

*40 anni di EFLC-MS e FI-MS:
state dell'arte, novità, innovazione e strumentazione*

**Università degli Studi di Milano
Via Festa del Perdono, 7
Milano**

12 dicembre 2014

COMPORTAMENTO INATTESO DELLA MELATONINA E DI SUOI ANALOGHI COME MOLECOLE PROTONATE IN ESI: STUDIO SPETTROSCOPICO E CONSEGUENZE ANALITICHE

Federico Maria Rubino, Jacopo Antognetti, Giuseppe Campisi, Jessica Rizzo, Marcello Iriti*, Rita Paroni

Università degli Studi di Milano, Dip. di Scienze della Salute e *Dip. di Scienze Agrarie e Ambientali - Produzione, Territorio, Agroenergia,

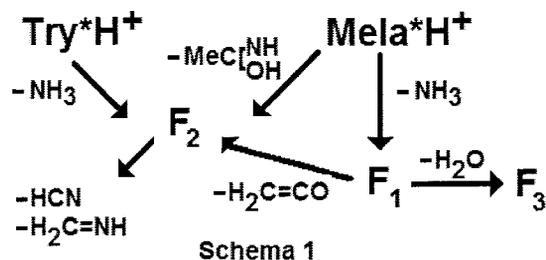
La melatonina (*N*-acetil-5-metossi-triptamina) è una molecola di crescente interesse neurofarmacologico e nutraceutico, per la pluralità dei ruoli biologici e della sua presenza in cibi e bevande. Nella messa a punto di un metodo analitico mediante spettrometria di massa - diluizione isotopica con un analogo tri-deuterato, sono emerse incongruenze non interpretabili alla luce delle informazioni spettroscopiche pubblicate. Dallo studio è emersa una complessità inattesa nella frammentazione, che spiega le incongruenze nel comportamento analitico.

La caratterizzazione per spettroscopia collisionale di analoghi della triptamina, della melatonina e di una forma deuterata della melatonina è stata condotta su uno spettrometro Sciex 3200-LTQ operando in ESI(+) sia nel modo MS2, sia nel modo LTQ-MS3.

La forma **7a** della melatonina ha mostrato, in soluzione nella miscela di infusione ESI, la perdita rapida di due dei tre atomi di deuterio.

X = NH ₂ R	MW	X = NH Ac R	MW
1 H	160	5 H	202
2 F	178		
3 OH	176	6 OH	218
		7 OMe	232
4 OMe	190	7a OMe, 2,4,6-D ₃	235

La decomposizione di MH⁺ degli analoghi della melatonina (**5-7a**) produce la perdita di acetammide (-59u) (frammento **F2**) o di ammoniacca (frammento **F1**) (Schema 1).



Entrambi i processi non sono riconducibili alla connettività molecolare della melatonina, e di conseguenza indicano l'esistenza di forme estesamente riarrangiate dello ione MH⁺. La frammentazione di **F1**, studiata mediante MS3, dà luogo alla perdita di 42u (chetene, H₂C=C=O caratteristico dei metil-chetoni aromatici), che suggerisce il trasferimento dell'unità acetilica dall'atomo di azoto al nucleo aromatico dell'indolo, con liberazione del gruppo amminico e riarrangiamento di uno o più atomi di deuterio. La perdita di H₂O da **F1** suggerisce che il meccanismo comporti l'attacco nucleofilo dell'anello indolico sul gruppo carbonilico acetamidico.

La transizione MH⁺ → [MH-59]⁺ (**F2**) nell'analogo deuterato della melatonina **7a** rivela la perdita di una forma dell'acetammide che ritiene uno degli atomi di deuterio presenti nell'anello eteroaromatico (MH⁺ → [MH-60]⁺).

La transizione MH⁺ → [MH-59]⁺ (**F2**) nell'analogo deuterato della melatonina **7a** rivela la perdita di una forma dell'acetammide che ritiene uno degli atomi di deuterio presenti nell'anello eteroaromatico (MH⁺ → [MH-60]⁺).

I comportamenti spettroscopici osservati giustificano i risultati aberranti ottenuti nella messa a punto del metodo analitico, determinano la necessità di scegliere un'altra forma deuterata come standard interno per la misura quantitativa e ne guidano la scelta sulla base della frammentazione. Questo studio mostra che reazioni inattese di decomposizione possono rendere non utilizzabili forme isotopiche in cui la marcatura è collocata in posizioni apparentemente stabili ma soggette a scambio sia in soluzione sia durante la frammentazione.