

О. М. Лаврова, А. З. Мухарльямова, А. Г. Мухамметшина,
А. М. Сайфутдинов

КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРУКТУРЫ ПСЕВДОМОЛЕКУЛЯРНОГО ИОНА

[M+H]⁺ Т-2 ТОКСИНА

Ключевые слова: Т-2 токсин, квантово-химические расчеты, масс-спектрометрия.

Микотоксины – вторичные метаболиты микроскопических плесневых грибов. Одним из важных семейств микотоксинов, с точки зрения мониторинга их содержания в кормах и продовольственном сырье, являются трихотецины. Масс-спектрометрические методики качественного и количественного определения микотоксинов являются наиболее чувствительными и позволяют охватить широкий круг аналитов. Однако при разработке таких методик исследователи мало внимания уделяют изучению структурных особенностей ионизации и фрагментации молекул микотоксинов. Эти знания могут в дальнейшем помочь в усовершенствовании новых создаваемых методик. На примере Т-2 токсина, одного из наиболее токсичных и часто выявляемых представителей трихотеценов, проведены модельные теоретические исследования некоторых процессов происходящих в масс-спектрометре. Квантово-химически, в рамках теории функционала плотности (PBE/def2-TZVP) рассмотрены закономерности изменения геометрии при протонировании различных донорных центров молекулы Т-2 токсина. Всего рассмотрено 10 центров протонирования, для понимания структуры псевдомолекулярного иона [M+H]⁺, образующегося в источнике электрораспылительной ионизации масс-спектрометра. Наиболее энергетически выгодным направлением протонирования стало взаимодействие иона водорода со свободной спиртовой группой молекулы. При этом также происходит взаимодействие иона водорода с карбонильным кислородом соседней ацетильной группы. Полученные результаты, также способные объяснить некоторые направления фрагментации псевдомолекулярного иона в масс-спектрометре, которые хорошо согласуются с литературными данными. По итогам оптимизации геометрии наиболее энергетически выгодной геометрии иона [M+H]⁺ происходит удлинение C-O связи спиртовой группы, которая может приводить к отщеплению молекулы воды и сложноэфирной C-O связи изовалерильного заместителя.

О. М. Lavrova, А. З. Mukharlyamova, А. Г. Mukhammetshina,
А. М. Saifutdinov

QUANTUM CHEMICAL MODELING OF THE STRUCTURE OF THE PSEUDOMOLECULAR ION [M+H]⁺

T-2 TOXIN

Keywords: T-2 toxin, quantum chemical calculations, mass spectrometry.

Mycotoxins are secondary metabolites of microscopic molds. One of the important families of mycotoxins, from the point of view of monitoring their content in feed and food raw materials, are trichothecins. Mass spectrometric methods for the qualitative and quantitative determination of mycotoxins are the most sensitive and make it possible to cover a wide range of analytes. However, when developing such techniques, researchers pay little attention to studying the structural features of ionization and fragmentation of mycotoxin molecules. This knowledge can further help in the improvement of new techniques being created. Using the example of T-2 toxin, one of the most toxic and frequently detected representatives of trichothecenes, model theoretical studies of some processes occurring in a mass spectrometer have been conducted. Quantum-chemically, within the framework of the density functional theory (PBE/def2-TZVP), the patterns of geometry changes during protonation of various donor centers of the T-2 toxin molecule are considered. In total, 10 protonation centers were considered, necessary to understand the structure of the pseudomolecular ion [M+H]⁺ formed in the electrospray ionization source of the mass spectrometer. The most energetically advantageous direction of protonation was the interaction of the hydrogen ion with the free alcohol group of the molecule. In this case, the hydrogen ion also interacts with the carbonyl oxygen of the neighboring acetyl group. The results obtained can also explain some directions of pseudomolecular ion fragmentation in the mass spectrometer, which are in good agreement with the literature data. As a result of optimization of the geometry of the most energetically favorable geometry of the [M+H]⁺ ion, the C-O bond of the alcohol group is elongated, which can lead to the cleavage of the water molecule and the ester C-O bonds of the isovaleryl substituent.

Введение

Т-2 токсин (структурная формула показана на рис. 1) относится к семейству трихотеценовых микотоксинов, основным продуцентом которых являются грибы рода *Fusarium*. Молекулярная структура трихотеценов базируется на системе трех конденсированных колец, первые два из которых шестичленные, третье кольцо пятичленное, кроме того неотъемлемым элементом их структуры является эпоксидный цикл (обозначение циклов и

нумерация атомов в трихотеценовом ядре показана на рисунке) [1, 2].

Структура трихотеценового ядра достаточно жесткая и относительно устойчивая. Эти соединения не замещаются, не гидроксилируются и не этерифицируются. Даже при кипячении в воде Т-2 токсин и родственные ему соединения достаточно ограниченно разлагаются.

В цикле А обязательным элементом является C=C связь. При появлении в нем кетогруппы в 8 положении классифицирует трихотецины по типу В.

Появление эпоксидного цикла, конденсированного к 7 и 8 углеродным атомам, классифицирует трихотецины по типу С. У трихотецинов типа А в 8 положении довольно распространено наличие спиртовой группы, однако не обязательно (в том числе наличие любых других заместителей в данном положении). Существуют также макроциклические трихотецины (тип D), в которых дикарбоновая кислота образует большой цикл за счет образования сложноэфирных связей с гидроксильными группами в 4 и 15 положениях [3].

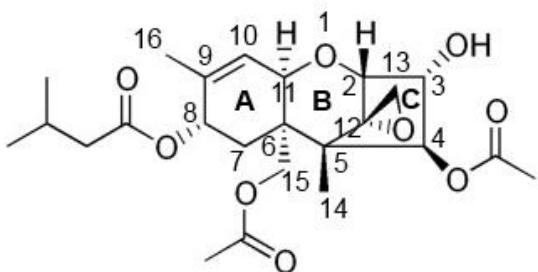


Рис. 1 – Структурная формула Т-2 токсина

Fig. 1 – The structural formula of T-2 toxin

Т-2 токсин относится к трихотецинам типа А. Заместителями трихотецинового ядра в нем являются гидроксильная (-ОН) группа в положении 3, две ацетилоксигруппы (-ОСОCH₃) в положениях 4 и 15, а в положении 8 сложноэфирная изовалерильная [-ОСОCH₂CH(CH₃)₂] группа. Чистый Т-2 токсин представляет собой порошок белого цвета, не растворимый в воде и гексане, хорошо растворимый в бензоле, ацетоне, этилацетате и спиртах. Бруттоформула: C₂₄H₃₄O₉. Молярная масса: 466,5414 г/моль. Температура плавления: 150–151 °C [4, 5].

Среди различных аналитических методов, используемых для мониторинга Т-2 токсина в кормах (что обусловлено его высокой токсичностью) и продовольственном сырье наиболее селективной и чувствительной является высокоэффективная жидкостная хроматография с массспектрометрической детекцией (ВЭЖХ-МС). Кроме того, данный метод при необходимости позволяет за один анализ выявлять широкий перечень других микотоксинов [6-8].

Наиболее широко и часто применяемым режимом работы ВЭЖХ-МС является электрораспылительная ионизация с регистрацией положительных ионов. Образующиеся в этом случае молекулярные ионы обычно являются результатом протонирования (обозначаются как [M+H]⁺). Понимание механизма ионизации молекулы Т-2 токсина при электрораспылении и структура образующихся ионов может помочь при разработке новых массспектрометрических методик. По этой причине целью работы являлось моделирование структуры [M+H]⁺-катионов методом функционала плотности.

Экспериментальная часть

Квантово-химические расчеты проводили в программном пакете Orca версии 5.0.2 [9, 10] в рамках

теории функционала плотности. Оптимизация геометрии в вакууме выполнялась с использованием обменно-кореляционного функционала Пердью-Бурке-Эрнцерхофа (PBE) [11]. Для описания электронных оболочек применяли базисный набор def2-TZVP [12]. Для ускорения вычислений применялся метод RI (resolution of identity) [13], в рамках которого использовался расширенный базисный набор def2/J [14]. Проверку стабильности полученной оптимизированной геометрии осуществляли по наличию мнимой колебательной частоты.

Выбор уровня теории, в рамках которого проводились вычисления обусловлен тем, что PBE наилучшим образом удовлетворяет многим физическим и математическим требованиям теории функционала плотности. В частности, обеспечивает правильный линейный отклик однородного электронного газа с надлежащим равномерным масштабированием [15] и приводит к сглаживанию псевдопотенциалов [11].

Применение базисного набора Карлсруэ вместе с функционалом Пердью-Бурке-Эрнцерхофа также позволяет снизить машиночасы затрачиваемые на моделирование.

Результаты и их обсуждение

Протонирование молекулы Т-2 токсина будет проходить по электронодонорным центрам, которыми могут являться неподеленные электронные пары атомов кислорода или π-области кратной углерод-углеродной связи. Итого для моделирования было намечено 10 возможных центров взаимодействия, показанных на схеме рис. 2. Для удобства работы введены их условные обозначения от H1 до H10.

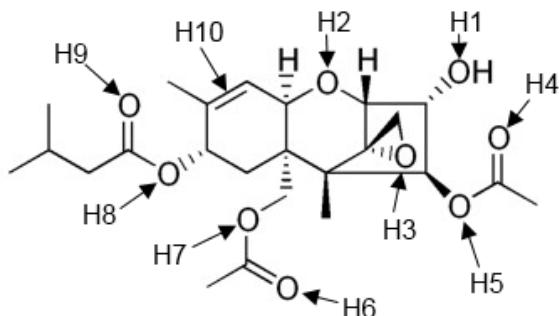


Рис. 2 – Возможные направления протонирования молекулы Т-2 токсина при образовании псевдомолекулярного иона [M+H]⁺

Fig. 2 – Possible directions of protonation of the T-2 toxin molecule during the formation of a pseudomolecular ion [M+H]⁺

В наиболее простом приближении в масс-спектре будет наблюдаться ион [M+H]⁺ структура которого будет наиболее энергетически выгодной из всех возможных. Результаты оптимизации геометрии, с комментариями по изменениям в центрах протонирования и указанием величин рассчитанной энергии для конечных структур приведены в таблице 1. Переходим к их более подробному рассмотрению и поиску возможных закономерностей.

После оптимизации геометрии возможных структур псевдомолекулярного иона только в четырех случаях протон остался неизменно связанным с изначальным центром протонирования (см. таблицу 1), остальные элементы молекулярной структуры при этом сопровождались некоторыми изменениями в длинах связей и углов, направленными на понижение энергии системы. В других случаях произошли либо изменения в структуре тех групп, на которые происходило присоединение протона (как в случае с C=C

связью, или с эпоксидным фрагментом), либо ориентация дополнительного электронодонорного центра (атом кислорода) к протону.

Наиболее энергетически выгодной оказалась оптимизированная геометрия структуры протонированной в направлении H1, показанная на рис. 3. Протон, изначально ориентированный на атом кислорода свободной спиртовой группы скоординировал на себя также карбонильный кислород соседнего ацетатного заместителя.

Таблица 1 – Результаты оптимизации геометрии иона $[M+H]^+$

Table 1 – Results of optimization of ion geometry $[M+H]^+$

Направление протонирования стартовой геометрии	Результаты оптимизации геометрии	Энергия оптимизированной-системы, Хартри
H1	стабилизация протона между направлениями H1 и H4	-1611,07113
H2	оптимизированная геометрия с сохранением протонирования по направлению H2	-1611,06223
H3	оптимизированная геометрия с сохранением протонирования по направлению H3, но раскрытием эпоксидного цикла	-1611,07006
H4	оптимизированная геометрия с сохранением протонирования по направлению H4	-1611,05445
H5	стабилизация протона между направлениями H3 и H5	-1611,03398
H6	оптимизированная геометрия с сохранением протонирования по направлению H6	-1611,06507
H7	оптимизированная геометрия с сохранением протонирования по направлению H7	-1611,02768
H8	оптимизированная геометрия с сохранением протонирования по направлению H8	-1611,05683
H9	стабилизация протона между направлениями H9 и H6	-1611,05307
H10	присоединение протона по правилу Марковнико娃 к C ₁₀	-1611,05974

Менее энергетически выгодным вариантом (на условном втором месте) оказалось протонирование молекулы T-2 по атому кислорода эпоксидного цикла (в направлении H3). Оптимизация геометрии привела к разрыву связи C-O и изменению конфигурации циклов B и C (см. рис. 4). Также произошло образование катионного центра на атоме углерода в цикле C. Следует отметить, что полученная геометрия должна быть достаточно реакционноспособна. Однако на практике T-2 токсин достаточно устойчив в слабокислой среде. Можно предположить, что рассматриваемое направление протонирования обладает какими-либо не учтенными кинетическими затруднениями, препятствующими его реализации. Как было упомянуто ранее, структура трихотеценов достаточно устойчива, в том числе за счет прочного эпоксидного фрагмента.

На условном третьем месте по энергии оказалась оптимизированная геометрия структуры H9. Как и в первом случае протон скоординировал на себя два атома кислорода: сложноэфирный мостиковый кислород изovalерильного остатка и карбонильный, расположенного недалеко ацетатного заместителя (см. рис. 5.). происходит дополнительное координирование карбонильного атома кислорода ацетатной

группы на протон, с образованием более стабильной структуры. Энергия этой структуры третья по стабильности.

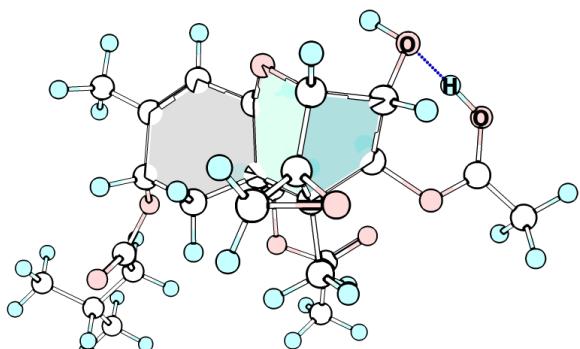


Рис. 3 – Оптимизированная геометрия иона $[M+H]^+$ протонированного в положении H1. Плоскости циклов закрашены. Подписаны атомы кислорода, по которым проходит присоединение протона (также подписан)

Fig. 3 – Optimized geometry of the $[M+H]^+$ protonated ion at the H1 position. The planes of the cycles are filled in. The oxygen atoms through which the proton is attached are signed (also signed)

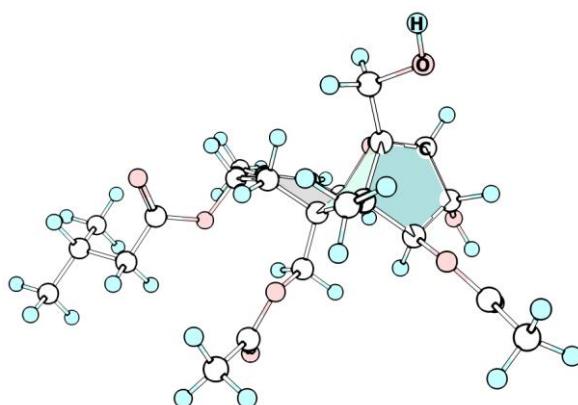


Рис. 4 – Оптимизированная геометрия иона $[M+H]^+$ протонированного в положении Н3. Плоскости циклов закрашены. Подписаны: присоединенный протон, атом кислорода эпоксидного кольца, к которому произошло присоединение, и атом углерода на который произошла миграция катионного центра

Fig. 4 – Optimized geometry of the $[M+H]^+$ protonated ion at the H3 position. The planes of the cycles are filled in. Signed: the attached proton, the oxygen atom of the epoxy ring to which the attachment took place, and the carbon atom to which the migration of the cationic center took place

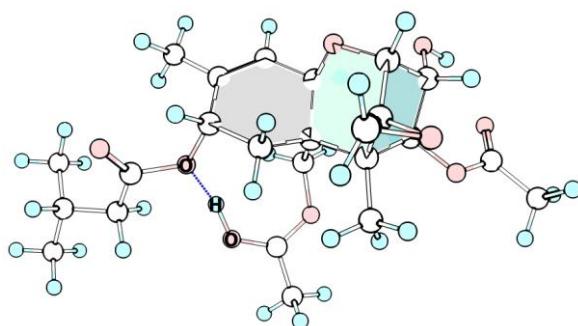


Рис. 5 – Оптимизированная геометрия иона $[M+H]^+$ протонированного в положении Н9. Плоскости циклов закрашены. Подписаны атомы кислорода, по которым проходит присоединение протона (также подписан)

Fig. 5 – Optimized geometry of the $[M+H]^+$ protonated ion at the H9 position. The planes of the cycles are filled in. The oxygen atoms through which the proton is attached are signed (also signed)

Протонирование C=C связи происходит в соответствии с правилом Марковника, сопровождаясь образованием карбокатионного центра на углероде C₉ и присоединением водорода к C₁₀. Данный вариант структуры $[M+H]^+$ находится на пятом месте по энергии.

В целом, менее энергетически выгодными оказались варианты протонирования атомов кислорода сложноэфирных связей (в тех случаях, когда не происходит взаимодействие протона сразу с двумя атомами кислорода, близкорасположенных заместителей, как было рассмотрено ранее). Как ожидалось, присоединение к карбонильным атомам кислорода (структуры H4, H6, H8), энергетически выгоднее чем

к мостиковым кислородным атомам (структуры H5, H7), которые привели к образованию наименее энергетически выгодных структур.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что наиболее вероятной формой иона $[M+H]^+$ при масс-спектрометрическом определении Т-2 токсина будет структура с протоном локализованном между кислородами гидроксильной группы (при 3-ем углеродном атоме) и карбонильным кислородом сложноэфирного ацетатного заместителя при атоме углерода C₄, как показано на рис. 3.

На следующем этапе исследования интерес представляло предсказание возможных направлений фрагментации молекулярного иона $[M+H]^+$. Фрагментация в масс-спектрометре происходит в специальном блоке, называемом ячейка столкновений. Там ионы сталкиваются с молекулами инертного газа (как правило аргон или азот) с заданной энергией и распадаются на осколки. Образующиеся фрагментные ионы с одной стороны служат как дополнительный критерий идентификации молекулы того или иного вещества, с другой стороны используются для количественных измерений в хромато-масс-спектрометрических исследованиях. В первом приближении фрагментацию можно рассматривать как разрыв тех ковалентных связей в ионе, которые удлинились при протонировании в сравнении с исходной молекулой. Были рассмотрены изменения длин связей в оптимизированной геометрии $[M+H]^+$ в конфигурации H1 в сравнении с оптимизированной геометрией молекулы Т-2 токсина. Установили, что длина связи С-O в положении C₃ и C₄ увеличилась на 0,03 Å (табл. 2).

Таблица 2 – Длина связей С-О в положении C₃ и C₄ в структуре Т-2 токсина

Table 2 – The length of the C-O bonds at the C₃ and C₄ positions in the T-2 structure of the toxin

Положение	длина связи в молекуле, Å	длина связи в молекулярном ионе, Å
C ₃ -OH	1,4108	1,4401
C ₄ -C ₂ H ₃ O ₂	1,4560	1,4823

Это позволяет предположить, отрыв гидроксильной группы из положения C₃ в виде молекулы воды и ацетатного остатка из положения C₄ в виде молекулы уксусной кислоты. Из литературных данных подобные направления фрагментации для Т-2 токсина известны [16].

Заключение

Квантово-химическое моделирование структуры псевдомолекулярного иона $[M+H]^+$ Т-2 токсина позволило установить наиболее эффективный центр протонирования молекулы и предсказать некоторые направления фрагментации. Полученные результаты могут послужить базисом для моделирования ионизации молекул Т-2 токсина при масс-спектрометрических исследованиях в случае образования других псевдомолекулярных ион-аддуктов.

Литература

1. Э. И. Семенов, Дисс. докт. вет. наук, Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э.Баумана, Казань, 2019. 342 с.
2. Э. Р. Рахметова, А. З. Мухарлямова, А. М. Сайфутдинов, Фицев И.М., Гармонов С.Ю., *Вестник Технологического университета*, **24**, 4, 14-17 (2021).
3. В. А. Тутельян, Л. В. Кравченко, М.: Медицина, 1985. 320 с.
4. А.В. Иванов, В.И.Фисинин, М.Я. Тремасов, К.Х. Папуниди, в сб. *Микотоксикозы (биологические и ветеринарные аспекты)*, Колос, Казань, 2010, С. 40-42.
5. M. Busman, S. M. Poling, C. M. Maragos *Toxins*, **3**, 12, 1554-1568 (2011). DOI: 10.3390/toxins3121554.
6. A. Visconti, V. M. T. Lattanzio, M. Pascale, M. Haidukowski, *J. of Chrom A.*, **1075**, 1-2, 151-158 (2005). DOI: 10.1016/j.chroma.2005.04.009.
7. Y. Li, Z. Wang, R. C. Beier, J. Shen, D. De Smet, S. De Saeger, S. Zhang, *J. Agric. Food Chem.*, **59**, 8, 3441–3453 (2011). DOI: 10.1021/jf200767q.
8. А. З. Мухарлямова, А. М. Сайфутдинов, Э. Р. Рахметова, А. Г. Мухамметшина, И. М. Фицев, *Бутлеровские сообщения*, **64**, 12, 113-119 (2020). DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/20-64-12-113.
9. F. Neese, *WIREs Comput Mol Sci*, **2**, 1, 73-78 (2012). DOI: 10.1002/wcms.81.
10. F. Neese, *WIREs Comput Mol Sci.*, **12**, 5, e1606 (2022). DOI: 10.1002/wcms.1606.
11. J.P. Perdew, K. Burke, M. Ernzerhof, *Phys. Rev. Lett.*, **77**, 18, 3865-3868 (1996). DOI: 10.1103/PhysRevLett.77.3865.
12. F. Weigend, R. Ahlrichs, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **7**, 18, 3297-3305 (2005). DOI: 10.1039/B508541A.
13. F. Neese, *J. Comput. Chem.*, **24**, 14, 1740-1747 (2003). DOI: 10.1002/jcc.10318.
14. F. Weigend, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **8**, 9, 1057-1065 (2006). DOI: 10.1039/B515623H.
15. M. Levy, *Int. J. Quantum Chem.*, **36**, 5, 617-619 (1989). DOI: 10.1002/qua.560360864.
16. G. Häubl, F. Berthiller, C. Hametner, J. Rechthaler, G. Jaunecker, M. Freudenschuss, R. Krska, R. Schuhmacher, *Anal Bioanal Chem.*, **389**, 3, 931-940 (2007). DOI: 10.1007/s00216-007-1493-7.

References

1. E. I. Semenov, Doctoral dissertation, Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman, Kazan, 2019. 342 p.
2. E. R. Rakhetova, A. Z. Mukharlyamova, A. M. Saifutdinov, Fitsev I.M., Garmonov S.Yu., *Herald of Technological University*, **24**, 4, 14-17 (2021).
3. V.A. Tutelyan, L.V. Kravchenko, Moscow: Medicine, 1985. 320 p.
4. A.V. Ivanov, V.I. Fisin, M.Ya. Tremasov, K.Kh. Papunidi, in the collection *Mycotoxicosis (biological and veterinary aspects)*, Kolos, Kazan, 2010, pp. 40-42.
5. M. Busman, S. M. Poling, C. M. Maragos *Toxins*, **3**, 12, 1554-1568 (2011). DOI: 10.3390/toxins3121554.
6. A. Visconti, V. M. T. Lattanzio, M. Pascale, M. Haidukowski, *J. of Chrom A.*, **1075**, 1-2, 151-158 (2005). DOI: 10.1016/j.chroma.2005.04.009.
7. Y. Li, Z. Wang, R. C. Beier, J. Shen, D. De Smet, S. De Saeger, S. Zhang, *J. Agric. Food Chem.*, **59**, 8, 3441–3453 (2011). DOI: 10.1021/jf200767q.
8. A. Z. Mukharlyamova, A. M. Saifutdinov, E. R. Rakhetova, A. G. Mukhammetshina, I. M. Fitsov, *Butlerov Communications*, **64**, 12, 113-119 (2020). DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/20-64-12-113.
9. F. Neese, *WIREs Comput Mol Sci*, **2**, 1, 73-78 (2012). DOI: 10.1002/wcms.81.
10. F. Neese, *WIREs Comput Mol Sci.*, **12**, 5, e1606 (2022). DOI: 10.1002/wcms.1606.
11. J.P. Perdew, K. Burke, M. Ernzerhof, *Phys. Rev. Lett.*, **77**, 18, 3865-3868 (1996). DOI: 10.1103/PhysRevLett.77.3865.
12. F. Weigend, R. Ahlrichs, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **7**, 18, 3297-3305 (2005). DOI: 10.1039/B508541A.
13. F. Neese, *J. Comput. Chem.*, **24**, 14, 1740-1747 (2003). DOI: 10.1002/jcc.10318.
14. F. Weigend, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **8**, 9, 1057-1065 (2006). DOI: 10.1039/B515623H.
15. M. Levy, *Int. J. Quantum Chem.*, **36**, 5, 617-619 (1989). DOI: 10.1002/qua.560360864.
16. G. Häubl, F. Berthiller, C. Hametner, J. Rechthaler, G. Jaunecker, M. Freudenschuss, R. Krska, R. Schuhmacher, *Anal Bioanal Chem.*, **389**, 3, 931-940 (2007). DOI: 10.1007/s00216-007-1493-7.

© О. М. Лаврова – к.х.н., ведущий научный сотрудник лаборатории Физико-химического анализа (ФХА), Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности (ФЦТРБ-ВНИВИ), Казань, Россия, lavrovaom@yandex.ru; А. З. Мухарлямова – научный сотрудник лаборатории ФХА, ФЦТРБ-ВНИВИ; А. Г. Мухамметшина – младший научный сотрудник лаборатории ФХА, ФЦТРБ-ВНИВИ; А. М. Сайфутдинов – к.х.н., ведущий научный сотрудник лаборатории ФХА, ФЦТРБ-ВНИВИ.

© O. M. Lavrova – PhD (Chemical Sci.), Leading Researcher of the Laboratory of Physical-Chemical Analysis (PCA), Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety (FCTRBS), Kazan Russia, lavrovaom@yandex.ru; A. Z. Mukharlyamova – Researcher of the PCA Laboratory, FCTRBS; A. G. Mukhammetshina – Junior Researcher of the PCA Laboratory, FCTRBS; A. M. Saifutdinov – Leading Researcher of the PCA Laboratory, FCTRBS.

Дата поступления рукописи в редакцию – 14.04.25.
Дата принятия рукописи в печать – 16.06.25.