



УДК 543.51 : 577.114.5

© 1994 Ю. Н. Елькин, Ю. А. Книрель*,
Н. А. Кочарова*, Е. В. Виноградов*, К. Чапек**

МАСС-СПЕКТРЫ МЕТИЛПИРАНОЗИДОВ N-АЦЕТИЛИРОВАННЫХ МОНО- И ДИАМИНОСАХАРОВ

Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток;

* *Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН, Москва;*

** *Высшая технологическая школа, Прага*

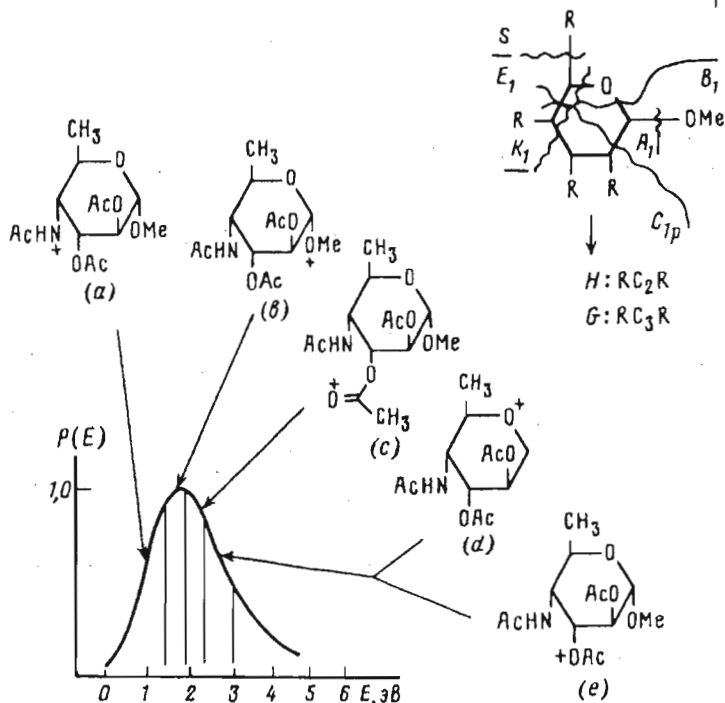
Масс-спектры ацетатов 4-, 6-моно- и 3,4-, 2,4-, 2,3-диацетамидных производных метилпиранозидов однозначно отражают положение ацетамидных групп. Фрагментация изученных аминсахаров под электронным ударом описана с позиций гипотетической функции распределения пяти типов молекулярных ионов по внутренней энергии. Найдено, что электронные свойства ОМе- и NHAc-групп, с высокой скоростью индуцирующие разрыв α -C—C-связей, близки. Благодаря этому обнаружены аналогии между масс-спектрами ОМе- и NHAc-производных ацетилованных метилгликозидов ОМе.

Моно- и диаминосакхара часто обнаруживают в составе бактериальных полисахаридов [1]. Ряд бактерий продуцирует антибиотики, в состав которых входят разнообразные аминсахара. Установление строения гликоконъюгатов бактериального происхождения часто затруднено из-за ограниченного количества доступного материала. Успешным подходом в этом случае может стать комбинация химической дегградации и масс-спектрометрии электронного удара соединений, предварительно модифицированных по моносахаридным остаткам. Из различных типов моносахаридных производных ацетилованные метилгликозиды наиболее практичны, по крайней мере по двум причинам.

Один из путей идентификации моносахаридов заключается в их превращении в метилгликозиды метанолизом в кислых условиях [2] или сольволизом фтористым водородом в среде метанола [3] с последующим анализом их летучих производных, например хроматомасс-спектрометрией. Такой анализ может быть проведен на микроколичествах вещества и не требует его предварительного выделения в индивидуальном виде.

Другая причина обращения к масс-спектрометрии состоит в том, что накоплены значительные сведения о фрагментации ацетилованных метилгликозидов разнообразных моносахаридов [4—10]. Кроме того, методом масс-спектрометрии были изучены также аминсахара с NHAc-группами в положениях 2 и 3 [11, 12]. Обнаружилось, что влияние ацетамидной группы на фрагментацию ацетилованного гексопиранозного кольца сходно с влиянием метоксильной группы, а сами спектры характеризуют положение NHAc-группы на моносахаридном кольце.

Интерес к установлению строения новых аминсахаров с помощью масс-спектрометрических методов побудил нас к дальнейшему изучению фрагментации



ацетамидных производных ацетатов метилгексопиранозидов. Ниже приведены результаты такого изучения моносахаридов с $NHAc$ -группами в положениях 4, 6, 2,3, 2,4 и 3,4. Очевидно, что вид спектра обсуждаемых производных гексопираноз обусловлен не только положением функциональных групп ($NHAc$, OAc и OMe), но и их электронными свойствами. Энергия ионизации каждой группы в отдельности, определяющая энергию ионизации молекулы в целом, неизвестна, но относительные их значения можно оценить по величине сродства к электрону (EA) для этих групп. Величина EA для AcO -группы составляет 3,40, для NH_2Ac — 0,42, для OMe — 1,5 эВ [13]; для $NHAc$ -группы данных нет.

Очевидно, что более низкая энергия ионизации ацетамидной и метоксильной групп по сравнению с ацетоксильной определяет их более высокую конкуренцию за заряд [14]. Следствием этого является преобладающая доля молекулярных ионов (M^+) RO^+Me (b) и RN^+HAc (a) типов над ионами RCO^+COMe (c), RO^+R' (d) и $RCOCO^+Me$ (e), характерными для ацетилированных сахаров [4—10], в гипотетической функции их распределения по избыточной внутренней энергии (схема). Доминирующие в распределении иона M^+ по энергии ионы (a) и (b) с ослабленными α -связями с заряженным центром (из-за положительного индуктивного эффекта последнего) распадаются на мелкие осколки, в основном на двууглеродные ионы H и K пиранозного кольца. M^+ -ионы (e) обуславливают образование ацетоксониевых ионов с m/z 43, 103, 145, которые несут мало структурно значимых сведений о фрагментации изучаемых соединений.

Особенностью поведения ацетилированных ацетамидных гексопираноз при электронном ударе является фрагментация, сопровождаемая множественным перераспределением атомов водорода с образованием замещенных аммониевых ионов, что проявляется в масс-спектрах двойными пиками или даже группами пиков. В результате спектры выглядят более насыщенными пиками, чем спектры метоксильных аналогов, которые были опубликованы ранее [15—17]. Для удобства сопоставления в качестве примера приведен масс-спектр метил-2,3-ди- O -ацетил-4- O -метил-6-дезоксид- α - L -маннопиранозид (1) (рис. 1a). Действительно, масс-

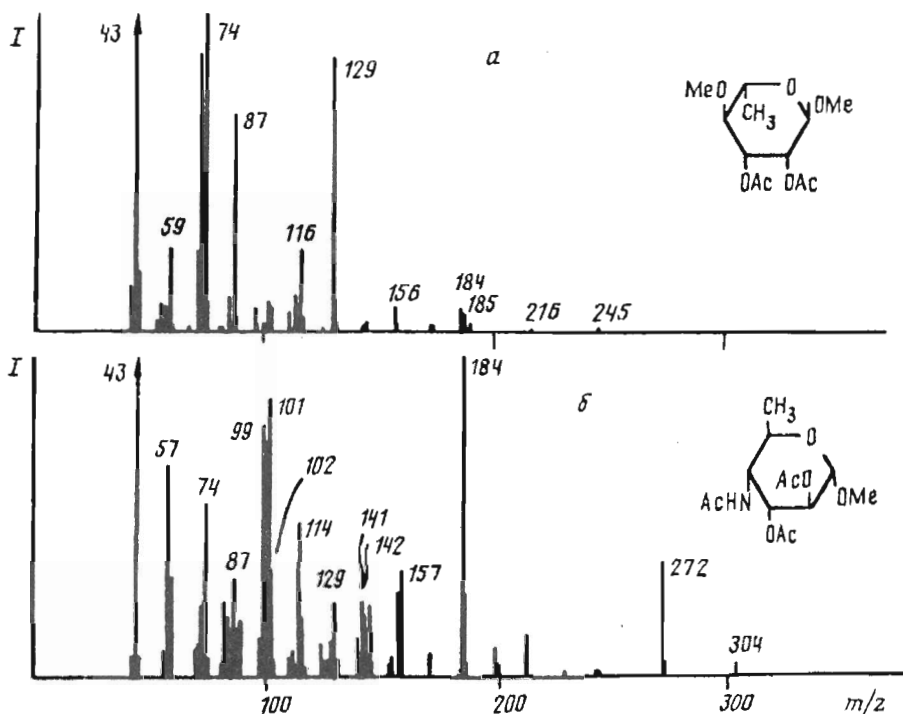


Рис. 1. Масс-спектр метил-2,3-ди-О-ацетил-6-дезоксид-4-О-метил- α -L-маннопиранозида (1) (а) и метил-2,3-ди-О-ацетил-4,6-дидезокси-4-ацетида- α -D-альтропиранозида (2) (б)

спектры метил-2,3-ди-О-ацетида-4-ацетида-4,6-дидезокси- α -D-альтропиранозида (2) и его 4-ОМе-аналога (1) на первый взгляд имеют мало сходства (рис. 1а, б). Однако на самом деле фрагментация этих соединений под электронным ударом в общих чертах идентична. Основными продуктами распада являются осколочные ионы пиранозного кольца: G, H, K и C (схема). Имеющиеся различия между спектрами обусловлены не столько различиями во вкладах этих ионов в полный ионный ток, сколько разностью в 27 а. е. м. фрагментов, несущих ацетидадную группу вместо метоксильной, и мультиплетностью пиков, вызванной упомянутым перераспределением Н-атомов. Для метоксильного аналога (1) вклады ионов G, H, K, C в полный ионный ток уменьшаются в порядке их перечисления. В случае 4-ацетидадного производного заметно увеличивается доля ионов C-типа (C2—C6-звено пиранозного цикла) так, что пик m/z 184 иона C₂ оказывается самым высоким в масс-спектре. Объяснить это явление пока не представляется возможным.

Вклады ионов G-типа в полный ионный ток не так малы, хотя выдающегося пика одного из этих ионов в масс-спектре нет. Их ионный ток распределяется на значительное число пиков из-за того, что фрагментация пиранозного кольца ацетидадных производных моносахаридов сопровождается миграцией атомов водорода и в результате один ион проявляется в спектре двумя пиками. Вследствие сопроводительной фрагментации ацетоксильных и ацетидадных групп ионы G-типа в спектре оказываются распределенными среди пиков с m/z 157, 156, 129, 115, 114, 96, 97, 89, тогда как в спектре метоксильного аналога (1) эти трехуглеродные осколки пиранозного кольца дают только два высоких пика — при m/z 129 и 87.

Высокие пики с m/z 99 и 101 в масс-спектре соединения (2) обусловлены двууглеродными звеньями пиранозного кольца — ионами H₁ и K₁ соответственно. Эти пики — только часть ионов этих типов, т. е. доля ионов K и H, как и в

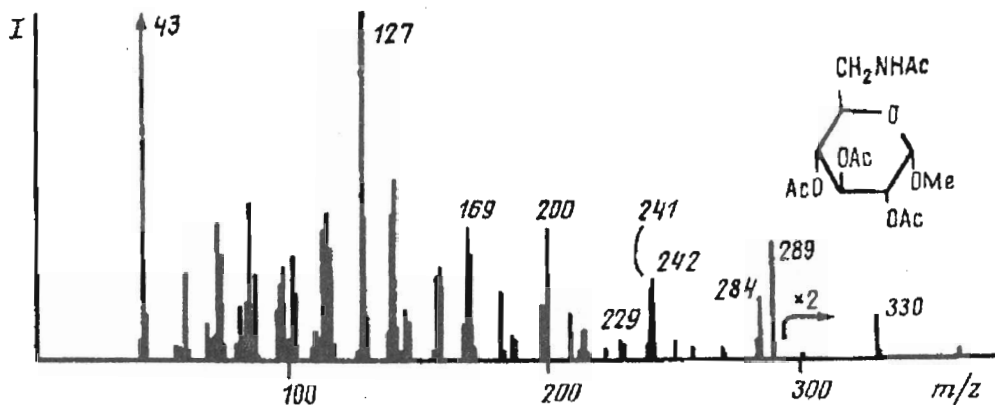


Рис. 2. Масс-спектр метил-2,3,4-три-О-ацетил-6-дезоксиглюкопиранозида (3)

случае 4-ОМе-аналога, остается значительной в полном ионном токе масс-спектра (2). Заметный выход ионов *K*-типа следует считать отличительным признаком 4-*NHAc*-замещенного моносахаридного кольца. Эта закономерность остается справедливой и в спектрах диацетамидных производных (4,5). 4-ОМе-Замещение моносахаридного кольца характеризуется в спектрах пиками иона *K* [16], что еще раз подтверждает близкие электронные свойства ОМе- и *NHAc*-групп.

В отличие от ионов *K* ионы *H* могут происходить от трех звеньев пиранозного кольца: *C1* — *C2*, *C2* — *C3*, *C3* — *C4*. В случае 4-ОМе-замещения (соединение (1)) первый и третий ионы неразличимы и обуславливают самый высокий пик с *m/z* 74. В спектре 4-*NHAc*-аналога (2) пик третьего иона смещается на 27 а. е. м. (к *m/z* 101) и остается заметным пиком в спектре. Как и в спектре 3-*NHAc*-позиционного изомера [12], образование иона *H*-типа с ацетамидной группой сопровождается миграцией атомов водорода и фрагментацией ацетильной группы. Поэтому третий ион *H* (звено *C3* — *C4* пиранозного кольца) представлен в спектре четырьмя пиками с *m/z* 144, 143, 102, 101. Первый ион *H* (*C1*—*C2*) обуславливает два известных пика с *m/z* 116 и 74. При этом выход первого иона *H* меньше, чем третьего, что можно объяснить большей долей ацетамидных (*a*), чем метилоксиониевых (*b*), *M⁺*-ионов в их распределении по избыточной внутренней энергии из-за более низкой энергии ионизации *RNHAc* по сравнению с *ROMe* (схема). Остается подозрение, что в пиках *m/z* 144 и 102 имеется вклад от второго иона *H* (*C2*—*C3*), несущего две ацетильные группы. Исключить этого нельзя, но высокая энергия ионизации *ROAc*-групп не может обеспечить значительный выход этого иона. Действительно, пики с *m/z* 144 и 102 вторых (*C2*—*C3*) ионов *H* в спектре 4-ОМе-аналога (1) составляют 1/10 часть остальных метоксониевых ионов *H*.

Самый крупный фрагмент соединения (2) — ион *A₁* (*m/z* 272) возглавляет в спектре серию незначительных пиков. Одна из причин его низкого выхода — низкая доля *M⁺* (*d*) в распределении молекулярных ионов по избыточной внутренней энергии (схема). Масс-спектрометрическое исследование 6-дезоксиглюкопираноз известно только для метил-6-дезоксиглюкопиранозида [18]. Картина его фрагментации оказалась подобной распаду перметилированной гексозы, т. е. свойства групп ОМе и *NHAc* близки. Поэтому мы будем сопоставлять масс-спектр ацетилированного метил-6-дезоксиглюкопиранозида (3) (рис. 2) со спектром его 6-ОМе-аналога [15]. Природа заместителя *S₆*-атома существенно не влияет на фрагментацию гексопиранозного кольца: масс-спектр (3) характеризуется обилием пиков от последовательной фрагментации ацетоксильных групп ионов *C*-, *G*-, *H*-, *E*-типов [5]. Отличительные черты спектра соединения (3) — пики ионов *S* (*m/z* 72) и

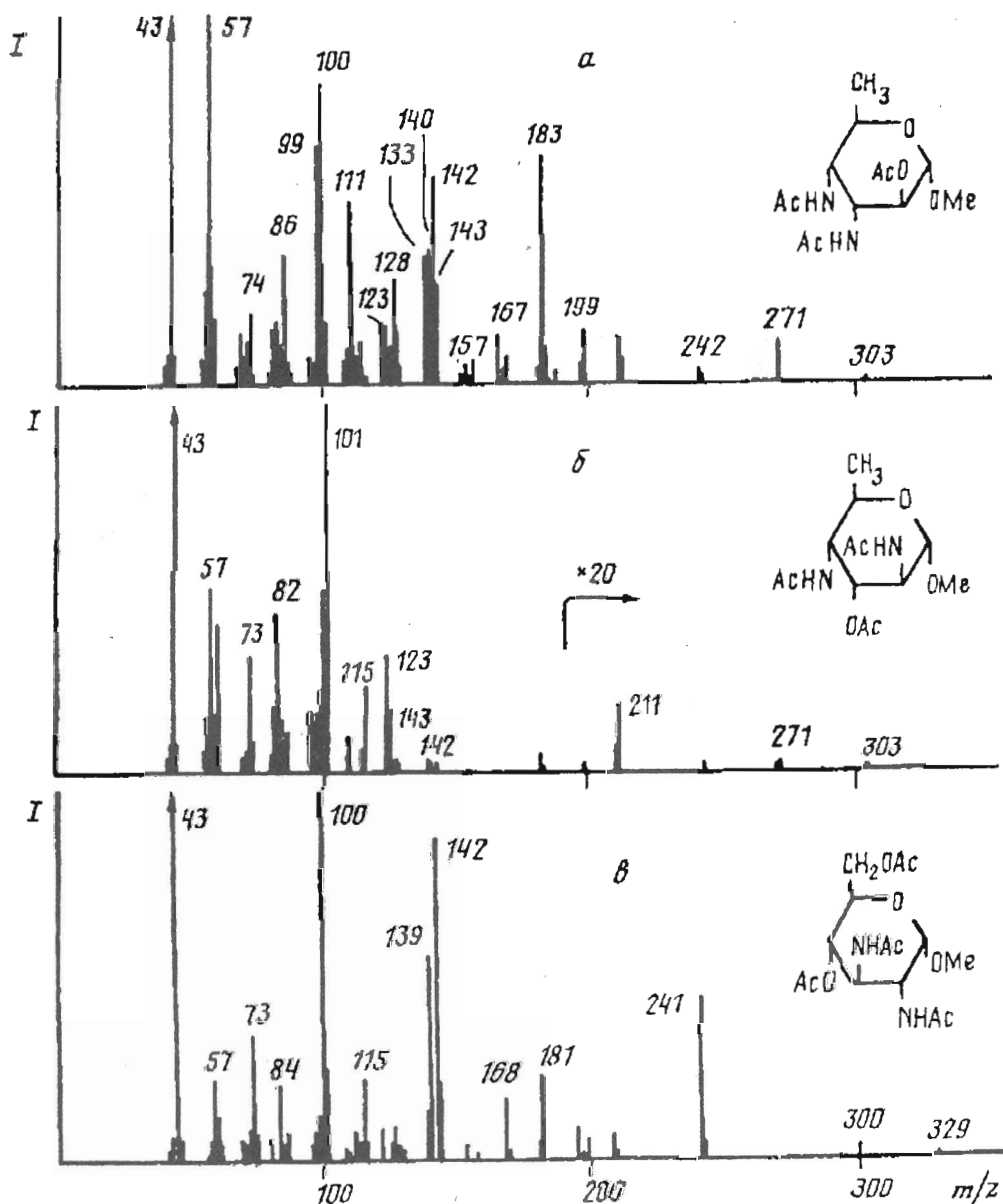


Рис. 3. Масс-спектр метил-2-О-ацетил-3,4,6-тридезоксид-3,4-диацетамидо- α -D-альтропиранозида (4) (а), метил-3-О-ацетил-2,4,6-тридезоксид-2,4-диацетамидо- α -D-альтропиранозида (5) (б) и метил-4,6-ди-О-ацетил-2,3-дидезокси-2,3-диацетамидо- α -D-глюкопиранозида (6) (в)

E (m/z 289, 229, 187, 169, 127). Все эти ионы образуются в результате разрыва C5—C6-связи. Следует заметить, что доля ионов E -типа от 6-ОМе-аналога [15] существенно меньше, чем от 6-NHAc-метилгексопиранозида (3). При этом ион E в результате последовательного отщепления трех ОАс-групп дает основной пик спектра с m/z 127.

Масс-спектры диаминопиранозидов (рис. 3а—в) свидетельствуют о быстром распаде пиранозного кольца, который также сопровождается перераспределением атомов водорода. Сложные картины спектров в этом случае также могут быть интерпретированы с позиций близости индуктивного эффекта NHAc- и OMe-групп. Низкая (относительно эфирного атома кислорода) энергия ионизации азота

ацетамидной группы обуславливает доминирующую долю ионов M^+ (a), в которых ослабленная положительным индуктивным эффектом N^+HAc -группы $\alpha-C-C$ -связь пиранозного кольца разрывается с высокой скоростью. Образующиеся в результате этого дву- (K , H) и трехуглеродные (G) осколочные ионы определяют подавляющую часть полного ионного тока масс-спектров диаминопроизводных.

Некоторая аналогия в поведении под электронным ударом диацетамидогексоз в сравнении с их диметоксильными аналогами [16] видна и здесь. Высокие пики в спектре альтропиранозида (4) (рис. 3а) обусловлены ионами серии K (m/z 99, 57) и H (m/z 143, 142, 101, 100, 84, 83). Из них ионы H образованы разрывом $C-C$ -связей в α -положении к заряженным центрам $NHAc$ - и OMe -групп. Основной вклад в ионы H дают $C3-C4$ - и $C2-C3$ -звенья моносахаридного кольца. Пики с m/z 116, 74 иона H от $C1-C2$ -звена значительно ниже пиков с m/z 142, 100 от $C3-C4$ -звена.

Ионы G звена $C1-C3$ дают в масс-спектре заметные пики с m/z 128, 86. Альтернативному иону G звена $C2-C4$ отвечают низкие пики с m/z 155, 113, 96 в спектре. Заметную долю в ионном токе имеют более крупные осколочные ионы B и C . В спектре 3,4-диацетамидного производного (4) пики серии ионов B (m/z 199, 167, 157, 140, 139, 130, 125) более высокие, чем в спектре 2,4- $NHAc$ -изомера (5) (рис. 3б). В случае OMe -аналогов наиболее высокие пики ионов B также присутствуют в спектрах 3- OMe -замещенных ацетилированных метилпиранозидов [16].

Высокий пик m/z 183 иона серии C (рис. 3а) подтверждает факт заметного появления выхода этого типа ионов при фрагментации 3-ацетамидных производных метилгексопиранозидов [12]. Однако неясно, потерей какой группы образуется этот ион из первичного иона C_{1p} (m/z 242): OAc или $NHAc$? Последующие пики этой серии с m/z 141, 123, 81 имеют меньшие высоты. Это означает, что избыточной внутренней энергии у иона C_{1p} недостаточно, чтобы обеспечить последовательную фрагментацию ацетильных групп с заметным выходом ионов.

Доля ионов A , сохраняющих пиранозное кольцо и образующихся потерей заместителей, очень мала. Однако значимость этих ионов для определения молекулярной массы моносахарида существенна. Пик иона A_1 (m/z 271) наиболее заметный в области высоких массовых чисел.

Масс-спектр 2,4-диацетамидного производного (5) показывает более заметные отличия фрагментации от фрагментации его 2,4-диметоксианалога (рис. 3б). Если в спектре последнего основные пики обусловлены ионами G с m/z 161 ($C2-C4$ -звено), то в случае диацетамидного аналога (5) такой ион не образуется. Другие ионы серии G (звено $C1-C3$) с m/z 128, 86 имеют незначительную долю в ионном токе. Наиболее высокие пики в масс-спектре соединения (5) (m/z 101, 100, 73, 59 и 99, 57) обусловлены ионами серии H и K . В отличие от масс-спектра 3,4-диацетамидного изомера (4) масс-спектр соединения (5) имеет другое соотношение высот пиков этих ионов.

В молекуле 2,3-диацетамида (6) (рис. 3в) углеродные атомы 1—3 замещены группами с низким сродством к электрону. Такая картина предопределила сохранение заряда на этих группах и быстрый разрыв $\alpha-C-C$ -связей пиранозного кольца. Этот факт отражается в масс-спектре соединения (6) наибольшей долей вторых ($C2-C3$) и первых ($C1-C2$) ионов H (m/z 142, 100 и 115, 73 соответственно). Аналогичная фрагментация имеет место у 2,3-диметоксианалога. Трехуглеродные ионы G практически не формируются. Характерный путь фрагментации 3-ацетамидов — образование с заметным выходом ионов C [12] проявляется в спектре 2,3-диацетамида (6) высокими пиками этого иона (m/z 300, 241, 181 и 139).

Таким образом, масс-спектры электронного удара позиционных изомеров ацетатов моно- и диацетамидов метилгексопиранозидов позволяют установить положение $NHAc$ -групп на пиранозном кольце моносахарида. Пути фрагментации ацетилированных метилгликозидов ацетамидов в значительной степени идентичны

тем, что известны для соответствующих метоксильных аналогов. Такое сходство объяснено на основе низких энергий ионизации OMe- и NHAc-групп и их близких индуктивных эффектов на разрыв C—C-связей кольца моносахарида. Найдены две особенности во фрагментации ацетамидных производных метилгексопиранозидов: 1) обильная, сопутствующая фрагментации моносахаридного кольца миграция атомов водорода, что приводит к спектрам с мультиплетными группами пиков вместо спектров с одиночными пиками, как это случается у OMe-аналогов; 2) увеличенный выход ионов типа C (C2—C6-звено пиранозного кольца) при фрагментации производных метилгексопиранозидов, имеющих 3-NHAc-группу.

Экспериментальная часть

Образцы изученных ацетамидных производных моносахаридов были синтезированы как описано в работах [19, 20]. Около 0,5 мг каждого образца ацетилировали в 0,1 мл смеси уксусный ангидрид — пиридин (1 : 1, 100° С, 20 мин). Раствор упаривали, к сухому остатку добавляли 0,5 мл CHCl₃ и 2 мкл раствора использовали для ГЖХ-МС-анализа.

Ацетаты метилгликозидов ацетамидов гексоз (2) — (6) анализировали с помощью ГЖХ-МС LKB 9000 S в следующих экспериментальных условиях: стеклянная колонка (0,4 × 200 см) заполнена 2% QF-1 на Chromaton N-AW-DMCS 100—120 меш, скорость газа-носителя (гелий) 30 мл/мин, температура колонки 180—240° С, скорость нагрева 5° С/мин. Температура ионного источника, сепаратора и испарителя поддерживалась при 250° С. Ток эмиссии 60 мкА, ионизирующее напряжение 70 В.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lindberg B. // *Adv. Carbohydr. Chem. and Biochem.* 1990. V. 48. P. 279—318.
2. Aspinall G. O. // *Polysaccharides*. V. 1. N. Y.: Acad. Press, 1982. P. 35—131.
3. Knirel Y. A., Vinogradov E. V., Mort A. J. // *Adv. Carbohydr. Chem. and Biochem.* 1989. V. 47. P. 167—202.
4. Biemann K., DeJongh D. C., Schnoes H. K. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1963. V. 85. P. 1763—1770.
5. DeJongh D. C., Biemann K. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1963. V. 85. P. 2279—2294.
6. Heyns K., Kiessling G., Muller D. // *Carbohydr. Res.* 1967. V. 4. P. 452.
7. Dougherty R. C., Horton D., Philips K. D., Wander J. D. // *Org. Mass Spectrom.* 1973. V. 7. P. 805.
8. Елькин Ю. Н., Дубинин А. Н. // ВИНТИ 2772-79 деп.
9. Kovacic V., Mihalov V., Kovac P. // *Carbohydr. Res.* 1977. V. 54. P. 23—31.
10. Mihalov V., Kovacic V., Kovac P. // *Chem. zvesti.* 1979. V. 33. P. 377—386.
11. Елькин Ю. Н., Верещagina О. Ф. // ВИНТИ 3177-83 деп.
12. Елькин Ю. Н., Томшич С. В., Фурганг С. И., Усов А. И. // ВИНТИ 5109-84 деп.
13. Rosenstock H. M., Draxl K., Steiner W. M., Herron J. T. // *J. Phys. Chem. Reference Data*. 1977. V. 6. Supplement № 1.
14. Howe I., Williams D. H., Bowen R. D. // *Mass Spectrometry: Principles and Applications*. McGraw-Hill Book Company, 1981. P. 37—40.
15. Елькин Ю. Н., Калиновский А. И., Павленко А. Ф., Шульга Н. И., Розынов Б. В., Дзизенко А. К. // *Химия природн. соединений*. 1974. P. 605—608.
16. Елькин Ю. Н., Розынов Б. В., Вакорина Т. И., Шульга Н. И., Дзизенко А. К. // *Химия природн. соединений*. 1974. P. 457—459.
17. Fournet B., Streker G., Leroy Y., Montreuil J. // *Anal. Biochem.* 1981. V. 116. P. 489—502.
18. Heyns K., Muller D. // *Tetrahedron*. 1965. V. 21. P. 3151—3670.
19. Knirel Y. A., Vinogradov E. V., Kocharova N. A., Shashkov A. S., Dmitriev' B. A., Kochetkov N. K. // *Carbohydr. Res.* 1983. V. 122. P. 181—188.
20. Čapek K., Čapkova J., Jary P., Knirel Y. A., Shashkov A. S. // *Coll. Czech. Chem. Commun.* 1987. V. 52. P. 2248—2259.

Поступила в редакцию
28.X.1993

Yu. N. Elkin, Yu. A. Knirel*, N. A. Kocharova*,
E. V. Vinogradov*, K. Čapek**

**MASS SPECTRA OF METHYLPYRANOSIDES OF N-ACETYL
MONO- AND DIAMINO SUGAR ACETATES**

*Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far East Division,
Russian Academy of Sciences, Vladivostok;*

** N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry,
Russian Academy of Sciences, Moscow;*

*** High School of Technology, Prague*

Mass spectra of O-acetylated methyl 4-, 6-acetamido- and 3,4-, 2,4-, 2,3-diacetamido pyranosides are reported. Their EI fragmentations are described in terms of a hypothetical function of the energy distribution for five different types of molecular ions, thus conforming the positions of the acetamido groups. Due to the similarity in the electronic properties of OMe and NHAc groups, which induce high rate cleavage of α -C—C bonds, resemblance of the fragmentation patterns of acetylated and methylated glycosides is also revealed.