

Oxazafoszfordinán gyűrűrendszert tartalmazó vegyületek tömegspektrometriás viselkedése

JUHÁSZ Márta^{a*}

^aSzegedi Tudományegyetem, Gyógyszerkémiai Intézet, Eötvös u. 6., 6720 Szeged

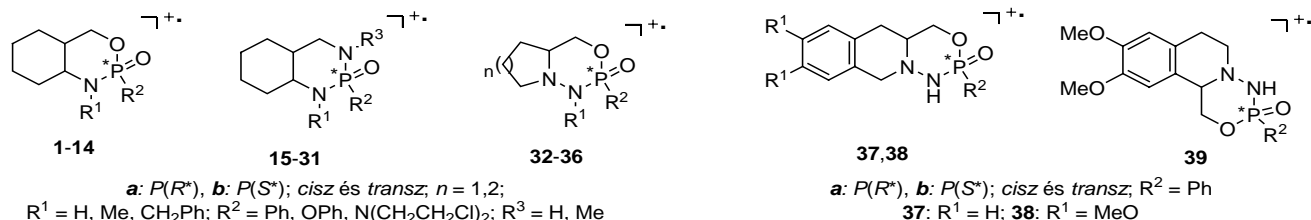
1. Bevezetés

Az oxazafoszfordinán gyűrűrendszert tartalmazó vegyületek mint mátrix metalloproteináz inhibitorok, alkiláló típusú rákellenes gyógyszerek építőelemei nagy jelentőséggel bírnak.

Az 1,3,2-oxazafoszfordinán gyűrűrendszert megtalálhatjuk a daganatellenes terápiában már régebb óta alkalmazott ciklofoszfamid illetve ifoszfamid molekulaszervezetében. Az 1,3,2-oxazafoszfordinán gyűrűrendszert egyéb gyűrűrendszerrel (ciklohexánnal, tetrahydroizokinolinnal) is egyesítették. Nemcsak a tumorelles hatás teszi e vegyületeket érdekessé, hanem az is, hogy a gyűrűrendszerhez eltérő módon kapcsolódó szubsztituensek minősége és helyzete miként befolyásolja a vegyületek gázfázisbeli viselkedését. Egy adott vegyületcsoport tömegspektrometriás viselkedésének, fragmentációs folyamatainak felderítése jelentős szereppel bír a vegyületcsoportba tartozó újabb és újabb szerves komponensek szintézisének nyomonkövetése és tömegspektrometriás azonosítása során. A kondenzáltvázas heterociklusos vegyületek elektronütközéses fragmentációjában legtöbbször a

gyűrűilleszkedés helye és sztereokémiája is fontos szerepet játszik a gyűrűrendszerhez kapcsolódó szubsztituensek minőségén és helyzetén túl. A diasztereomerpár vegyületek általában nem mutatnak sztereospecifikus fragmentációt azaz hasonlóképpen bomlanak. Azonban az ily módon létrejövő megfelelő fragmensionok eltérő intenzitással jellemezhetők mivel a különböző izomer molekulákban a fragmentációs bomlások, folyamatok eltérő sebességgel indulnak meg ahogy ez a különféle ciklofoszfamid származékokban, 4-metil-1,3,2-dioxafoszfordinánokban megfigyelhető.

Alapvető biológiai és szintetikus szerepük miatt, a 3,1,2-benzoxazafoszfordinán-2-oxid (1–14), a nitrogénanalóg 1,3,2-benzodiazafoszfordinán-2-oxid (15–31) és a különböző kondenzált vázas 1,3,4,2-oxadiazafoszfordinán származékok (32–39)^{1–4} gázfázisbeli viselkedését tanulmányoztuk. Doktori munkám során feladatult kaptam, hogy a gyűrűs nitrogén- és foszfor-atomokon lévő szubsztituenseknek, a *cisz-transz* izomériának és a foszfor sztereokémiájának szerepeit feltérképezem a diasztereomerpárok 70 eV-os elektronütközéses ionizációjuk (EI) során végbemenő fragmentációikra (1. ábra).^{5–7}



1. Ábra. A vizsgált vegyületek szerkezete.

2. Eredmények

2.1. Telített 3,1,2-benzoxazafoszfordinán-2-oxidok és 1,3,2-benzodiazafoszfordinán-2-oxidok

Minden vegyületre – az N(CH₂CH₂Cl)₂ szubsztituált származékok kivételével – intenzív molekulaion-csúcs figyelhető meg, mely gyakran a spektrum báziscsúcsa. A kondenzáltvázas 1,3,2-benzodiazafoszfordinán-2-oxidok (15–31) esetén sem a *cisz-transz* izoméria, sem a P relatív konfigurációja nincs befolyással a molekulaionok (M⁺) intenzitásértékeire (1. táblázat), s ugyanígy az 1–14 vegyületeknél a megfelelő *cisz* és *transz* izomerpárok is hasonló intenzitású molekulaion-csúcsot adtak (2. táblázat).

A M⁺ intenzitására nagyobb befolyással bír az R¹ és az R² szubsztituensek mérete. Az O,P,N vegyületekre (1–14) a gyűrűs nitrogénhez kapcsolódó szubsztituens növekvő

méretével a M⁺ destabilizálódik s az R² növekvő mérete is destabilizálja azt mind a ciklohexánnal kondenzált O,P,N mind a ciklohexánnal kondenzált N,P,N heterociklusok körében. A 3,1,2-O,P,N vegyületek (1–14) spektrumaiban, az [M–H]⁺ ion kis intenzitású, míg az 1,3,2-N,P,N vegyületeknél (15–31) nagy, s nincs számottevő különbség a *cisz* és a megfelelő *transz* izomerek között. Az [M–H]⁺ ion képződése a *transz* izomerből minden esetben kedvezményezett, mint a megfelelő *cisz* izomerből a 32–39 vegyületekre. Az [M–H]⁺ intenzitása csökken az N-szubsztituens (H, Me, CH₂Ph) növekvő méretével a 3,1,2-benzoxazafoszfordinán-2-oxidoknál.

A vegyületek főként egyszerű gyűrűhasadással fragmentálódtak. A fragmensionok nagy többsége oxigén, nitrogén és foszfor atomokat egyaránt tartalmazott. Az 1,3,2-N,P,N származékokra jellemző a kis nitrogéntartalmú fragmensek kihaladása is (2. ábra).

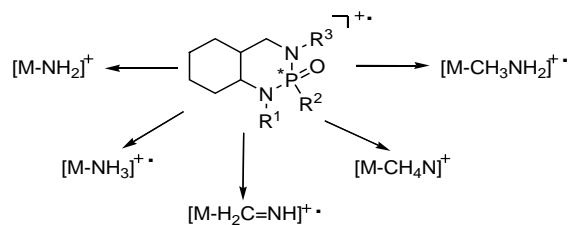
* Tel.: +36-62-546421; fax: +36-62-545705; e-mail: Juhasz.Marta@pharm.u-szeged.u

1. Táblázat. M^+ , $[M-H]^+$ és $[M-R^2]^+$ ionok intenzitása néhány Ph-csoporttal szubsztituált 1,3,2-benzodiazafoszfínán-2-oxidra

Vegyület	R ¹	R ²	R ³	Konfiguráció	Anneláció	M ⁺	$[M-H]^+$	$[M-R^2]^+$
15a	H	Ph	H	2R*,4aR*,8aR*	cisz	100	10	5
15b	H	Ph	H	2S*,4aR*,8aR*	cisz	100	10	4,5
16a	H	Ph	H	2R*,4aR*,8aS*	transz	100	11	5
16b	H	Ph	H	2S*,4aR*,8aS*	transz	100	10	5
17a	H	Ph	Me	2R*,4aR*,8aR*	cisz	100	18,5	4
17b	H	Ph	Me	2S*,4aR*,8aR*	cisz	100	19	4
18a	H	Ph	Me	2R*,4aR*,8aS*	transz	100	18,5	4
18b	H	Ph	Me	2S*,4aR*,8aS*	transz	100	17	3
19a	Me	Ph	H	2R*,4aR*,8aR*	cisz	76	8	2
19b	Me	Ph	H	2S*,4aR*,8aR*	cisz	78	8	3
20a	Me	Ph	H	2R*,4aR*,8aS*	transz	88	10	2
20b	Me	Ph	H	2S*,4aR*,8aS*	transz	89	9	2

2. Táblázat. M^+ , $[M-H]^+$ és $[M-R^2]^+$ ionok intenzitása néhány OPh-csoporttal szubsztituált 3,1,2-benzoxazafoszfínán-2-oxidra

Vegyület	R ¹	R ²	Konfiguráció	Anneláció	M ⁺	$[M-H]^+$	$[M-R^2]^+$
7a	H	OPh	2R*,4aS*,8aR*	cisz	88	6	19
7b	H	OPh	2S*,4aS*,8aR*	cisz	83	6	18
8a	H	OPh	2R*,4aS*,8aS*	transz	87	7	23
8b	H	OPh	2S*,4aS*,8aS*	transz	83	7	19
9a	Me	OPh	2R*,4aS*,8aR*	cisz	53	2	4
9b	Me	OPh	2S*,4aS*,8aR*	cisz	49	1	4
10a	Me	OPh	2R*,4aS*,8aS*	transz	48	2	4
10b	Me	OPh	2S*,4aS*,8aS*	transz	52	2	4
11a	CH ₂ Ph	OPh	2R*,4aS*,8aR*	cisz	58	1	2
11b	CH ₂ Ph	OPh	2S*,4aS*,8aR*	cisz	42	0,6	2
12a	CH ₂ Ph	OPh	2R*,4aS*,8aS*	transz	37	1	2
12b	CH ₂ Ph	OPh	2S*,4aS*,8aS*	transz	33	1	2

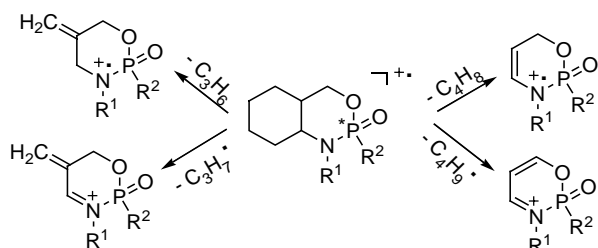


2. Ábra. Kis N-tartalmú fragmentsek elvesztése a 15–31 vegyületekből.

A fragmentációs folyamatok nagy részének kezdő lépése a nitrogénhez viszonyított egyszerű α -hasadással értelmezhető. Ennek folyamán a C(8) és C(8a) közti kötés hasadása a leggyakoribb, amelyet különböző szénhidrogéngyökök vesztese követ, valószínűleg a C(4a)-ról történő hidrogénvándorlás következtében.

A vegyületeket csoportosíthatjuk a különböző szénhidrogénvesztések által képződött fragmentumionok intenzitásai alapján. Így a legtöbb szénhidrogénvesztés a nitrogénen szubsztituálatlan 3,1,2-benzoxazafoszfínán- és 1,3,2-benzodiazafoszfínán-2-oxid származékokra volt jellemző, s kisebb számú és jóval kisebb intenzitású szénhidrogénvesztések voltak megfigyelhetők az *N*-metil-szubsztituáltakra. Az *N*-benzil szubsztituált 3,1,2-benzoxazafoszfínán-2-oxidokra (5,6,11 és 12) az egyetlen jelentős fragmentumion a $C_7H_7^+$ (m/z 91) mely sok esetben a báziscsúcsot adta. További jelentős fragmentációs folyamatnak bizonyult még a $C_7H_{11}^+$ elvesztése. A CH_2Ph csoport, mint elektronvonzó szubsztituens növeli a nitrogénatom elektrofil jellegét, melynek következtében, a közvetlen α -hasadásos reakciók gyakorisága csökken. A foszfor atomon $N(CH_2CH_2Cl)_2$ szubsztituált származékokra – külön álló csoportot képviselve – leginkább a foszfor és

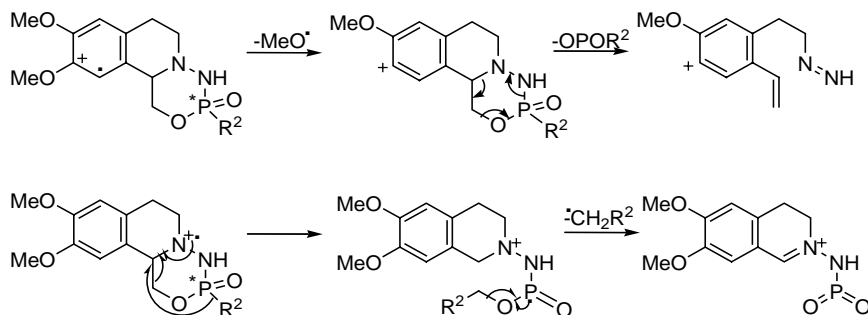
az exociklusos szubsztituens közti kötés-hasadás a jellemző. A fenti lépések közül a legkedvezőbb a $C_3H_7^+$ veszteség – α -hasadással és H-vándorlással – mivel így konjugáció által stabilizált fragmension jön létre. Emellett a hasonló fragmentációs mechanizmussal képződő $[M-C_4H_9]^+$ – ugyancsak konjugáció-stabilizált fragmension – is megfigyelhető, bár jóval kisebb intenzitással (3. ábra).



3. Ábra. C_mH_n veszteségek a 1–14 vegyületekből (hasonló kötés-hasadások a 15–31 vegyületeknél is megfigyelhetők).

A foszforhoz kapcsolódó megfelelő szubsztituens elvesztése, legintenzívebben az $N(CH_2CH_2Cl)_2$ származékoknál volt megfigyelhető, illetve az 1,3,2-*N,P,N* vegyületeknél a OPh-szubsztituáltakra is. A Ph-szubsztituáltakra nem vagy csak nagyon csekély mértékben következett be, jelezve azt, hogy a P-C kötés erősebb a P és heteroatom (O vagy N) által alkotott σ -kötésnél (1. és 2. táblázatok).

A M^{+} -ból $C_7H_9^+$ veszteséssel képződő fragmensionok – melynek során három hidrogén vándorol át a heterogyűrűre – nagyobb stabilitásúak voltak a *cisz* izomerre, mint a *transz* izomerre $R^2 = Ph$ szubsztituált 1,3,2-benzodiazafoszfínán-



4. Ábra. Aromás részről és hídfo N-atomról induló fragmentációk a 39 vegyületre (hasonló kötés-hasadások a 37 és 38 vegyületeknél is megfigyelhetők).

Az ezen fragmentációs bomlások útján képződő nitrogéntartalmú fragmensionok általában a ciklopentánnal kondenzált vegyületekre kedveltebbek, mint a ciklohexánnal anneláltakra, valószínűleg a ciklopentánban fellelhető nagyobb gyűrűfeszülés következtében. A legtöbb esetben, a *transz* izomerek stabilabb fragmensionokat (és M^{+} -t) adnak, mint a *cisz* izomerek. A sztereoisomerpárok spektrumai eléggé eltérők ahhoz, hogy az izomerek megkülönböztethetők legyenek. Néhány fragmensionhoz tartozó csúcshintenzitás alapján lehetővé vált még a P-N epimeriek egymástól való megkülönböztetése is; így a P-N kötés-hasadással majd azt követő hidrogénvándorlással képződő R^2H^+ , $R^2PO_2H^+$, $R^2PO_2H_2^+$ fragmensionok nagyobb intenzitásúaknak mutatkoztak az a epimerre, mint a megfelelő **b** epimerre.

2-oxidok esetében. Ennek a különbségnek az oka a szénhidrogényűrű felőli H-vándorlás a gyűrűs nitrogén atomra, amely a *cisz* izomerben könnyebben valósul meg. A 3,1,2-benzoxazafoszfínán-2-oxidok esetében, az $[M-C_7H_9]^+$ fragmension intenzitása alapján már nem lehetett a *cisz-transz* izomereket megkülönböztetni. Ugyancsak, a *cisz* izomerre volt nagyobb intenzitású a $[M-C_3H_7]^+$ fragmension által képzett fragmenszcús mind a 3,1,2-*O,P,N*, mind az 1,3,2-*N,P,N* vegyületeknél.

2.2. Kondenzáltvázas 1,3,4,2-oxadiazafoszfínán származékok

Az 1,3,4,2-oxadiazafoszfínán-2-oxidokhoz tartozó 37, 38, 39 vegyületekre jellemző megnövekedett aromás jelleg kisebb intenzitású hidrogénvesztéshez vezet; ezenfelül a párosítatlan elektronnal rendelkező fragmensionok kihatása sem volt gyakori, amely a M^{+} -nak a nagyobb stabilitását biztosította. Hasonlóan a fentebb tárgyalt 3,1,2-benzoxazafoszfínán- és 1,3,2-benzodiazafoszfínán-2-oxidokhoz, az R^2 növekvő méretével nő annak kihatási hajlama. Ezen 32–39 vegyületek is a jellemző fragmensionjaik alapján csoportokba sorolhatók. Az $R^2 = Ph$ ill. OPh szubsztituált vegyületek (32–35) nagyszámú fragmensionot adnak kis és nagy m/z értékeknél, míg a 37–39 vegyületekre ez nem jellemző, csak néhány nagyobb m/z -vel rendelkező fragmension jelenléte. A megfelelő ciklohexánnal kondenzált 3,1,2-*O,P,N* és 1,3,2-*N,P,N* heterociklusokhoz hasonlóan, az $R^2 = N(CH_2CH_2Cl)_2$ származékok (36) egy önálló csoportot alkotnak. Az aromás gyűrűvel kondenzált vegyületeknél, nem csupán a hídfo nitrogén atomról indulhat fragmentáció, hanem a benzolgyűrűs részről is (4. ábra).

3. Kísérleti rész

A 70 eV-os tömegspektrumok felvétele VG ZabSpec (VG Analytical, Manchester, UK) tömegspektrométerrel történt. Gyorsítófeszültség: 8 kV, ionforrás hőmérséklete: 433 K, ionizáló elektronáram: 200 μA . A mintát direkt mintaadagoló segítségével adagoltuk, mind a kis- ($R = 1000$) és nagyfelbontású ($R = 10000$ – 12000), mind a metastabilis (B/E és B^2/E , csatolt pásztázás) spektrumok rögzítésénél.

4. Összefoglalás

Tanulmányoztuk néhány foszfortartalmú heterociklusos vegyület (3,1,2-benzoxazafoszfínán-2-oxidok, 1,3,2-benzodiazafoszfínán-2-oxidok valamint kondenzáltvázas

1,3,4,2-oxadiazafoszfinán származékok) viselkedését 70 eV-os tömegspektrumok rögzítése, valamint a metastabilis ionok megfigyelése, és pontos tömegmérések segítségével. Az *N*-metil és *N*-benzil (*N*-szubsztituált) vegyületekre az *N*-szubsztituálatlan vegyületekhez képesti intenzívebb H-vesztés volt jellemző. Illetve ez utóbbi *N*-szubsztituálatlan származékokra még a gyűrűs nitrogén atomhoz képesti α -hasadással induló fragmentációs utak a legjellemzőbbek, melyek közül számos esetben a kilépő semleges szénhidrogén részre történő hidrogénvándorlás kísér. A *cis* és *transz* sztereoizomerpárok hasonló tömegspektrumai végett az izomerek megkülönböztetésére nem vagy csak néhány esetben nyílt lehetőség. A benzolgyűrűvel kondenzált származékoknál a hídfo nitrogén atomon túl az aromás részből is indult fragmentációs bomlás. A doktori munka részét képezte továbbá néhány öt- ill. hattagú 1,3-*O,N*-heterociklus gyűrű-lánc tautomériájának vizsgálata.⁸⁻¹⁰

Köszönetnyilvánítás

A szerző köszönetét fejezi ki doktori értekezése témavezetőinek, Prof. Dr. Fülöp Ferenc intézetvezető

Mass spectrometric behaviour of heterocycles with oxazaphosphorinane ring-system oxazaphosphorinane ring-system-containing heterocycles

Compounds possessing an oxazaphosphorinane ring system are very important pharmacological building blocks of matrix metalloproteinase-inhibitors and alkylating anticancer drugs. Because of their fundamental importance (bioactive and synthetic), we set out to elucidate the effects of various substituents on the ring nitrogen and phosphorus atoms, *cis-trans* isomerism and the phosphorus stereochemistry on the fragmentations of the diastereomeric pairs under 70 eV ionization for a few saturated 3,1,2-benzoxazaphosphinine-2-oxides (**1–14**), their nitrogen analogue 1,3,2-benzodiazaphosphinine-2-oxides (**15–31**) and various condensed 1,3,4,2-oxadiazaphosphinine derivatives (**32–39**).

Neither the *cis-trans* isomerism nor the relative configuration of P atom didn't influence the intensity of molecular ions (M^+) The size of the substituents R^1 and R^2 influenced in higher degree the intensity of molecular ions. For 3,1,2-benzoxazaphosphinine-2-oxides (**1–14**) and for 1,3,2-benzodiazaphosphinine-2-oxides (**15–31**), the increasing size of substituent R^2 on the ring nitrogen atom destabilized the corresponding molecular ions. Many of the fragmentations could be rationalized to start as a simple α -cleavage with respect to the ring nitrogen atom. During this, bond cleavage occurred between C(8) and C(8a) with H-transfer to C(4a) and resulted the ejections of different carbohydrogen radicals. Most of the carbohydrogen lost were remarkable for the *N*-unsubstituted

egyetemi tanárnak és Prof. Dr. Kalevi Pihlajanak, a munka során nyújtott támogatásukért, értékes tanácsaikért.

Hivatkozások

1. Kivelä, H.; Zalán, Z.; Tahtinen, P.; Sillanpää, R.; Fülöp, F.; Pihlaja, K. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 1189–1200.
2. Zalán, Z.; Kivelä, H.; Lázár, L.; Fülöp, F.; Pihlaja, K. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2145–2159.
3. Martinek, T. A.; Szolnoki, É.; Zalán, Z.; Fülöp, F. *Arkivoc* **2007**, (v), 202–209.
4. Zalán, Z.; Martinek, T. A.; Lázár, L.; Sillanpää, R.; Fülöp, F. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 2883–2891.
5. Juhász, M.; Martiskainen, O.; Zalán, Z.; Fülöp, F.; Pihlaja, K. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2006**, *20*, 433–437.
6. Martiskainen, O.; Juhász, M.; Zalán, Z.; Fülöp, F.; Pihlaja, K. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2006**, *20*, 1621–1627.
7. Juhász, M.; Zalán, Z.; Fülöp, F.; Pihlaja, K. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2006**, *20*, 3595–3604.
8. Juhász, M.; Lázár, L.; Fülöp, F. *J. Heterocycl. Chem.* **2007**, *44*, 1465–1473.
9. Juhász, M.; Fülöp, F.; Pihlaja, K. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2007**, *21*, 3701–3710.
10. Pihlaja, K.; Juhász, M.; Kivelä, H.; Fülöp, F. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2008**, *22*, 1510–1518.

3,1,2-benzoxazaphosphinine- and 1,3,2-benzodiazaphosphinine-2-oxides while less number carbohydrogen-lost with lower intensity were typical for the *N*-methyl substituted ones. The only remarkable fragment ion was $C_7H_7^+$ (m/z 91) for *N*-benzyl substituted 3,1,2-*O,P,N* derivatives which also gave the base peak, in many case; $C_7H_{11}^+$ lost was a further remarkable process. The benzyl group as an electronwithdrawing substituent increases the electrophilic activity of nitrogen atom and decreases the direct α -cleavage reactions. For the $N(CH_2CH_2Cl)_2$ substituted compounds bond-cleavages between P and the exocyclic substituent is marked. The most common process was the $C_3H_7^+$ lost as a conjugated-stabilized fragment ion and also $[M-C_4H_9]^+$.

The increased aromatic property for compounds **37,38,39** lead to the less intensive H⁺-loss; also the ejections of fragment ions with odd-electron were not frequents, which ensured the higher stability of the M^+ except for the $N(CH_2CH_2Cl)_2$ derivatives. The aromatic ring condensed 1,3,4,2-oxadiazaphosphinine derivatives, the fragmentation route could initiate not only from the bridgehead *N*-atom but also from the aromatic part (Scheme 4). In the most cases, the *trans* isomers produced more stable fragment ions (and molecular ion) than the *cis* isomers. The spectra of the stereoisomer pairs were rather different and based on the peak intensity of a few fragment ions, it was also possible to differentiate the *P*-epimers.