{C}$ ) followed by treatment with pyrrolidine (10 min at  $25^{\circ}\text{C}$ ) and evaporation. The compounds obtained gave readily interpretable mass spectra, thus showing that pyrrolidides can be used for the identification of oxygenated naturally occurring carboxylic acids by mass spectrometry.