



УДК 577.182.9'13
© 1991 г.

Б. В. Розынов, Ю. В. Жданович, Г. Б. Локшин*,
Л. И. Насонова**

**КОМПЛЕКСНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ
С ДЕСОРБЦИОННОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ИОНИЗАЦИЕЙ АММИАКОМ
И БОМБАРДИРОВКОЙ УСКОРЕННЫМИ АТОМАМИ ДЛЯ АНАЛИЗА
АНТИБИОТИКОВ ГРУППЫ АУРЕОЛОВОЙ КИСЛОТЫ
(НА ПРИМЕРЕ ВАРИАМИЦИНОВ А И В)**

*Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина АН СССР, Москва;
Всероссийский научно-исследовательский институт антибиотиков Минмедпрома, Москва

Представлены результаты масс-спектрометрического изучения антибиотиков группы ауреоловой кислоты — вариамицинов А и В. При использовании метода вторично-эмиссионной масс-спектрометрии удалось определить их молекулярные массы. Применение десорбционной химической ионизации позволило подтвердить ранее установленные величины и состав углеводных цепей в молекулах обоих антибиотиков.

Метод масс-спектрометрии с десорбционной химической ионизацией (DCI) находит широкое применение при изучении сложных полифункциональных природных соединений [1, 2]. Ранее [3, 4] он был использован нами для изучения и идентификации антибиотиков аминокгликозидов и макролидов на первичных этапах скрининга, а также при анализе неочищенных препаратов для определения их состава. Цель настоящего исследования — изучение возможности применения этого метода для структурного анализа антибиотиков — представителей группы ауреоловой кислоты. В качестве модельных соединений были выбраны вариамицины А (I) и В (II) [5—8].

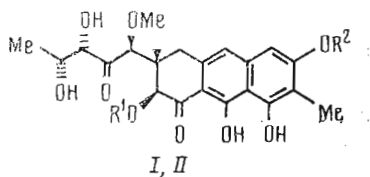
В масс-спектре DCI вариамицина А (таблица) в отличие от описанного в сообщениях [3, 4] отсутствуют пики ионов MH^+ или $(MH + NH_3)^+$. Максимальными значениями массовых чисел обладают малоинтенсивные пики ионов с m/z 665 и 664. Наличие этих ионов может быть связано с элиминированием трисахаридной цепи из MH^+ . Потеря таким ионом одного углеводного остатка дисахаридной цепи приводит к иону с m/z 534, что соответствует агликону вариамицина А, гликозилированному остатком оливозы (D).

Наряду с пиками рассмотренных ионов в спектре присутствуют и другие пики ионов, в частности с m/z 422 и 278, которые свидетельствуют о наличии в молекуле антибиотика трисахаридной (III) и дисахаридной (IV) цепей.

В рассматриваемом спектре имеется также интенсивный пик иона (V) с m/z 292, образование которого связано с отщеплением остатка оливозы (A) от трисахаридной цепи. Наличие в молекуле антибиотика остатка (C) вариозы (об идентичности вариозы циммарозе см. работу [8]) характеризуется интенсивным пиком иона (VI) с m/z 162, а остатков оливозы (или олиозы) — пиком иона (VII) с m/z 148.

Элиминирование молекулы метанола из иона с m/z 162 или молекулы воды из иона с m/z 148 приводит к иону с m/z 130, пик которого имеет максимальную интенсивность.

Таким образом, хотя метод DCI не позволяет определить молекулярную массу вариамицина, на основании анализа полученных данных можно однозначно характеризовать состав и величину углеводных цепей

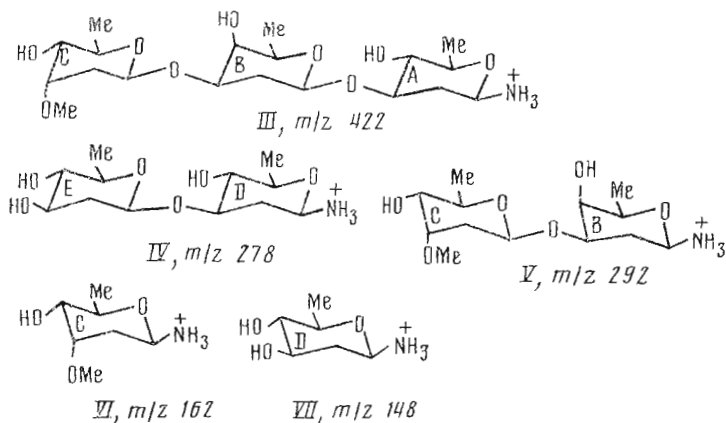


I, II

A B C

I: R¹ = -оливозил-оливозил-циммарозил,
 II: R¹ = -оливозил-оливозил-циммарозил,
 D E

R² для I и II -оливозил-оливозил



вариамицина А, а также последовательность соединения в них моносахаридных звеньев.

Спектр DCI вариамицина В (не приведен) тождествен спектру вариамицина А и отличается от него только интенсивностью отдельных пиков. Эти данные свидетельствуют о том, что величины углеводных цепей у молекул этих соединений идентичны.

Так как метод DCI не позволяет получить прямую информацию о молекулярной массе молекулы вариамицина, для ее определения была использована вторично-эмиссионная масс-спектрометрия — один из важнейших методов структурного анализа антибиотиков [9]. Этот вид масс-спектрометрии с бомбардировкой первичными пучками ускоренных атомов ксенона (метод FAB [3]) позволяет анализировать сложные гликозиды [10].

При масс-спектрометрировании вариамицина А методом FAB в масс-спектре положительных ионов (таблица) присутствует пик иона $(M + H)^+$ с *m/z* 1085, а в спектре отрицательных — $(M - H)^-$ с *m/z* 1083 (таблица). В спектре отрицательных ионов кроме пика $(M - H)^-$ наблюдаются пики при *m/z* 953, 823 и 663, отвечающие анионам, которые образуются при элиминировании из $(M - H)^-$ остатка оливозы (Е) и двух- (D-E) или трехчленной (А-В-С) углеводной цепи соответственно. Таким образом, молекулярная масса вариамицина А равна 1084, что подтверждает ранее определенную величину.

Метод FAB был использован для установления молекулярной массы вариамицина В [7]. Его молекулярная масса также оказалась равной 1084. Совокупность данных, полученных в результате анализа масс-спектров DCI и FAB, не противоречит предложенной нами ранее частичной структуре вариамицина В.

Экспериментальная часть

Вторично-эмиссионные масс-спектры сняты на приборе MS-50ТС (Crago, Великобритания), а спектры химической ионизации — на масс-спектрометре MAT-44 (Varian, ФРГ) с десорбционной химической иони-

Масс-спектры DCI* и FAB вариацина А

DCI		FAB			
m/z	I, %	Положительные ионы		Отрицательные ионы	
		m/z	I, %	m/z	I, %
665	0,7	1085 (M+H) ⁺	5	1083 (M-II) ⁻	43
664	1	705	33	953	7
566	3	689	5	935	12
552	5	548	10	823	7
534	20	530	5	675	7
516	2	416	17	663	15
440	3	417	75	661	16
422	17	418	58	631	38
404	15	357	59	556	36
386	3	325	45	343	7
376	2	297	67	345	12
372	2	269	67	331	17
292	35	270	83	315	52
278	25	271	87	255	100
274	10	253	87		
260	30	254	91		
242	25	255	100		
226	5	239	83		
225	5	241	50		
162	50	225	67		
148	53				
130	100				
113	50				
112	25				
95	25				

* Газ-реагент NH₃.

зацией. Для получения спектров вещество из метанольного раствора наносили на проволочный эмиттер, который вводили в ионизационную камеру. Давление аммиака составляло 0,5 Торр, скорость нагрева эмиттера — 100° С/с. Для проведения масс-спектрометрии вторичных ионов антибиотик растворяли в жидкой матрице (глицерин + моноито лидерин в объемном соотношении 1 : 1), прибавляя его к ней в виде метанольного раствора с последующим испарением растворителя.

Приготовленную таким образом пробу помещали в ионный источник масс-спектрометра, подвергали воздействию пучка ускоренных атомов ксенона с энергией 6—8 кэВ и получали вторично-эмиссионные спектры положительных и отрицательных ионов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Westmore J. B., Alanddin M. M. // Mass Spectrom. Rev. 1986. V. 5. № 4. P. 384—465.
2. Reinhold O. N. // Meth. Enzymol. 1987. V. 138. P. 59—84.
3. Розынов Б. В., Жданович Ю. В., Кузовков А. Д. // Механизмы биосинтеза антибиотиков. М.: Наука, 1986. С. 182—188.
4. Жданович Ю. В., Богданова И. А., Розынов Б. В., Кузовков А. Д., Насонова Л. И., Михалев А. В. // 16-я конференция ФЕБО. М.: Наука, 1984. С. 412.
5. Жданович Ю. В., Локишин Г. Б., Кузовков А. Д., Рудая С. М. // Химия природн. соедин. 1971. № 5. С. 646—649.
6. Локишин Г. Б., Жданович Ю. В., Кузовков А. Д. // Биоорган. химия. 1975. Т. 1. № 4. С. 479—484.
7. Жданович Ю. В., Кузовков А. Д., Веселова С. М., Вагина И. М., Сапожников Ю. М., Терентьева Т. Г., Навашин С. М. // Антибиотики. 1982. № 2. С. 83—87.
8. Шашков А. С., Яшунский Д. В., Жданович Ю. В., Локишин Г. Б. // Биоорган. химия. 1991. Т. 17. № 3. С. 410—416.
9. Borders D. B., Carter G. T., Hargreavs R. T. // Siegel Mass Spectrom. 1985. V. 4. № 3. P. 295—367.
10. Komori T., Kawasaki T., Schulten H. R. // Mass Spectrom. Rev. 1985. V. 4. № 2. P. 255—293.

Поступила в редакцию
25.IV.1990

B. V. ROSYNOV, Yu. V. ZHDANOVICH*, G. B. LOKSHIN*, L. I. NASONOVA*

USE OF MASS-SPECTROMETRY WITH DESORPTION BY CHEMICAL
IONIZATION WITH AMMONIA AND FAB FOR ANALYZING ANTIBIOTICS
BELONGING TO THE AUREOLIC ACID GROUP (AS EXAMPLIFIED
BY VARIAMYCIN)

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

** National Research Institute of Antibiotics, Moscow*

By means of the title methods molecular masses of variamycin A (I) and B (II) have been established, presence of a trisaccharide and a disaccharide chains in molecules I and II is corroborated, and the order of monosaccharide residues in the chains is established.