

2,2,6,6-四甲基-4-氨基-哌啶-N-氧基型稳定自由基的质谱研究

吴 逸 平

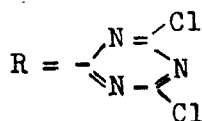
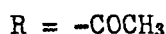
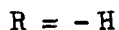
(中国科学院上海原子核研究所)

杨 一 鸣 张 雯 丽

(中国科学院上海药物研究所)

〔摘要〕 本文报导了2,2,6,6-四甲基-4-氨基-哌啶-N-氧基型自由基质谱裂解规律。经高分辨质谱与亚稳测定证实, 这些稳定自由基在电子轰击条件下, 有以下主要特征碎片离子: (1) $(M + H^+ - CH_3)^+$ 离子; (2) $(M - NO)^+$ 离子; (3) $(M - CH_2O)^+$ 离子及它们的继发反应产物离子。此外, 还能发生哌啶环破裂及取代基消除反应。研究该类化合物, 能对标记生物大分子提供更多结构的信息。

在生物化学领域内, 自由基可作为对蛋白质和核酸等大分子的标记物。Morrison^[1] 等人于70年发表了4-羟基-哌啶-N-氧基稳定自由基的质谱; Разынов^[2-3] 等人也对4-氨基-哌啶-N-氧基稳定自由基作了质谱研究, 仅发现 $(M - N^+O)$ 及其继发裂解是它们的主要特征。鉴于过去对自由基的质谱行为极少报导, 而上述作者仅用低分辨数据 (有几对峰匹配数据) 作出推断, 为此我们对2,2,6,6-四甲基-4-氨基-哌啶-N-氧基型三个代表性稳定自由基1-3的裂解方式作了详细的再研究。



所用仪器为MAT711质谱计—SS166数据系统, 实验条件为: 分辨率1000 (低分辨) 和20000 (高分辨), 电子能量70eV, 离子源温度250℃, 进样器温度0°—1000℃。对关键性离子进行了去聚焦亚稳测定 (部份亚稳数据在JMS-D300仪器上测得)。

这类化合物的主要裂解特征为:

1. $(M + H^+ - CH_3)^+$ 及其继发裂解:

1983年4月23日收

4-氨基-吡啶-N-氧基质谱(表1)中,除分子离子 $M^{+\bullet}$ 外,还存在 $(M+1)$ 离子和 $(M-14)$ 离子。通过加速电压扫描,证实 $(M-14)$ 离子不是分子离子的直接产物,而是来自 $(M+1)$ 离子。 $(M+1)$ 离子失去 $CH_3^{\bullet}$ 后,再失去 $-RNH_2$ 得到 m/z 140特征离子,最后失去 C_3H_6 得到 m/z 98(C_5H_8NO)的特征离子(表2、表3和图1)。

表1 1—3 的低分辨质谱

1		2		3	
m/z	相对强度%	m/z	相对强度%	m/z	相对强度%
172	<1	214	<3	322	2
171	3	213	14	320	8
157	<1	199	5	319	3
141	1	183	3	318	11
140	<1	154	36	304	7
124	6	140	22	288	9
115	7	139	23	245	5
109	2	127	98	236	9
98	7	126	7	234	57
97	2	124	78	232	83
85	34	112	34	231	18
84	25	109	92	221	9
83	2	98	17	219	50
82	4	97	14	217	74
70	100	85	36	193	15
69	3	84	95	191	76
		70	100	189	100
		69	3	154	31
				140	14
				139	11
				124	54
				109	18
				98	2
				97	2
				84	2
				70	4
				69	12

2. $(M-NO)$ 及其继发裂解:

对于 $(M-30)$ 特征峰,可以由下列二种裂解方式产生:(1)失去 NO (图2,表4);
(2)失去 $-CH_2O$ (图3)

经非均裂开环进而失去 $\cdot NO$ 生成 $(M-NO)$ 离子,再失去 C_4H_8 产生 $(M-NO-C_4H_8)$ 强峰,后者继续裂解得 $(M-NO-C_4H_8-H\cdot)$ 及 $(M-NO-C_4H_8-CH_3^{\bullet})$ 强峰。在化合物2~3的情况下, $(M-30)$ 、 $(M-86)$ 离子都能失去4位氮上的取代基,分别导致 m/z 124、109、85、84及70峰。

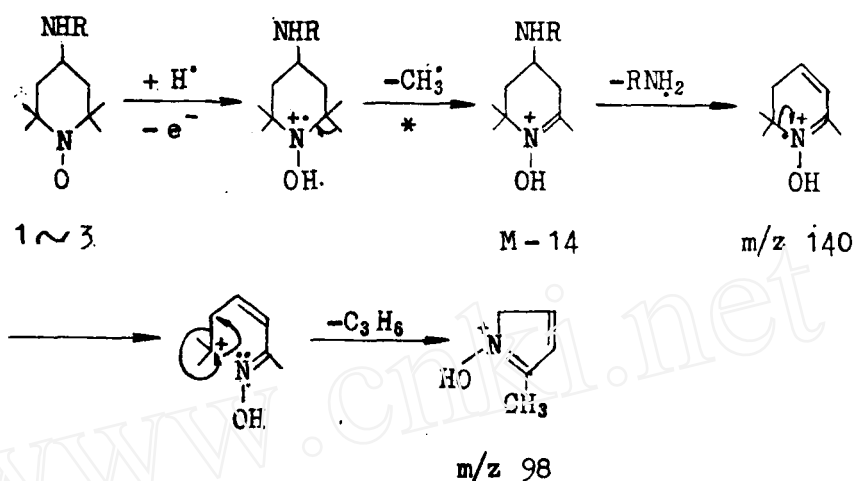


图 1

表 2 图 1 中碎片离子的高分辨数据

	1			2		
	精确质量	元素组成	偏差 (m.m.u)	精确质量	元素组成	偏差 (m.m.u)
M	171.1486	C ₉ H ₁₉ N ₂ O	-1.1	213.1637	C ₁₁ H ₂₁ N ₂ O ₂	1.4
(M + H ⁺ - CH ₃)	157.1337	C ₈ H ₁₇ N ₂ O	-0.3	199.1466	C ₁₀ H ₁₉ N ₂ O ₂	2.0
m/z 140	140.1069	C ₈ H ₁₄ NO	-0.7	140.1046	C ₈ H ₁₄ NO	-2.9
m/z 98	98.0607	C ₅ H ₈ NO	0.2	98.0571	C ₅ H ₈ NO	-3.4

	3		
	精确质量	元素组成	偏差 (m.m.u)
M	318.0871	C ₁₂ H ₁₈ N ₅ OCl ₂	-1.8
(M + H ⁺ - CH ₃)	304.0707	C ₁₁ H ₁₆ N ₅ OCl ₂	-2.5
m/z 140	140.1082	C ₈ H ₁₄ NO	0.6
m/z 98	98.0607	C ₅ H ₈ NO	0.2

表 3 化合物 2 的亚稳测定

m ₀	V ₀	V ₁	m ₀ V ₁ /V ₀	V ₂	m ₀ V ₂ /V ₀	V ₃	m ₀ V ₃ /V ₀
199.1445	1.454	1.565	214.3				
	1.457	1.566	214.1				
	1.457	1.569	214.2				
	1.454	1.566	214.4				
	1.454	1.565	214.3				

m_0	V_0	V_1	$m_0 V_1/V_0$	V_2	$m_0 V_2/V_0$	V_3	$m_0 V_3/V_0$
154.1231	1.458	2.027	214.3				
	1.459	2.027	214.2				
124.125	1.455	1.631	139.1	1.804	153.9	2.152	183.6
	1.459	1.636	139.1	1.805	153.6	2.155	183.3
109.102	1.447	1.645	123.9	1.849	139.4	2.048	154.4
	1.449	1.649	124.1	1.850	139.3	2.050	154.3
	1.463	1.667	124.3	1.859	138.6	2.066	154.1
84.0813	2.001	2.960	124.4	3.027	127.2	3.660	153.8
	2.001	2.957	124.3	3.025	127.1	3.658	153.7
	2.001	2.958	124.3	3.027	127.2	3.658	153.7
70.0567	2.001	2.423	84.8				
	2.001	2.422	84.8				
	2.001	2.423	84.8				

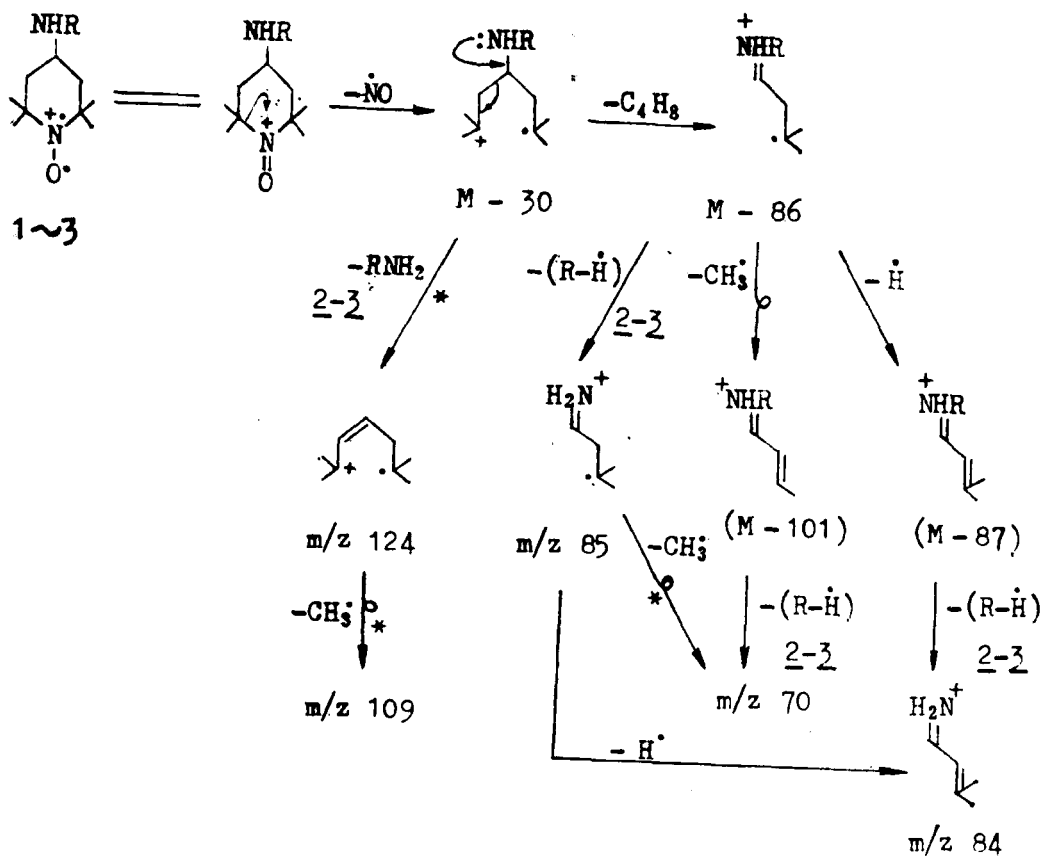


图 2

表 4 图 2 中碎片离子的高分辨数据

	1			2		
	精确质量	元素组成	偏差 (m.m.u)	精确质量	元素组成	偏差 (m.m.u)
M-NO	141.1528	C ₉ H ₁₉ N	1.0	183.1597	C ₁₁ H ₂₁ NO	-2.5
M-C ₄ H ₈ NO	85.0888	C ₅ H ₁₁ N	-0.3	127.0986	C ₇ H ₁₃ NO	-1.1
M-C ₄ H ₉ NO	84.0807	C ₅ H ₁₀ N	-0.6	126.0904	C ₇ H ₁₂ NO	-1.5
M-C ₅ H ₁₁ NO	70.0658	C ₄ H ₈ N	0.2	112.0739	C ₆ H ₁₀ NO	-2.3
m/z124	124.1243	C ₉ H ₁₆	-0.9	124.1246	C ₉ H ₁₆	-0.6
m/z85				85.0922	C ₅ H ₁₁ N	3.0
m/z84				84.0845	C ₅ H ₁₀ N	3.2
m/z70				70.0691	C ₄ H ₈ N	3.4

	3		
	精确质量	元素组成	偏差 (m.m.u)
M-NO	288	C ₁₂ H ₁₈ N ₄ Cl ₂	
M-C ₄ H ₈ NO	232.0288	C ₈ H ₁₀ N ₄ Cl ₂	0.4
M-C ₄ H ₉ NO	231.0191	C ₈ H ₉ N ₄ Cl ₂	-1.4
M-C ₅ H ₁₁ NO	216.9984	C ₇ H ₇ N ₄ Cl ₂	-1.6
m/z124	124.1233	C ₉ H ₁₆	-1.8
m/z85	85.0945	C ₅ H ₁₁ N	5.4
m/z84	84.0815	C ₅ H ₁₀ N	0.2
m/z70	70.0670	C ₄ H ₈ N	1.3

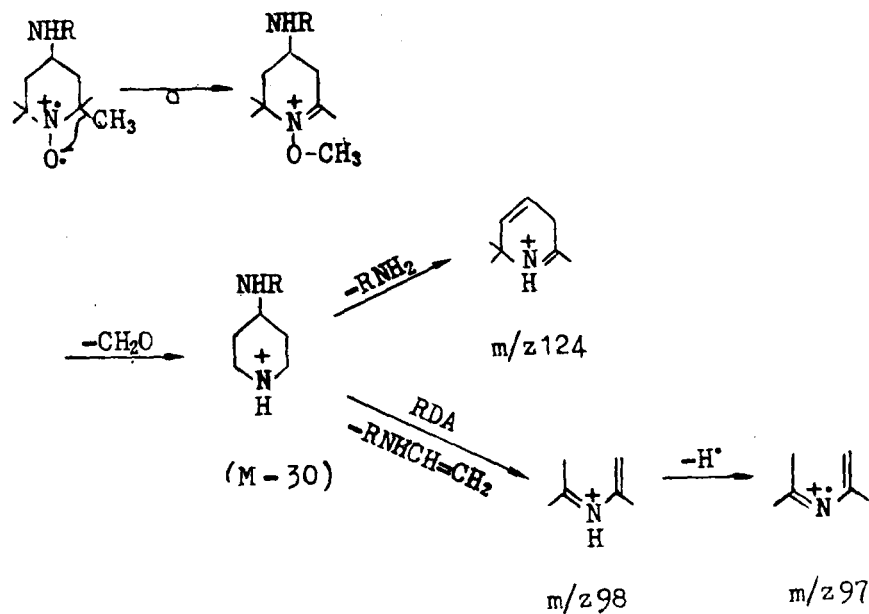


图 3

表 5 图 3 中碎片离子的高分辨数据

	1			2			3		
	精确质量	元素组成	偏差 m,m,u	精确质量	元素组成	偏差 m,m,u	精确质量	元素组成	偏差 m,m,u
M-CH ₂ O	141.1383	C ₈ H ₁₇ N ₂	-0.8	183.1486	C ₁₀ H ₁₉ N ₂ O	-1.0	288.0768	C ₁₁ H ₁₆ N ₅ Cl ₂	-1.6
m/z 98	98.0962	C ₆ H ₁₂ N	-0.8	98.0996	C ₆ H ₁₂ N	2.6	98.0951	C ₆ H ₁₂ N	-1.8
m/z 97	97.0866	C ₆ H ₁₁ N	-0.5	97.0871	C ₆ H ₁₁ N	-2.0	97.0881	C ₆ H ₁₁ N	-1.0
m/z 124	124.1121	C ₈ H ₁₄ N	-0.4	124.1119	C ₈ H ₁₄ N	-0.6	124.1122	C ₈ H ₁₄ N	-0.3

3. (M-CH₂O) 及其次级离子:

高分辨质谱中可以明显地观察到 (M-30) 为二重峰。除 (M-NO) 外, 另一个重要离子为 (M-CH₂O)。失去的 CH₂O 极可能是 CH₃ 基转移后, 再进行氢重排的结果。(M-CH₂O) 离子可继续经逆 Diels-Alder 反应 (RDA) 得 m/z 98、97 或脱 RNH₂ 得 m/z 124 峰。(图 3、表 5)。

4. (M-RNH₂) 及其裂解产物:

在化合物 2 和 3 的质谱中, 均呈现 McLaffery 重排产生的 (M-RNH₂, m/z 154) 特征强峰, 及其进一步裂解产物 m/z 124、112 和 109 (图 4、表 6)

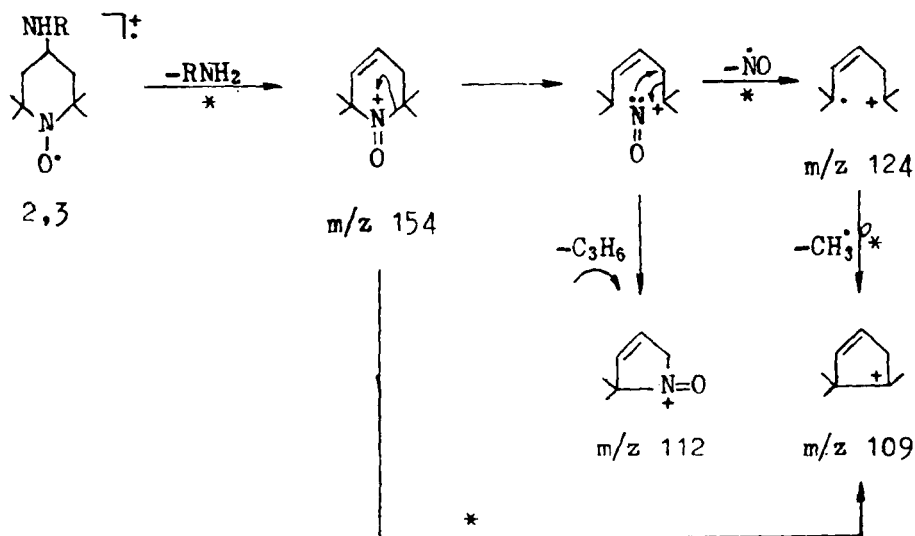
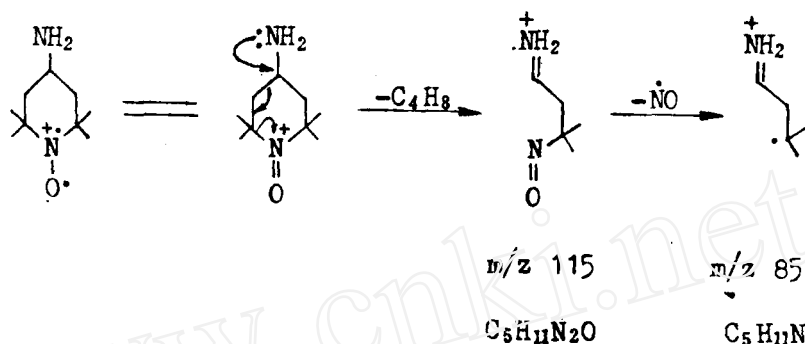


图 4

表 6 图 4 中碎片离子的高分辨数据

	1			2			3		
	精确质量	元素组成	偏差 (m,m,u)	精确质量	元素组成	偏差 (m,m,u)	精确质量	元素组成	偏差 (m,m,u)
m/z 154	—	—	—	154.1204	C ₉ H ₁₆ NO	-2.8	154.1245	C ₉ H ₁₆ NO	1.4
m/z 124	124.1243	C ₉ H ₁₆	-0.9	124.1246	C ₉ H ₁₆	-0.6	124.1243	C ₉ H ₁₆	-0.8
m/z 109	109.0999	C ₈ H ₁₃	-1.8	109.1000	C ₈ H ₁₃	-1.7	109.0993	C ₈ H ₁₃	-2.4

5. ($M-C_4H_8$) 离子: 在化合物 1 ($R=H$) 的情况下, 由于氨基上氮原子的供电子能力强, 因此可以失去 C_4H_8 生成 ($M-C_4H_8$) 和 ($M-C_4H_8-NO$) 等特征离子。



稳定自由基是一类特殊类型的化合物, 其“分子离子”为偶数电子离子, 在电子轰击条件下, 只失去偶数电子的中性碎片, 遵循偶数电子规律。然而在少数情况下, 其“分子离子”能够失去稳定的奇数电子碎片 (如 NO), 或生成高度共轭的奇数电子离子。由于稳定自由基受电子轰击后, 产生的“分子离子”比正常的分子离子有更多的“自由基部位”, 因而有可能进行偶合 ($M+N$)、重排 (CH_3 基转移) 等反应。对这类化合物的质谱反应的研究正在进行中。

样品由上海生化所盛沛根同志提供, 合成制备方法见氮氧自由基 ESR 特性研究一文,⁽⁴⁾ 部份亚稳离子由六院十一所检测, 且得到药物所黄知恒同志热情指导, 在此表示感谢。

参 考 文 献

- (1) A. Morrison and A. P. Davies, OMS, 3, 353, (1970)
- (2) А. Б. Шапиро, Б. В. Розынов, Э. Р. Разанцев, Изв. АН СССР, Сер. Хим. № 4, 867, (1971)
- (3) Б. В. Розынов, Р. И. Жданов, О. С. Решетова, Изв. АН СССР Сер. Хим. № 8 с1838-46 (1978)
- (4) 盛沛根等 四种哌啶系氮氧自由基的 ESR 特性研究, 《中国科学》B 辑, № 5, 395, (1984)

Mass Spectrometric Research on Stable Radical of Piperidine N-oxides

Wu Yiping

(Shanghai Institute of Nuclear, Academia Sinica)

Yang Yiming, Dai Manli

(Shanghai Institute of Medicine, Academia Sinica)

Received 23, April, 1983

Abstract

In this paper, the fragmentation mechanism of 2,2,6,6-tetramethyl-4-su-

substituted amino piperidine N-oxides are reported. From the data of exact mass measurements and metastable transition, three types of diagnostic ion produced under EI condition have been proposed: (1) $(M + H^+ - CH_3)^+$ ion, (2) $(M - NO)^{+•}$ ion, (3) $(M - CH_2O)^+$ ion and its sequential fragment ion. In addition, the ions arisen from ring cleavage and elimination reaction are also observed. On the basis of mass spectrometric behaviour for these compounds, some further instructive informations about labeled biological molecules can be obtained.

www.cnki.net