

睾酮与表睾酮空间构象的化学反应质谱

郭志峰 安秋荣 刘鹏岩 新伯礼
(河北大学理化中心 保定 071002)

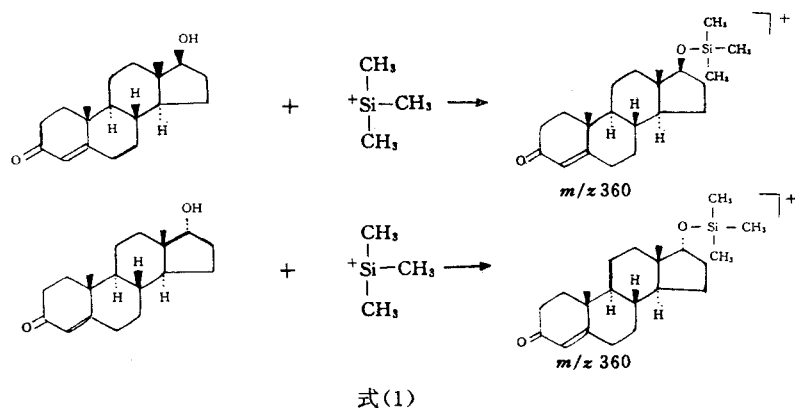
[摘要] 本文用反应质谱(Reaction Mass Spectrometry, RMS)方法研究了睾酮(17 β -Hydroxy-4-androsten-3-one)和表睾酮(17 α -Hydroxy-4-androsten-3-one)的质谱行为。并对不同的反应试剂做了比较。发现了样品与反应试剂发生的分子离子反应,产生的特征离子 $[M + \text{Si}(\text{me})_3 - \text{H}]^+$ 反映了样品不同空间构象的差别。由分子离子丰度对特征离子丰度比值鉴别出睾酮与表睾酮。

关键词: 睾酮 表睾酮 空间构象 反应质谱

反应质谱是一种化学反应的在线(on line)质谱分析法,即在样品送入离子源的同时把反应试剂引入源中或碰撞活化室中,使之发生分子-离子反应,产生特征离子。通过选择试剂使样品与之发生特定的反应,可体现样品分子的空间结构与不同构象间差异^[1]。

17 α -睾酮与 17 β -睾酮的 EI 谱的差别不大,很难据此区别二者。1988 年 Zaretskii Z V 和合作者用 CID 方式研究了二者的 MIKE 谱^[2],比较了由二者在 17 位上不同空间构象在 MIKE 谱中的差异,发现碎片 $m/z 228$ ($M - \text{CH}_2\text{CO} - \text{H}_2\text{O}$)与碎片 $m/z 203$ 的丰度比值在两者间有明显差异,由此鉴别二者在 17 位上的空间构象。

用反应质谱法(RMS),利用 17 α -睾酮与 17 β -睾酮 17 位的羟基可与硅烷化试剂生成硅醚^[3,4](见反应式 1)的性质,把硅烷化试剂当做反应试剂,使这一反应在源内发生,所产生的特征离子在二样品中的差异鉴别出其空间构象的不同。



1994 年 1 月 27 日收

1 实验部分

1.1 仪器:VG7070E-HF 双焦聚质谱计,数据处理系统:PDP11/24-11/250。

试剂:TMCS(Trimethylchlorosilane),国产 AR;MSTFA(N-methyl-N-trimethylsilyl-trifluoroacetamide),Sigma 公司产品。异丁烷,天津特种气厂产品。

样品:17 α -羧酮、17 β -羧酮、17 α 甲基羧酮,Sigma 公司产品。样品实验前未经过进一步提纯,但做气相色谱分离未见其它峰出现。

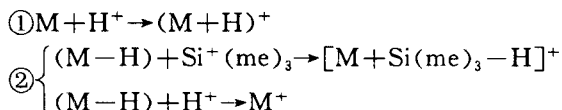
操作:取 4 μ L 反应试剂 MSTFA 或 TMCS 注入储罐做反应气用。储罐温度>200 $^{\circ}$ C,取少量样品放入探针进样器的浅杯内送到源中。源真空约 10^{-4} P $_a$,分析器真空约 10^{-6} P $_a$,发射电流 1mA,电子能量 50eV。采用 CI 化学电离方式,扫描时间 2 秒/十倍程。

将样品用探针送入离子原后,打开反应气阀门使电离室内充满反应气,然后加热样品杯到 160 $^{\circ}$ C 后进行质谱数据采集,将每次扫描采集的数据经计算机处理后给出结果。

实验时样品为固样,进溶液样品时须先将溶剂挥发,以避免溶剂与反应试剂所生的干扰。

2 结果与讨论

实验用三种试剂,两种为硅烷化试剂,一种是异丁烷。用三甲基氯硅烷(TMCS)做反应试剂时,发现样品与反应试剂不马上生成硅醚产生 m/z 360 的特征峰,前几次扫描 m/z M+1 峰为主,随着扫描次数的增加,M+1 峰减弱,而 M^+ 峰增强并出现 m/z 360 的特征峰,因此源内存在两种过程:



各离子丰度随扫描次数变化见图 1a、1b。

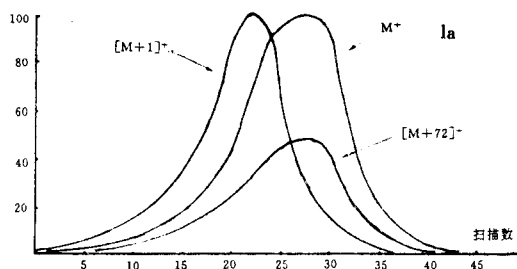


图 1a 17- α -羧酮各离子强度随扫描次数变化
(试剂 TMCS)

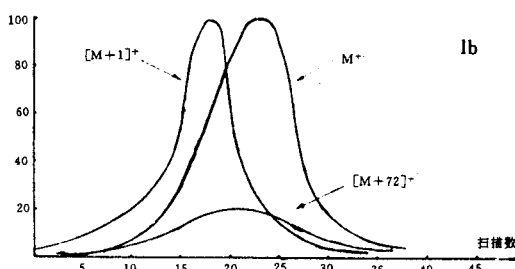


图 1b 17- β -羧酮各离子强度随扫描次数变化
(试剂 TMCS)

用 N-甲基-N-三甲基硅乙酰胺(MSTFA)时过程②始终为主导,见不到 M+1 峰的存在,用异丁烷时过程①为主导,除去 M+1 峰外,无大于 M 的峰。比较两种硅烷化试剂 TMCS 和 MSTFA,MSTFA 更易与样品生成硅醚产生特征离子。由于样品 17 α -羧酮与

17 β -甾酮的空间构象差异,与试剂所生成的特征离子的反应不一致。由图 2 中看到,样品 17 α -甾酮与试剂产生的特征离子丰度明显高于 17 β -甾酮。其原因是甾酮 17 位的羟基与甲基在同侧,空间位阻较大,与硅烷化试剂形成硅醚需要较大的活化能。而表 甾酮 17 位的羟基与甲基异侧,空间位阻小,形成硅醚所需的活化能比前者小,与甾酮比较,表甾酮更易与 MSTFA 形成硅醚。我们把 17 α -甾酮和 17 β -甾酮在无硅烷化试剂时的 EI 谱和有硅烷化试剂时的 CI 谱进行比较,从实验数据中看出 17 β -甾酮的 $(M+72)/M$ 的丰度比值不超过 10%,而 17 α -甾酮则占 40%以上,两者相差 4 倍。由此可从 $(M+72)/M$ 的丰度比中区别出 17 α -甾酮和 17 β -甾酮。

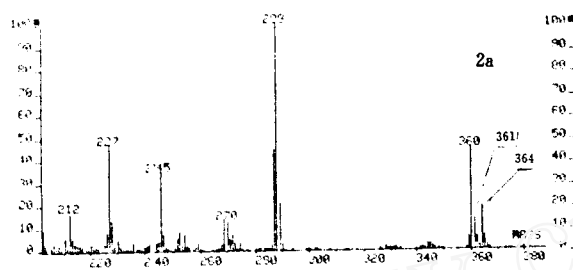


图 2a 17 α -甾酮的 CIRMS 图
(试剂 MSTFA)

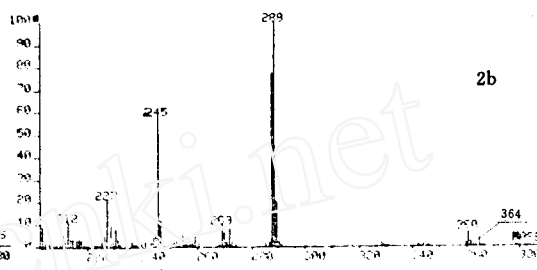


图 2b 17 β -甾酮的 CIRMS 图
(试剂 MSTFA)

改变样品用 17 α -甲基甾酮以 MSTFA 为试剂重复上述实验,也发现了特征峰 m/z 374 ($M+72$)。

另外在特征峰 m/z 360 外还发现了 m/z 364 峰。用 TMCS 做试剂时此峰不消失,因此所反映的结构只与三甲硅烷和样品有关,确切结构尚需进一步研究。

3 结论

用 MSTFA 为试剂做 17 α -甾酮和 17 β -甾酮的化学反应质谱,比较特征离子 m/z 360 与 M^+ 的丰度比可以方便地区别二者。

参 考 文 献

- 1 陈耀祖等. 质谱学报, 1988, 9(3): 1-20
- 2 Zaretskill Z V I. Org Mass Spectrom, 1988, 23(7): 511-516
- 3 McGugan W A. J Chromatogr, 1973, 82: 372
- 4 Gleispash H. J Chromatogr, 1974, 91: 43

Study on Conformation of Testosterone and Epitestosterone by Reaction Mass Spectrometry

Guo Zhifeng, An Qiurong, Liu Pengyan, Jin Boli

(Physical and Chemical Analysis Centre,

Hebei University, Baodin 071002, China)

Received 1994-01-27

Abstract

In the present paper, testosterone and epitestosterone have been studied by reaction mass spectrometry (RMS) using N-methyl-N-trimethylsilyl-trifluoroacetamide (MSTFA) and trimethylchlorosilane (TMCS) as reagent. In mass spectra the expected characteristic ions $[M + Si(me)_3 - H]^+$ has been observed. The difference of the conformation between the both of them can be easily distinguished from the ratio of abundance of the molecular ion M^+ and characteristic ion $[M + Si(me)_3 - H]^+$.

Key Words: testosterone, epitestosterone, conformation, ion-molecule reaction, RMS.