

Das Verfahren der Direktoxydation von Äthylen hat bei Unternehmen der chemischen Großindustrie, die an Acetaldehyd interessiert sind, großen Widerhall gefunden. Es kann wohl schon heute ohne Übertreibung gesagt werden, daß sich die Direktoxydation nicht nur gegenüber den Acetylen-Verfahren durchsetzt, sondern auch mehr und mehr gegenüber den konventionellen Äthylen-Verfahren. Und das vor allem wegen der gün-

stigen Ausbeuten, des niedrigen Energiebedarfs und des verhältnismäßig niedrigen Investitionsaufwands. Zur Zeit sind Anlagen in aller Welt im Bau.

Auch für die technische Oxydation der nächsthöheren Olefine wird man sich in der Zukunft die Komplexreaktion mit PdCl_2 mehr und mehr zunutze machen.

Eingegangen am 20. November 1961 [A 174]

Die Anwendung der Massenspektrometrie in der organischen Chemie, insbesondere zur Strukturaufklärung von Naturstoffen

VON PROF. DR. K. BIEMANN

DEPARTMENT OF CHEMISTRY, MASSACHUSETTS INSTITUTE OF TECHNOLOGY
CAMBRIDGE, MASS., USA

Die Massenspektrometrie ist für die Bestimmung der Struktur organischer Verbindungen sehr brauchbar. Bei äußerst geringem Substanzbedarf erhält man Informationen über die Molekülgröße und die Anordnung der Atomgruppen im Molekül. Eine gewisse Flüchtigkeit der Substanz ist Vorbedingung. Die in der Ionenquelle stattfindenden Zerfallsreaktionen können im allgemeinen als solche von „Carbonium-Ionen ohne Lösungsmittel“ angesehen werden. An Hand von Beispielen wird die Anwendung zur Strukturaufklärung von Naturstoffen, wie Lipoiden, Aminosäuren, Peptiden und Alkaloiden erläutert.

1. Einleitung

Die Massenspektrometrie ist als eine physikalische Methode bekannt, welche zur Bestimmung von stabilen Isotopen, zur Analyse von Gasen, zur Bestimmung von Atom- und Molekulargewichten und in der Petroleumindustrie zur Routineanalyse von komplexen Kohlenwasserstoff-Gemischen benutzt wird. Obwohl instrumentelle Verfahren, wie die Ultraviolett-, Infrarot- und in neuerer Zeit auch die Kernresonanzspektrometrie, sich in der organischen Chemie einen nicht mehr wegzudenkenden Platz errungen haben, ist die Massenspektrometrie erst seit kurzem eingehender zur Lösung organisch-chemischer Probleme, wie der Identifizierung und Strukturaufklärung organischer Verbindungen, herangezogen worden. Da die Schlüsse, die sich aus einer eingehenden Interpretation eines Massenspektrums ziehen lassen, von ganz anderer Art sind als die Informationen, die aus den genannten Absorptionsspektren erhalten werden, ist die neue Methode eine wesentliche Bereicherung der Hilfsmittel, die dem Organiker heute zur Verfügung stehen. So kann beispielsweise die Verknüpfung einzelner Atomgruppen im Molekül, die Größe und Struktur von Seitenketten, die Anwesenheit und oft auch Zahl von Heteroatomen sowie in den meisten Fällen das genaue Molekulargewicht aus dem Spektrum herausgelesen werden. Die sehr geringe Substanzmenge (Bruchteil eines Milligrammes oder, wenn nötig, einige Mikrogramme), welche zur Aufnahme eines Spektrums benötigt wird, ist sicherlich ein

großer Vorteil, besonders für den Naturstoffchemiker. Nachteilig ist, daß die Substanz einen gewissen Dampfdruck besitzen muß; daher kommt manchmal der Auswahl eines geeigneten Derivates besondere Bedeutung zu.

2. Prinzip und Arbeitsweise

Die Grundlagen der Funktion eines Massenspektrometers dürfen als bekannt vorausgesetzt werden, zumal hierüber einige ausgezeichnete Monographien [1–3] zur Verfügung stehen. Dagegen sollen einige spezielle Probleme, die mit der Handhabung flüssiger oder fester organischer Substanzen verbunden sind, kurz diskutiert werden.

Im Massenspektrum sind die Häufigkeiten der von der Substanz unter Elektronenbeschuß gebildeten Molekül- und Fragment-Ionen nach ansteigender Masse aufgezeichnet (Abb. 1). Zur Erzeugung dieser Ionen muß die Substanz in der sog. Ionenquelle als Dampf unter einem Druck von ca. 10^{-6} Torr anwesend sein; dieser Druck muß auch während der Aufnahme des Spektrums konstant gehalten werden, um reproduzier-

[1] H. Ewald u. H. Hintenberger: Methoden und Anwendungen der Massenspektroskopie, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. 1953.

[2] L. Jenckel u. E. Dörnenburg, in E. Müller (Herausg.): Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl), Band III, Teil 1, S. 693–752, Thieme, Stuttgart 1955.

[3] J. H. Beynon: Mass Spectrometry and its Use in Organic Chemistry, Elsevier Publishing Co., Amsterdam 1960, D. van Nostrand Co. Inc., Princeton, N.J., 1960.

bare Resultate zu erhalten, da die Häufigkeit der gebildeten Ionen der Konzentration der Substanz in der Ionenquelle direkt proportional ist. Dies läßt sich am einfachsten dadurch erreichen, daß die Substanz in einen Vorratsbehälter unter einem Druck von ca. 10^{-2} Torr gehalten wird und von dort aus durch eine kleine Düse direkt in die Ionenquelle strömt. Der Druckabfall im Vorratsbehälter während der Zeit, die zur Aufnahme des Spektrums benötigt wird (5–20 min), kann daher vernachlässigt werden.

tes abhängig, sondern wird durch die experimentelle Schwierigkeit der Handhabung solch kleiner Mengen gegeben, da hier die unvermeidliche Anreicherung von Verunreinigungen in den Lösungsmitteln, durch Spuren von Hahnfett usw. oft sehr hinderlich ist.

Im Gegensatz zu jenen Methoden, die auf Strahlungsabsorption beruhen, können stark verdünnte Lösungen nicht einfach durch Verwendung größerer Volumina untersucht werden, da im Falle der Massenspektrometrie der totalen Substanzmenge auch eine obere Grenze

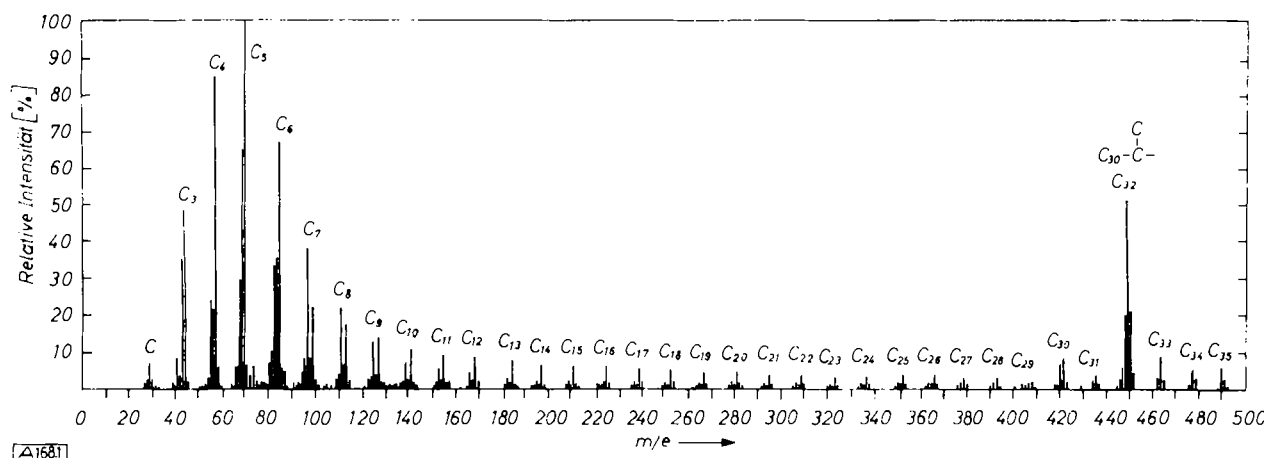


Abb. 1. Massenspektrum von Phthioceran (3-Methyl-tetratriacontan); nach Ryhage et al. [40 b]

Die Anforderungen, die an den Dampfdruck der Probe gestellt werden müssen, sind durch das oben Gesagte gegeben: Die Substanz soll einen Dampfdruck von mindestens 10^{-2} Torr bei der Temperatur des Reservoirs besitzen. Für größere organische Moleküle muß das Reservoir mit den dazugehörigen Ventilen (der sog. Einlaßteil) auf erhöhter Temperatur gehalten werden. Während man in der Erdöl-Industrie zur Analyse von hochmolekularen Kohlenwasserstoffen oft bis 350°C geht, läßt die Temperaturempfindlichkeit komplizierter organischer Verbindungen so hohe Temperaturen oft nicht zu; 150 bis 250°C ist wohl der optimale Temperaturbereich.

Die Flüchtigkeit der Substanz ist natürlich nicht nur für die Einführung der Probe, sondern auch für ihr völliges Abpumpen nach Aufnahme des Spektrums von Wichtigkeit, da verbleibende Reste zum nächsten Spektrum beitragen würden.

Die erforderliche Substanzmenge hängt von der Größe des Vorratsbehälters und von der gewünschten Intensität des Spektrums ab. Letztere ist völlig ausreichend, wenn der Substanzdruck im Einlaßteil 1 bis $2 \cdot 10^{-2}$ Torr beträgt, wozu bei dem üblichen Totalvolumen von ca. 3 l im oben erwähnten Temperaturbereich ungefähr 1 bis 2 Mikromole erforderlich sind, d. h. einige Zehntel Milligramme. Falls jedoch nicht soviel Substanz zur Verfügung stehen sollte, kann man ein kleineres Volumen benutzen und erhält doch ein Spektrum gleicher Intensität. Der Druckabfall fällt zwar bei der Verwendung eines Reservoirs von z. B. 300 ml, welches dann zehnmal weniger Material benötigt, etwas mehr ins Gewicht, kann aber für qualitative Zwecke vernachlässigt werden. Praktisch ist die untere Grenze der Substanzmenge oft nicht von der Empfindlichkeit des Instrumen-

gesetzt ist. Reservoir-Drucke von mehr als 1 Torr führen in der Ionenquelle zu so hohen Drucken, daß diese nicht mehr normal funktioniert; darüber hinaus ist das Spektrum im Massenbereich des Lösungsmittels unbrauchbar, da dessen Beitrag nicht automatisch kompensiert werden kann. Im Falle verdünnter Lösungen muß daher das Lösungsmittel vorher wenigstens größtenteils entfernt werden.

Die Einführung der Substanz in das Instrument ist im allgemeinen recht einfach, besonders wenn es sich um eine Einzelsubstanz handelt. Bei Gemischen muß man die Möglichkeit einer selektiven Fraktionierung, die zum Verlust von Komponenten führen könnte, beachten. Gase werden direkt in das evakuierte Reservoir expandiert. Flüssigkeiten werden mittels einer Mikropipette durch eine im Einlaßteil angebrachte Glasfritte gesaugt, die zur Vermeidung des Eindringens von Luft mit Gallium bedeckt ist. Einfacher und sauberer ist es jedoch, die Flüssigkeit in eine abgeschnittene Injektionsnadel aufzusaugen und diese nach Verschließen des einen Endes durch ein hitzebeständiges Diaphragma aus Silicongummi im Einlaßteil zu stechen. Die Probe verdampft hierauf sofort. Feste Substanzen werden direkt in das Reservoir sublimiert, z. B. aus einem von außen heizbaren Glasrohr, das mittels Teflon®-Dichtung an den Einlaßteil angeschlossen wird.

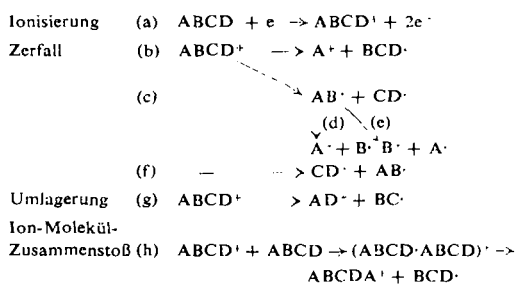
Die obere Grenze der Molekülgröße ist durch den Massenbereich des Instrumentes gegeben, der im allgemeinen bei 700–800 liegt. Selten haben Moleküle dieser Größe den erforderlichen Dampfdruck, außer wenn es sich um polyhalogenierte Verbindungen handelt. Der Massenbereich stellt daher für die Praxis kaum eine Begrenzung dar, zumal er, wenn nötig, durch ein stärkeres Magnetfeld ausgedehnt werden kann.

Da es für die Interpretation außerordentlich wichtig ist, daß die Masse des Moleküles und aller Bruchstücke bis auf eine Masseneinheit abgelesen werden kann, muß das Auflösungsvermögen des Instrumentes recht gut sein. Praktisch heißt das, daß im Massenbereich 350 bis 400 zwei Partikel, deren Masse um eine Einheit verschieden ist, gerade noch völlig getrennte, benachbarte Peaks ergeben, da dann z. B. Masse 700 und 701 noch deutlich als Dublett erkannt werden können.

Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß sehr schwerflüchtige Verbindungen immer noch brauchbare Spektren ergeben, wenn sie direkt in die Ionenquelle anstatt in das Reservoir verdampft werden, da der benötigte Dampfdruck in der Ionenquelle um einige Größenordnungen niedriger liegt. Dieses Verfahren erfordert jedoch entweder zeitraubendes Lüften der Ionenquelle oder eine spezielle Vakuumschleuse.

3. Verhalten organischer Moleküle im Massenspektrometer

Die physikalisch-chemischen Vorgänge, die sich beim Zusammenstoß von Elektronen mit vielatomigen Molekülen abspielen, sind naturgemäß sehr mannigfaltig und immer noch weitgehend unaufgeklärt. Der Zerfall der primär durch Verlust eines Elektrons gebildeten Molekülionen weist jedoch viele Ähnlichkeiten mit den Reaktionen von Carbonium-Ionen in der organischen



Schema 1

Chemie auf. In Schema 1 sind die prinzipiellen Reaktionsmöglichkeiten, die sich für das hypothetische Molekül ABCD ergeben, kurz angedeutet. Wird ein Molekül mit Elektronen beschossen, deren Energie mindestens seinem Ionisierungspotential entspricht, so bildet sich unter Verlust eines Valenzelektrons ein positives Molekülion. Bleibt dieses lange genug ($< 10^{-4}$ sec) intakt, um im elektrischen Feld beschleunigt und im magnetischen zum Aufgangsschlitz abgelenkt zu werden, so wird es bei der dem Molekulargewicht entsprechenden Masse registriert. Das Ionisierungspotential organischer Verbindungen liegt im allgemeinen zwischen 7 und 15 eV (z. B. 9,24 eV für Benzol, 13,1 eV für Methan). Energiereichere Elektronen können mehr Energie auf das Molekül übertragen, so daß dieses durch Sprengung einer oder mehrerer Bindungen in Bruchstücke, manchmal in mehreren Stufen, zerfallen kann. Die Zahl der Zerfallsreaktionen vom Typ (b) bis (g) sind für ein organisches Molekül durchschnittlicher Größe natürlich sehr

zahlreich; infolgedessen weisen die Massenspektren eine sehr große Anzahl von Peaks auf. Solche Spektren sind daher gut zum Identitätsbeweis von Verbindungen geeignet.

Für die Interpretation könnte der Linienreichtum auf den ersten Blick als nachteilig erscheinen. Hier gewinnt die Beurteilung der Intensität der Peaks große Bedeutung, da diese mit der Bildungswahrscheinlichkeit der einzelnen Fragmente zusammenhängt. Diese hängt wieder vom Energiebedarf der Zerfallsreaktion ab, so daß sich wertvolle Schlüsse bezüglich der Struktur des Fragments ziehen lassen, wie noch gezeigt werden wird. Für eine solche Interpretation eines Massenspektrums wäre es daher nur nötig, die Struktur einer gewissen Zahl von Fragmenten abzuleiten, die dann zu einer einzigen Struktur für das Molekül zusammengefügt werden können. In einfachen Fällen läßt sich das auch verifizieren. Das Auftreten von Bruchstücken der Massen 15 (CH_3), 29 (C_2H_5), 31 (CH_3OH), 45 (C_2H_5O) und 46 (C_2H_6O) führt direkt zum Schlusse, daß es sich um Äthylalkohol handelt, obwohl noch viele weitere Massen zwischen 12 und 48 anwesend sind. Deren Intensität ist jedoch meist wesentlich geringer, da diese Partikel entweder durch Sprengung von mehr als einer Bindung entstehen (ein weniger bevorzugter Vorgang) oder aber schwere Isotope enthalten.

In den Spektren vieler Moleküle finden sich jedoch auch Peaks, deren Masse keiner der im Molekül vorhandenen Atomgruppierungen entspricht und die dadurch zustandekommen, daß sich das Molekülion oder Bruchstück vor dem Weiterzerfall umlagert (Typ g). Diese Erscheinung, die zuerst an Kohlenwasserstoffen eingehender studiert wurde, hat die Massenspektrometrie anfänglich als für Strukturuntersuchungen ungeeignet erscheinen lassen. Es hat sich jedoch gezeigt, daß diese Umlagerungen in Nicht-kohlenwasserstoffen meist sehr strukturspezifisch sind und daß sie sich sehr gut zur Interpretation benützen lassen, wie weiter unten ausgeführt werden wird.

Reaktionen vom Typ (h) führen zu Ionen, deren Masse größer als das Molekulargewicht der untersuchten Verbindung ist, was vor allem bei der Bestimmung des letzteren Schwierigkeiten bereiten würde. Die Reaktion (h) ist jedoch bimolekular und daher einerseits unter dem sehr geringen Substanzdruck in der Ionenquelle sehr selten, andererseits ist die Intensität des entsprechenden Peaks nicht dem Druck selbst, sondern seinem Quadrat proportional, woran diese Partikel von den normalen unterschieden werden können. Von praktischer Bedeutung ist hier nur ein solcher Vorgang, der häufiger beobachtet wird, nämlich die Abspaltung eines Wasserstoff-Atoms eines neutralen Moleküls durch ein Molekülion. Dies läßt sich besonders dann beobachten, wenn das Molekülion nur geringe Stabilität besitzt und daher leicht zerfällt, seine protonierte Form jedoch viel stabiler ist (z. B. Aminoalkohole, Aminoester, s. u.). Da diese Peaks, wie erwähnt, sehr vom Substanzdruck und den Ionisierungsbedingungen abhängen, können sie trotz ihrer geringen Intensität leicht erkannt werden. Ihre Masse liegt um eine Einheit über dem Molekulargewicht der Ausgangsverbindung („M + 1-Peak“), so daß

sie zur eindeutigen Identifizierung des letzteren herangezogen werden können [4].

Die sichere Erkennung des Moleküliions, dessen Masse natürlich das Molekulargewicht der Ausgangsverbindung ergibt, ist nicht immer einfach. Im Falle reiner Substanzen aus solchen Verbindungsklassen, die sehr stabile Moleküliionen ergeben, ist es der Peak höchster Masse im Spektrum, abgesehen von Peaks, die 1 bis 2 Masseneinheiten höher auftreten, jedoch nur auf die Anwesenheit schwerer Isotope im Molekül zurückzuführen sind (s. u.). Häufig muß man damit rechnen, daß die Substanz einen kleinen Molekül-Peak aufweist und daß man versehentlich ein Fragment-Ion von starker Intensität als Moleküliion auffaßt. Ganz allgemein kann gesagt werden, daß die Stabilität des Moleküliions durch die Anwesenheit von π -Elektronensystemen begünstigt, von leicht spaltbaren Bindungen jedoch vermindert wird. Daraus ergibt sich ungefähr folgende Reihenfolge nach abnehmender Stabilität:

Aromaten > konjugierte Olefine > Olefine > alicyclische Verbindungen > Carbonyl-Verbindungen > unverzweigte Kohlenwasserstoffe > Äther > Ester > Amine > Säuren > Alkohole > stark verzweigte Kohlenwasserstoffe

Diese Eigenschaft ist in gewissem Maße additiv, d. h. der Molekül-Peak eines polycyclischen Amins kann intensiver sein als derjenige einer aromatischen Verbindung mit stark verzweigter Seitenkette. Als Beispiele für die starke Verschiedenheit in der Intensität der Moleküliionen können einige Spektren, die weiter unten eingehender diskutiert werden, dienen: Polyaminoalkohole (Abb. 5a), Polyamine (Abb. 5b) und Aminosäureester (Abb. 3) geben sehr leicht stabile Fragmente, und das Moleküliion zeigt nur geringe Intensität; der stärkere Molekül-Peak im Äthylester des Methionins, verglichen mit dem des Leucins, zeigt den stabilisierenden Einfluß der unverzweigten Seitenkette und des Schwefel-Atoms. Der aromatische Charakter der Indolalkaloide führt andererseits zu sehr hohen Molekül-Peaks (Abb. 6). Zur Unterscheidung des Moleküliions von Bruchstücken können noch zusätzliche Kriterien herangezogen werden:

1. Das Molekulargewicht organischer Substanzen ist immer geradzahlig, außer bei Anwesenheit einer ungeraden Zahl von Stickstoff-Atomen, während für Bruchstücke das Umgekehrte gilt.
2. Das Auftreten eines Bruchstückes, das um 3 bis 14 Masseneinheiten unter dem Peak höchster Masse liegt, im Spektrum einer reinen Verbindung deutet darauf hin, daß letzterer nicht dem Moleküliion entspricht, da der Verlust von 3 bis 14 Wasserstoff-Atomen äußerst unwahrscheinlich ist. Eine Differenz von 3 weist z. B. eher darauf hin, daß das Molekulargewicht um 15 bzw. 18 höher liegt und es sich um einen verzweigten Alkohol handelt, der einerseits CH_3 und andererseits H_2O verliert.
3. Wenn man zwischen einem Moleküliion und einem Bruchstück einer etwa vorhandenen höhermolekularen Verunreinigung eine Entscheidung treffen muß, so kann man anstatt der normalerweise verwendeten 70 eV die

Elektronenenergie bis in die Nähe des Ionisationspotentials vermindern, was zur weitgehenden Ausschaltung von Fragment-Ionen führt.

Die genaue Bestimmung des Molekulargewichts ist für die Identifizierung oder Strukturaufklärung organischer Substanzen bereits sehr wertvoll. Aus der Art des Moleküliions lassen sich jedoch noch zusätzliche Schlüsse ziehen: Auf den Zusammenhang zwischen seiner Intensität und der Verbindungsklasse wurde schon hingewiesen. Aus der Zahl und Höhe der sogenannten Isotopen-Peaks kann man vielfach die Elementarzusammensetzung ableiten oder zum mindesten die Ab- oder Anwesenheit gewisser Heteroatome feststellen.

Die natürliche Konzentration des ^{13}C beträgt ungefähr 1,1 %; folglich haben 1,1 % aller Methan-Moleküle das Molekulargewicht 17 (die natürliche Konzentration von Deuterium ist vernachlässigbar klein). Das Verhältnis der Moleküle, die ein ^{13}C -Atom enthalten, zu denen, die nur aus ^{12}C aufgebaut sind, ist daher für eine Verbindung mit n Kohlenstoff-Atomen $1,1 n : 100$. Der Peak der Masse 311 im Spektrum des Ibogains (Abb. 6) hat daher ungefähr 23 % der Intensität des Peaks der Masse 310 (das eigentliche Molekulargewicht); in diesem Falle trägt auch der Stickstoff (natürliche Konzentration des $^{15}\text{N} = 0,36 \%$) zur Masse 311 bei. Da die Wahrscheinlichkeit, daß ein Ibogain-Molekül zwei ^{13}C -Atome enthält, natürlich viel geringer ist, ist auch der Peak der Masse 312 viel kleiner. Zu der um zwei Einheiten über dem normalen Molekulargewicht liegenden Masse tragen hauptsächlich die Isotope ^{18}O , ^{34}S , ^{37}Cl und ^{81}Br bei. Die natürliche Konzentration des ^{18}O beträgt nur 0,2 % und ist daher nicht sehr auffallend. Der schwere Schwefel macht jedoch etwas über 4 % des Gesamtschwefels aus und führt zu dem typischen Aussehen der Massenspektren organischer Schwefel-Verbindungen, wofür Abb. 3b ein gutes Beispiel darstellt: Die Masse 177 kommt von den leichten Molekülen, 178 enthält entweder ^{13}C oder ^{33}S (0,7 %) und 179 kommt von den Molekülen, welche ^{34}S enthalten. Da die Intensität bei 179 ungefähr 4 % (nicht 8 %) derjenigen der Masse 177 beträgt, kann die Verbindung nicht zwei, sondern nur ein Schwefel-Atom enthalten.

Ein noch charakteristischeres Bild geben chlor- oder bromhaltige Verbindungen, da das Verhältnis $^{35}\text{Cl} : ^{37}\text{Cl} = 3:1$ und $^{79}\text{Br} : ^{81}\text{Br} = 1:1$ beträgt. In Abb. 2 ist das Verhältnis der Peak-Gruppen in den Spektren von Verbindungen mit ein bis drei Chlor- bzw. Brom-Atomen wiedergegeben. Diese Peaks sind jeweils um zwei Masseneinheiten voneinander entfernt; dazwischen treten noch diejenigen auf, die auf der Anwesen-

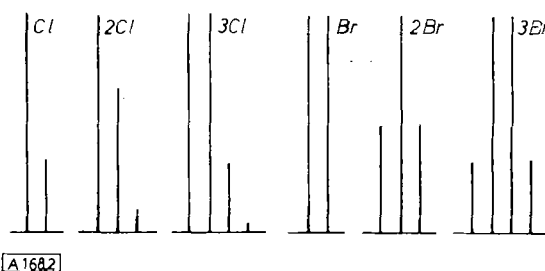


Abb. 2. Für die Anwesenheit von 1 bis 3 Chlor- bzw. Brom-Atomen charakteristische Multipletts

[4] F. W. McLafferty, Analytic. Chem. 29, 1782 (1957).

heit von ^{13}C beruhen. *Beynon* [3] hat die zu erwartenden Intensitäten für eine Vielzahl von Atomkombinationen berechnet und tabellarisch zusammengefaßt.

Alle diese Schlußfolgerungen treffen natürlich auch für die Elementarzusammensetzung von Bruchstück-Ionen zu, obwohl in diesem Falle mit einer Störung des Verhältnisses durch andere Bruchstücke gerechnet werden muß. Auch hier kann Abb. 3b wieder als Beispiel angeführt werden: Masse 61 und 104 enthält das Schwefel-Atom (ersichtlich an den Isotopenpeaks bei 63 und 106), Masse 56 jedoch nicht; im Falle der Masse 129 kann dies wegen des starken Peaks bei 131 a priori nicht beurteilt werden.

Wenn bisher die Molekülionen sehr ausführlich behandelt wurden, so geschah das einmal wegen ihrer Bedeutsamkeit, dann aber auch, weil die Kenntnis des Molekulargewichtes und wenn möglich der Elementarzusammensetzung für die Interpretation der Fragmentationen äußerst wichtig ist. Wie schon erwähnt, sind diese zwar äußerst zahlreich; für die Interpretation sind jedoch besonders die relativ intensiven Peaks von Wichtigkeit, da die entsprechenden Fragmente meist Produkte eines einfachen und daher wenig Energie benötigenden Zerfallsvorganges sind. In diesem Falle darf man sicherlich annehmen, daß das entstandene Fragment viel über die Struktur aussagen kann. Dagegen kann man z. B. von einem Ion der Masse 24 nur sagen, daß es ein C_2 -Bruchstück ist, welches alle Substituenten verloren hat. Ein solcher Prozeß benötigt sehr viel Energie, und die Intensität dieses Peaks ist daher sehr klein; er ist aber auch für die Interpretation fast völlig wertlos. Geringer Totalenergie-Bedarf und damit große Intensität der gebildeten Masse hängt ab

1. von der Energie der zu sprengenden Bindung(en),
2. vom Energieinhalt des gebildeten positiv geladenen Ions und des neutralen Bruchstückes (Radikal oder Molekül)
3. im Falle von Umlagerungen von der sterischen Anordnung des Moleküls selbst.

Wenn man das bis jetzt an vielen einfachen und komplizierteren organischen Verbindungen angesammelte Material überblickt, so zeigt sich, daß Punkt (2) am ausschlaggebendsten ist und Bruchstücke von besonderer Intensität immer solchen Ionen entsprechen, in denen die positive Ladung am besten stabilisiert ist. (Es sei hier daran erinnert, daß in einem Massenspektrum normalerweise nur die positiv geladenen Teilchen registriert werden; eine Ausnahme bildet die Elektronenanlagerungs-Massenspektrographie [5], bei der negative Ionen registriert werden).

Die bevorzugten Zerfallsreaktionen können daher wie folgt zusammengefaßt werden:

Da die Stabilität von Carbonium-Ionen in der Reihe



infolge des induktiven Effektes der Alkylgruppen ansteigt, ist die Bildung stark substituierter Fragmentationen bevorzugt. In Kohlenwasserstoff-Ketten ist daher die

[5] M. v. Ardenne, K. Steinfelder u. R. Tümmeler, *Angew. Chem.* 73, 136 (1961).

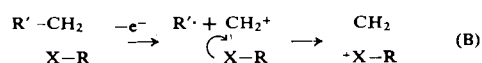
Art und Stellung einer Verzweigung ersichtlich, da die Sprengung einer Bindung am höher substituierten Kohlenstoff-Atom und Erhaltung der positiven Ladung an diesem zu einem besser stabilisierten Ion führt. Aus Abb. 1 ergibt sich z. B., daß Phthioceran, der dem Phthiocerol (s. u.) zugrundeliegende Kohlenwasserstoff, insgesamt 35 C-Atome besitzt und an C_{31} eine Methyl-Verzweigung aufweist. Dieses Spektrum zeigt auch sehr schön, daß Ionen niedriger Masse, die denselben Stabilitätsgrad besitzen, eine höhere Intensität aufweisen als solche höherer Masse, was neben instrumentellen Faktoren daher kommt, daß größere Fragmente eine höhere Chance haben, weiter zu zerfallen.

Die positive Ladung wird weiterhin durch eine konjugierte Doppelbindung stabilisiert. Es ist jedoch oft nicht, möglich, aus der Masse solcher Ionen auf die Lage der Doppelbindung im intakten Molekül zu schließen, da sie sowohl im Molekülion als auch in Fragmenten infolge von Wasserstoff-Verschiebungen leicht wandern können. Ölsäuremethylester und seine Doppelbindungs-isomeren besitzen äußerst ähnliche Spektren, außer wenn die Doppelbindung sehr nahe an die Estergruppe heranrückt wie im Ester der Δ^2 -Octadecensäure [6].

Auch ein aromatisches System in Konjugation zur positiven Ladung trägt stark zur Stabilisierung bei, d. h. eine Benzyl-Bindung wird sehr leicht gesprengt. Das gebildete Ion hat jedoch wahrscheinlich nicht die Benzyl-, sondern die Tropylium-Struktur, wie *Meyerson* [7] an Hand von markierten Verbindungen zeigen konnte.



Die Einführung von Heteroatomen führt zu besonders interessanten Spektren (vgl. z. B. Abb. 3 bis 6). Die einsamen Elektronenpaare dieser Atome können die positive Ladung am benachbarten Kohlenstoffatom sehr wirkungsvoll stabilisieren:



In Alkoholen und Äthern ($\text{X}=\text{O}$), Mercaptanen und Sulfiden ($\text{X}=\text{S}$) sowie Aminen ($\text{X}=\text{NH}$) wird daher die dem Heteroatom benachbarte C-C-Bindung sehr leicht gesprengt, wobei die positive Ladung an dem das Heteroelement tragenden Fragment erhalten bleibt. Für die Strukturbestimmung ist das natürlich von großer Bedeutung; in einem aliphatischen Alkohol etwa ergibt sich die Stellung der Hydroxyl-Gruppe aus diesen Fragmenten; allerdings ist wegen der Möglichkeit eines Weiterzerfalls dieser Primärfragmente Vorsicht angebracht (s. u.).

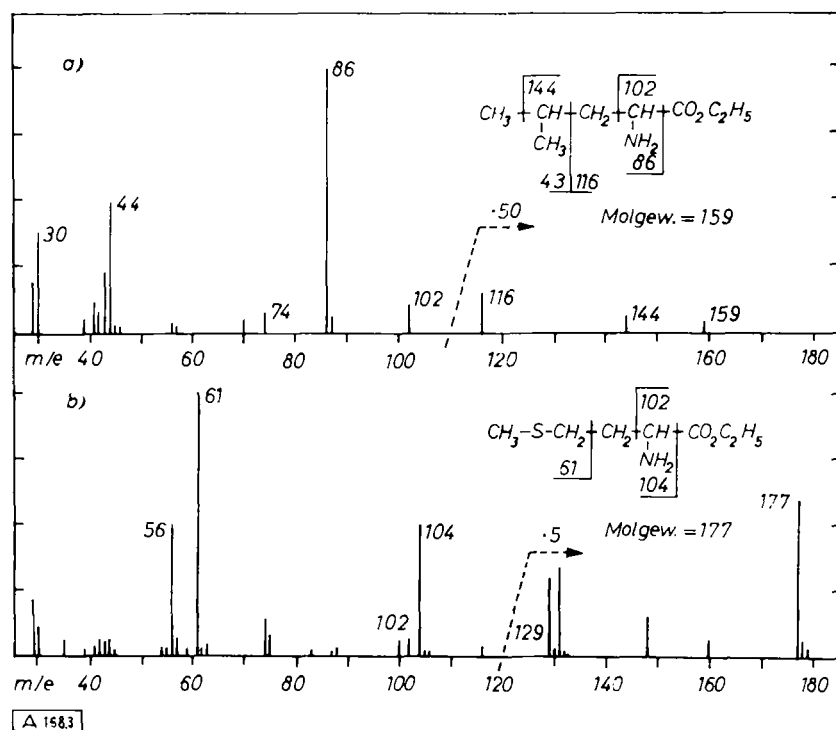
Die hohe Intensität der Massen 86 in Leucinäthylester (Abb. 3a) und 104 in Methioninester (Abb. 3b) ist auf die Anwesenheit der α -Amino-Gruppe zurückzuführen, während die Intensität der Masse 61 in der letzteren Ver-

[6] B. Hallgren, R. Ryhage u. E. Stenhagen, *Acta chem. scand.* 13, 845 (1959).

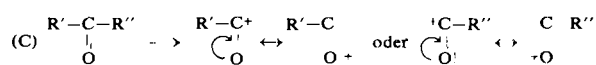
[7] P. N. Rylander, S. Meyerson u. H. Grubb, *J. Amer. chem. Soc.* 79, 842 (1957).

bindung durch das Schwefel-Atom bedingt ist. Das Fragment der Masse 102 ist in beiden Fällen viel weniger stark vertreten, was auf den destabilisierenden Einfluß der Carbonyl-Gruppe zurückzuführen ist.

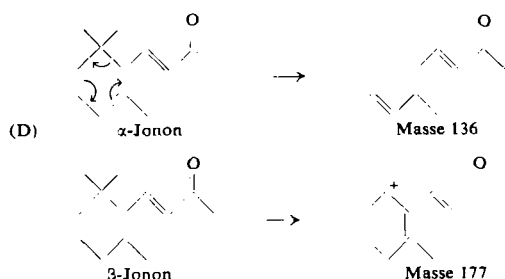
Ion und gibt daher zu einem starken Peak bei 177. Anlaß, während die oben erwähnte Spaltung zum Verlust eines Äthylen-Moleküles führen würde. Beim α -Jonon führt der Verlust einer dieser Methyl-Gruppen jedoch



Auch doppelt gebundene Heteroatome können einen stabilisierenden Einfluß ausüben:



In cyclischen Olefinen tritt oft eine Spaltung ein, in welcher zwei Bindungen gleichzeitig gesprengt werden und die als eine Umkehrung der *Diels-Alder*-Kondensation aufgefaßt werden kann [8]. Dieser Vorgang scheint besonders dann bevorzugt zu sein, wenn keine andere leicht zu spaltende Bindung im Molekül vorhanden ist; die Spektren von α - und β -Jonon zeigen das sehr schön:



Das vom β -Jonon unter Verlust einer der geminalen Methyl-Gruppen gebildete Fragment ist ein tertiäres Allyl-

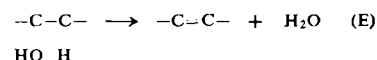
[8] K. Biemann, unveröffentl.

[*] In Abb. 3 bis 5 ist zu beachten, daß der Bereich rechts vom Pfeil um den angegebenen Faktor vergrößert dargestellt ist. Infolge des weiten Intensitätsbereiches von Massenspektren verbunden mit der Verwendung von Mehrfachschreibern ist die Wiedergabe von Peaks sehr verschiedener Intensität aber sehr genau.

nur zu einem tertiären Carbonium-Ion, und das Fragment 177 ist daher relativ wenig intensiv. Die „Retro-Diels-Alder-Reaktion“ führt dagegen zur Abspaltung eines hochsubstituierten und daher energetisch begünstigten Olefins als neutrales Produkt; das außerdem entstehende konjugierte Olefin-Ion der Masse 136 ist hier nun sehr intensiv.

Alle bisher erwähnten Zerfallsreaktionen sind einfach; die resultierenden Bruchstücke repräsentieren eine im Molekül als solche vorhandene Atomgruppierung. Wie eingangs angedeutet sind aber auch gewisse Umlagerungen von großer Bedeutung; sie bestehen im allgemeinen in der Wanderung eines Wasserstoff-Atoms unter gleichzeitiger Ausbildung einer neuen Doppelbindung. Auch hier verbleibt die positive Ladung an dem Fragment, an dem sie am besten stabilisiert ist. (Wenn die Ladung in den folgenden Beispielen an einem der beiden Fragmente angegeben wird, so ist zu bedenken, daß durch geeignete Substitution auch der umgekehrte Fall der Ladungsstabilisierung eintreten kann.)

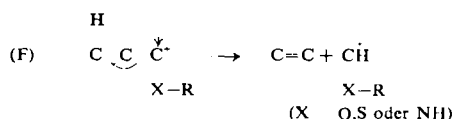
Molekülonen von Alkoholen eliminieren leicht H_2O und geben Olefin-Ionen. Ähnlich verhalten sich Mercaptane, Sulfide und Amine. Das Fragment der Masse



129 in Abb. 3b geht durch Abspaltung von Methylmercaptan (Masse 48) aus dem Molekülon der Masse 177 hervor. Auch Fragmente können in dieser Weise

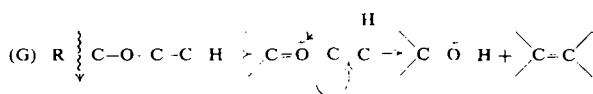
weiter zerfallen; so führt z. B. die Eliminierung von Methylmercaptan vom Fragment 104 (Abb. 3b) zur Masse 56.

Fragmente, die nach Typ B entstanden sind, spalten ihrerseits wieder ein Olefin-Molekül ab, wenn die nötigen strukturellen Voraussetzungen gegeben sind:



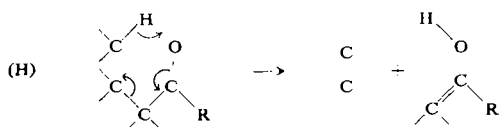
Die Fragmente der Masse 30 (CH_2NH_2) in Abb. 3a und b entstehen auf diese Weise. Aus diesen Spektren ist auch ersichtlich, daß das Primärfragment wesentlich intensiver ist und diese Umlagerungs-Spaltung kaum zur Verwechslung des Leucinesters mit einer Verbindung mit der Gruppierung $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-$ Anlaß geben kann.

Auch die Resonanzform der nach Typ B entstehenden Ionen kann eine ähnliche Reaktion eingehen. Äther unterliegen einer solchen Spaltung [4]:

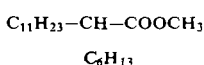


Der intensivste Peak im Massenspektrum des Diäthyläthers liegt z. B. bei Masse 31 (CH_2OH). Sekundäre Amine [9] und Polyamine zeigen ein analoges Verhalten, ebenso Mercaptane [10]. Die strukturellen Voraussetzungen (Seitenketten mit mindestens zwei Kohlenstoff-Atomen, ein Wasserstoff-Atom an C_β) sind aus obiger Reaktionsfolge ersichtlich.

Während alle diese Umlagerungen, wenigstens in formalem Sinne, eine 1,2-Eliminierung vorstellen, unterliegen Carbonyl-Verbindungen mit längerer Seitenkette und einem γ -Wasserstoff-Atom der Abspaltung eines Olefin-Moleküles über einen sechsgliedrigen Übergangszustand [11].



Wenn die α -Kohlenstoff-Atome unsubstituiert sind, erhält man somit aus Aldehyden, Methylketonen, Methyl- und Äthylestern Fragmente der Massen 44, 58, 74 und 88. Eine Alkylgruppe R an C_α erhöht die Masse um $(R - 1)$ Einheiten. Diese Peaks sind wegen ihrer Intensität sehr charakteristisch und besonders wertvoll zur Erkennung von α -Substituenten. So wurde z. B. beim Abbau des Antibiotikums Lagosin eine Säure erhalten, deren Methylester (Molgew. 312) Fragmente der Massen 158 und 288 ergab, woraus sich die Formel



[9] J. Collin, Bull. Soc. roy. Sci. Liège 21, 446 (1952).

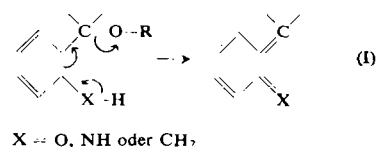
[10] E. J. Levy u. W. H. Stahl, Analytic. Chem. 33, 707 (1961).

[11] F. W. McLafferty, ebenda 31, 82 (1959).

ableitet, welche dann auch durch Synthese bestätigt wurde [12].

Viele andere Substanzgruppen, wie z. B. Amide [13], Alkylbenzole [14], Alkylheterocyclen [15], Arylätano-le [16], Arylätber [4], Vinylätber und Olefine [17], lassen sich in diese Gruppe einfügen, so daß man die Spaltung nach Typ H weitgehend verallgemeinern kann: Die Kohlenstoff-Atome können durch Heteroatome und die Carbonyl-Gruppe durch andere Mehrfachbindungen oder einen aromatischen Ring ersetzt werden. Daß tatsächlich das γ -Wasserstoff-Atom wandert, wurde im Falle von Estern [18] und Alkylbenzolen [19] durch Deuterium-Markierung bewiesen.

Zuletzt wäre noch eine Spaltung zu erwähnen, die unter Wasserstoff-Wanderung verläuft und bei gewissen ortho-substituierten Aromaten eintritt:



Es ergibt sich daher ein wesentlicher Unterschied zwischen den o-Methyl- [20], o-Hydroxy- [21], o-Aminobenzoessäureestern [8] und o-Methyl-benzylalkohol [22] einerseits und den m- und p-Isomeren andererseits.

Aus den erwähnten Zerfallsreaktionen ist ersichtlich, daß Isomere im allgemeinen recht verschiedene Massenspektren ergeben. Ausnahmen bilden aliphatische Diastereomere, weil in diesen alle Bindungen identisch sind, manche Olefine wegen der erwähnten Möglichkeit der Wanderung der Doppelbindung sowie polysubstituierte Aromaten, da im Tropylium-Ion die im Molekül vorhandene Asymmetrie weitgehend beseitigt ist [7]. Aber auch in solchen Fällen kann z. B. die räumliche Entfernung zwischen funktionellen Gruppen, wie der gerade besprochene „ortho-Effekt“, oder die sehr unterschiedliche Resonanzstabilisierung isomerer Kationen substituiert Heterocyclen zu einer eindeutigen Differenzierung führen. Als ein Beispiel der letzten Gruppe seien die Alkylpyridine genannt, in deren Spektren sich die abnehmende Stabilisierung der $-\text{CH}_2^+$ -Gruppierung von der β - über die γ - zur α -Stellung deutlich zeigt [23]. In diesem Zusammenhang sei auch erwähnt, daß McLafferty die Intensität gewisser Fragmentionen in aromati-

[12] M. L. Dhar, V. Thaller, M. C. Whiting, R. Ryhage, S. Stållberg-Stenhagen u. E. Stenhagen, Proc. chem. Soc. (London) 1959, 154.

[13] J. A. Gilpin, Analytic. Chem. 31, 935 (1959).

[14] S. Meyerson, Applied Spectroscopy 9, 120 (1955).

[15] K. Biemann u. J. Seibl, unveröffentl.

[16] J. A. Gilpin, J. chem. Physics 28, 521 (1958).

[17] F. W. McLafferty, Analytic. Chem. 31, 2072 (1959).

[18] Ng. Dinh-Nguyen, R. Ryhage u. E. Stenhagen, ASTM E-14 Meeting on Mass Spectrometry, Atlantic City, Juni 1960.

[19] J. D. McCollum u. S. Meyerson, J. Amer. chem. Soc. 81, 4116 (1959).

[20] F. W. McLafferty u. R. S. Gohlke, Analytic. Chem. 31, 2076 (1959).

[21] E. M. Emery, ebenda 32, 1495 (1960).

[22] T. Aczel u. H. E. Lumpkin, ebenda 32, 1819 (1960).

[23] K. Biemann u. G. Spittler, unveröffentl.

schen Carbonyl-Verbindungen mit der *Hammettschen* σ -Konstante in gute Übereinstimmung bringen konnte [24].

In der vorausgegangenen Zusammenfassung wurde versucht, ein möglichst allgemeingültiges Bild des Verhaltens organischer Moleküle im Massenspektrometer zu geben. Für den interessierten Leser sei noch auf Originalarbeiten verwiesen, die die Spektren vieler Verbindungsklassen (leider meist nur deren einfachsten Vertreter) enthalten und mehr oder weniger eingehend besprechen:

Alkohole [25]	Äther [4]
Aldehyde [26]	Amine [9]
aliphatische Ketone [27]	Aminoester [34]
cyclische Ketone [28]	Aminoalkohole [35]
Acetale [29]	Mercaptane u. Sulfide [10]
Ester, aliphatische [30-32]	Alkylbenzole [14]
Ester, polyfunktionelle [33]	Alkylpyrazine [15]
Ester, aromatische [20, 21]	Alkylpyridine [23]
Amide [13]	Alkylindole [36]
	Monoterpene [37]

Diejenigen Arbeiten, die sich in jüngster Zeit mit der Lösung organischer, biochemischer und struktureller Probleme beschäftigten, werden im folgenden etwas eingehender behandelt. Dies erlaubt es auch, die noch verbleibenden Punkte, wie mehrfachgeladene Ionen, metastabile Peaks, Interpretation von Mischungsspektren sowie von Verunreinigungen an Hand von konkreten Beispielen zu diskutieren.

4. Strukturaufklärung von Naturstoffen

In den letzten Jahren haben sich vor allem drei Arbeitsgruppen mit diesem Gebiet befaßt: *E. Stenhagen* und *R. Ryhage* (Göteborg und Stockholm), *R. I. Reed* (Glasgow) und wir (Cambridge, Mass.).

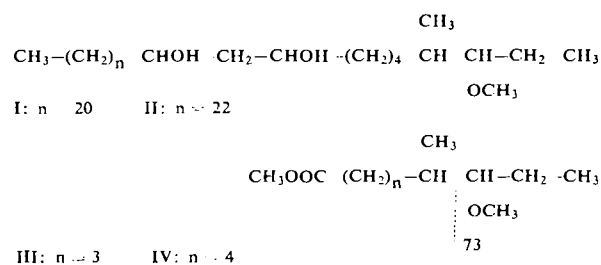
Lipoide

Die schwedische Gruppe hat besonders die Massenspektren von Lipoiden intensiv bearbeitet. Die teilweise bereits erwähnten Arbeiten wurden kürzlich zu-

- [24] *F. W. McLafferty*, *Analytic. Chem.* 31, 477 (1959).
- [25] *R. A. Friedel, J. L. Shultz u. A. C. Sharkey jr.*, ebenda 28 926 (1956).
- [26] *J. A. Gilpin u. F. W. McLafferty*, ebenda 29, 990 (1957).
- [27] *A. G. Sharkey jr., J. L. Shultz u. R. A. Friedel*, ebenda 28, 934 (1956).
- [28] *J. H. Beynon, R. A. Saunders u. A. E. Williams*, *Applied Spectroscopy* 14, 95 (1960).
- [29] *R. A. Friedel u. A. G. Sharkey jr.*, *Analytic. Chem.* 28, 940 (1956).
- [30] *A. G. Sharkey jr., J. L. Shultz u. R. A. Friedel*, ebenda 31, 87 (1959).
- [31] *R. Ryhage u. E. Stenhagen*, *Ark. Kemi* 13, 523 (1959); 14, 483 (1959).
- [32] *J. H. Beynon, R. A. Saunders u. A. E. Williams*, *Analytic. Chem.* 33, 221 (1961).
- [33] *R. Ryhage u. E. Stenhagen*, *Ark. Kemi* 14, 497 (1959); 15, 291, 333, 545 (1960).
- [34] *K. Biemann, J. Seibl u. F. Gapp*, *Biochem. biophysic. Res. Com.* 1, 307 (1959); *J. Amer. chem. Soc.* 83, 3795 (1961).
- [35] *K. Biemann, F. Gapp u. J. Seibl*, *J. Amer. chem. Soc.* 81, 2274 (1959).
- [36] *J. H. Beynon u. A. E. Williams*, *Applied Spectroscopy* 13, 101 (1959).
- [37] *R. I. Reed u. T. Gilchrist*, *Experientia (Basel)* 16, 134 (1960).

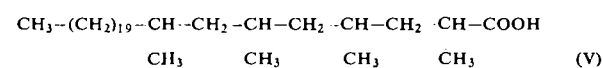
sammenfassend publiziert [38]. Besonders erwähnenswert ist die Aufklärung der Struktur von Phthiocerol und Mycocerosinsäure, beides Verbindungen aus der Lipoidfraktion von Tuberkelbazillen [39].

Phthiocerol wurde auf Grund chemischer Abbaureaktionen, Auftrennung der Produkte durch Gaschromatographie und eingehender Interpretation der Massenspektren der einzelnen Fraktionen als ein Gemisch von I und II erkannt [40]. Als Oxydationsprodukte wurden einerseits Tetracosansäure (aus II) und Docosansäure (aus I) gefaßt, andererseits aber auch Alkoxycarbonsäuren gefunden. Bei den letzteren mußte es sich auf Grund des Molekulargewichts (es wurden die Methyl-ester untersucht) und des intensiven Peaks bei Masse 73 um III und IV handeln, da die Bindung zwischen dem stark substituierten und dem ein Sauerstoff-Atom tragenden Kohlenstoff-Atom leicht zu spalten ist (s. o., Typ A und B).



Der Sitz der Methyl-Gruppe geht auch aus dem schon besprochenen Massenspektrum des Phthiocerans (Abb. 1), das durch erschöpfende Reduktion erhalten wurde, hervor. Da auf diese Weise der Einfluß der Heteroatome ausgeschaltet ist, verbleiben als einzige das Spektrum beeinflussende Faktoren die hochsubstituierten Kohlenstoff-Atome, d. h. die Verzweigungsstellen. Zur eindeutigen Feststellung der Struktur einer aliphatischen Kohlenstoffkette, die an mehreren Stellen mit funktionellen Gruppen substituiert ist, gibt das Massenspektrum des Kohlenwasserstoffes, wenn er eindeutig ohne Umlagerungsgefahr hergestellt werden kann, die beste Grundlage.

Auch Mycocerosinsäure stellte sich als ein Gemisch heraus, dessen Hauptkomponente Struktur V zugeordnet wurde [41]. Das Spektrum des Methylesters ergab



das Molekulargewicht 494. Ein intensives Bruchstück der Masse 88 (Umlagerungsfragment vom Typ H) deutet auf eine α -Methyl-Gruppe hin. Relativ höhere Intensität der Fragmente, die außer der COOCH_3 -Gruppe noch fünf, acht oder elf Kohlenstoff-Atome besitzen, deutete auf alternierende Substitution mit vier Methyl-Gruppen hin. Dies wurde endgültig durch das Spek-

- [38] *R. Ryhage u. E. Stenhagen*, *J. Lipid Res.* 1, 361 (1960).
- [39] Zusammenfassung über Lipoide der Mycobakterien vgl. *E. Lederer*, *Angew. Chem.* 72, 372 (1960).
- [40] (a) *L. Ahlquist, R. Ryhage, E. Stenhagen u. E. v. Sydow*, *Ark. Kemi* 14, 211 (1959). (b) *R. Ryhage, S. Stållberg-Stenhagen u. E. Stenhagen*, ebenda 14, 247, 259 (1959).
- [41] *H. Demarteau-Ginsburg, E. Lederer, R. Ryhage, S. Stållberg-Stenhagen u. E. Stenhagen*, *Nature (London)* 183, 1117 (1959).

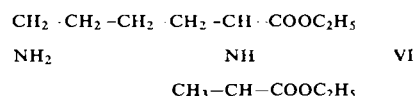
trum des entsprechenden Alkohols, in welchem auch Fragmente des anderen Endes sichtbar waren, bewiesen. Der Vergleich mit einem isomeren Syntheseprodukt mit nur drei Methyl-Gruppen erwies sich als sehr wertvoll; wir haben hier ein gutes Beispiel für die Tatsache, daß in der Massenspektrometrie synthetisches oder sonst leichter zugängliches Vergleichsmaterial sehr nützlich ist, auch wenn es sich nicht als identisch, sondern nur als ähnlich mit der untersuchten Verbindung erweist. Aus dem Unterschied zwischen den Spektren kann man oft mit Sicherheit auf den Strukturunterschied beider Verbindungen schließen, was für andere Vergleichsmethoden oft viel weniger oder gar nicht (z. B. Schmelzpunkt) zutrifft.

Aminosäuren, Peptide

Die chemische und in gewissem Sinne auch absorptionspektroskopische Ähnlichkeit der Aminosäuren untereinander sowie die Tatsache, daß oft nur sehr geringe Substanzmengen zur Verfügung stehen, macht bei der

heit einer unsubstituierten α -Aminosäure hinweist (es ist daher z. B. im Spektrum von Prolinester abwesend); durch Äthylen-Eliminierung vom Typ H geht es in ein Fragment der Masse 74 über. Die Anwesenheit von Verzweigungsstellen oder funktionellen Gruppen in R führt zu weiteren Fragmenten, von denen einige der Ester des Leucins und Methionins (Abb. 3a und 3b) bereits eingangs erwähnt wurden oder aber aus den Abbildungen ersichtlich sind.

In dieser Weise wurde kürzlich die Struktur einer in den Galläpfeln verschiedener Pflanzen aufgefundenen Aminosäure bestimmt [42]. Chemisch konnte kein Einblick in die Struktur erhalten werden (sogar die Elementarzusammensetzung war zweifelhaft). Aus dem Massenspektrum des aus ca. 0,5 mg der Substanz hergestellten Äthylesters (Abb. 4) ließ sich für den Ester Struktur VI ableiten.



Das geradzahlige Molgewicht (274) zeigt die Anwesenheit einer geraden Zahl von Stickstoff-Atomen, höchstwahrscheinlich zwei, an. Der Verlust von 73 (COOC_2H_5) ist analog der Bildung des oben erwähnten „Aminfragments“ und deutet auf eine α -Amino-Gruppe hin (jedoch nicht $-\text{NH}_2$, da Masse 102 nicht intensiv ist). Das so gebildete Fragment (201) verliert weiterhin NH_3 und

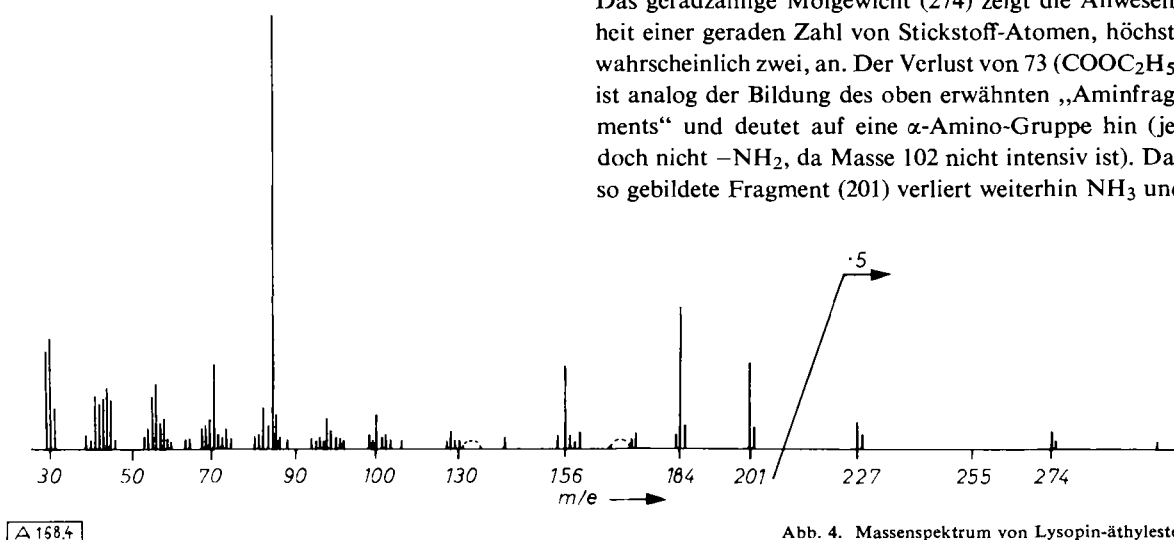
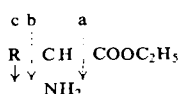


Abb. 4. Massenspektrum von Lysopin-äthylester

Strukturaufklärung von neuen Aminosäuren oft große Schwierigkeiten. Hier zeigte sich die Massenspektrometrie als ein vielversprechendes Hilfsmittel, das auch auf kleine Peptide angewandt werden kann.

Die Auswahl eines geeigneten Derivates ist wegen des Problems der Flüchtigkeit wichtig. Im Falle der Aminosäuren sind die Äthylester am geeignetsten, da sie leicht und aus wenig Material hergestellt werden können. Die Spektren einer großen Zahl von Aminosäureestern, von denen zwei in Abb. 3 wiedergegeben sind, ergaben, daß fast alle auftretenden Fragmente in eine von drei Gruppen fallen [34]: Spaltung der Bindung bei a ergibt das



„Aminfragment“, aus dessen Masse nach Abzug von 29 die Größe von R hervorgeht und das je nach seiner Struktur auch weiter zerfällt; Spaltung bei b gibt das „Esterfragment“, dessen Masse 102 auf die Anwesen-

heit einer $-\text{NH}_2$ -Gruppe schließen läßt, die nach Typ E abgespalten wird. Das verbleibende Fragment eliminiert nun Äthylen (Typ H, analog der Bildung von Masse 74 aus 102, s.o.), d. h. es muß eine weitere COOC_2H_5 -Gruppe vorhanden sein. Am wichtigsten ist jedoch das Fragment der Masse 84. Da dieses auch im Lysinester auftritt [34] und dort der Abspaltung von NH_3 vom Aminfragment entspricht, konnte darauf geschlossen werden, daß auch in diesem Falle die beiden Stickstoff-Atome durch eine C_5 -Kette verbunden sind. Daß Masse 30 das intensivste Aminoalkyl-Fragment darstellt, steht mit der genannten Struktur ebenfalls im Einklang.

Die in Abb. 4 ersichtlichen punktierten Halbkreise stellen sogenannte „metastabile Peaks“ dar. Dies sind breite, manchmal über mehrere Masseneinheiten sich hinziehende Erhebungen der Basislinie. Sie kommen dadurch zustande, daß ein Ion der Masse m_1 im elektri-

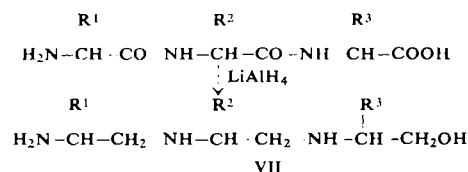
[42] K. Biemann, C. Lioret, J. Asselineau, E. Lederer u. J. Polonsky, *Biochim. biophysica Acta* 40, 369 (1960); *Bull. Soc. Chim. biol.* 42, 979 (1960).

schen Feld beschleunigt wird, jedoch vor Ablenkung im Magnetfeld in ein Tochterion der Masse m_2 und eine neutrale Partikel zerfällt. Beide Massen stehen mit dem Maximum (m^*) dieser Erhebung in folgendem Zusammenhang [43]:

$$m^* = \frac{m_2^2}{m_1}$$

Für den Übergang $201 \rightarrow 186$ errechnet sich $m^* = 168,4$ (gef. 169), was zeigt, daß die oben gegebene Interpretation richtig ist und das Fragment der Masse 186 nicht in einer anderen Weise, z. B. als Primärsplattstück, entsteht. Dasselbe gilt für $184 \rightarrow 156$ (m^* ber. 132,2, gef.

Reduktion gebildeten Polyaminoalkohole (VII) sind für die Massenspektrometrie sehr gut geeignet, da sie eine



aufeinanderfolgende Reihe von N-C-C-N-Bindungen besitzen, die leicht gespalten werden (Typ B) und für die bedeutendsten Peaks in diesen Spektren verantwortlich sind [35]. In Abb. 5a ist das Spektrum der Verbindung

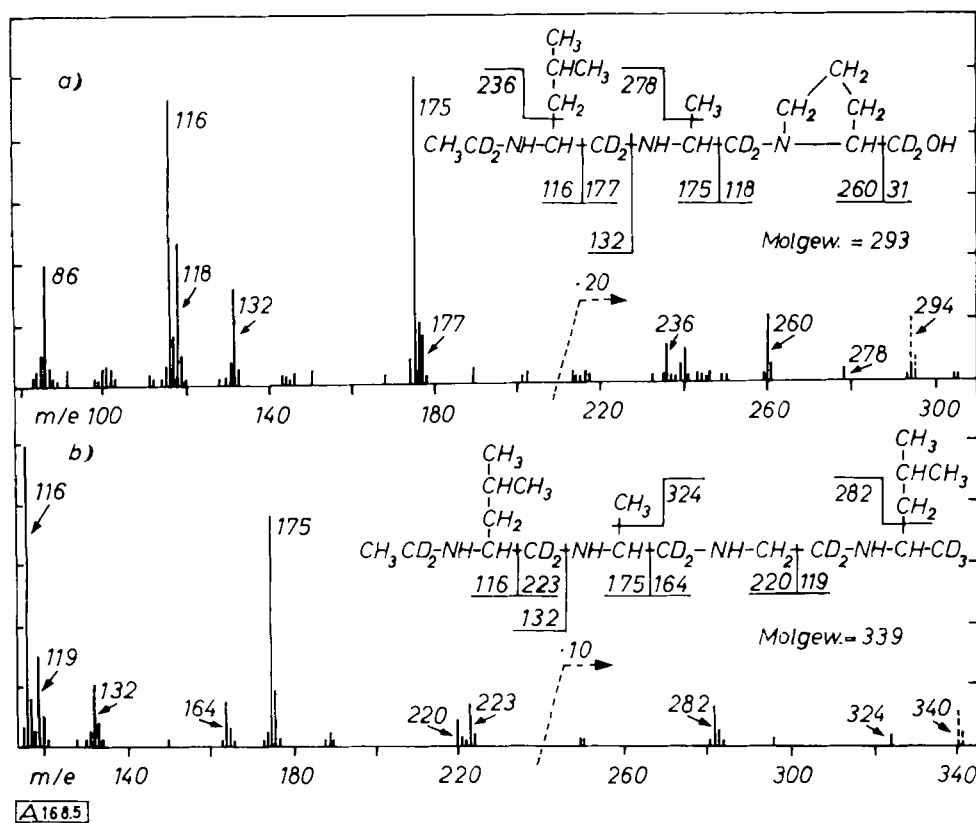


Abb. 5. a) Massenspektrum des durch $LiAlH_4$ -Reduktion von Ac-leu-ala-pro erhaltenen Polyaminoalkohols (von Masse 80–320) und b) des durch zweistufige Reduktion von Ac-leu-ala-gly-leu erhaltenen Polyamins (von Masse 110–350)

133). Die Wichtigkeit der Einbeziehung dieser Maxima in die Interpretation ist nicht zu unterschätzen, da auf diesem indirekten Wege auch die Masse des neutralen Splattstückes bestimmt werden kann.

Die Richtigkeit der vorgeschlagenen Struktur (VI) wurde durch Synthese bewiesen und der Aminosäure der Name Lysopin gegeben. Es dürfte sich hier wohl um den ersten Naturstoff handeln, dessen relativ komplexe Struktur aus einem einzigen Massenspektrum abgeleitet wurde, und zwar ohne daß zuerst chemische Abbauprobe einen Hinweis gegeben hätten. Die Konfiguration der asymmetrischen Zentren konnte dem Spektrum natürlich nicht entnommen werden; es ergab sich aus der Synthese, daß der Lysin-Teil L-, der Alanin-Teil jedoch D-konfiguriert ist.

Auch die Bestimmung der Aminosäure-Sequenz in kleinen Peptiden ist möglich, wenn sie in flüchtige Derivate übergeführt werden können. Die durch $LiAlH_4$ -

wiedergegeben, die bei der Reduktion von Acetyl-L-leucyl-L-analyl-L-prolin mit $LiAlH_4$ erhalten wurde. Die Verwendung von Deuterium erlaubte es einerseits, durch Vergleich mit der Wasserstoff-Verbindung die Richtigkeit des postulierten Spaltungsmechanismus zu beweisen, andererseits die in diesem speziellen Falle sonst auftretende Symmetrie hinsichtlich der zu erwartenden Massenzahlen zu vermeiden.

An einer Anzahl von synthetischen Di- bis Pentapeptiden wurde gezeigt, daß die Sequenz aus den Spektren abgeleitet werden kann, was für die Strukturbestimmung von Peptiden zumindest einen Zeitgewinn darstellt. Für die Trennung von Gemischen solcher Polyaminoalkohole hat sich die Gaschromatographie als sehr geeignet erwiesen [44]; auch dieses Beispiel zeigt wieder die großen Vorteile der Kombination beider Ver-

[43] J. A. Hipple, R. E. Fox u. E. U. Condon, Physic. Rev. 69, 347 (1946).

[44] K. Biemann u. W. Vetter, Biochem. biophysic. Res. Com. 3, 578 (1960).

fahren. Das Auffangen der Fraktionen und die getrennte Aufnahme der Spektren, deren Qualität für die nachfolgende Interpretation äußerst wichtig ist, ist in diesem Falle der direkten Kupplung von Gaschromatograph und Massenspektrometer, welche für Gemische einfacherer, bekannter Substanzen angewandt wurde [45, 46], vorzuziehen.

Um auch die Reduktionsprodukte von Peptiden polyfunktioneller Aminosäuren dieser Trennmethode zugänglich zu machen, ist die Entfernung der polaren Gruppen durch eine weitere Reduktion (mit LiAlD_4 , über die Halogenide) ratsam. Die Massenspektren der so erhaltenen Polyamine lassen sich ebenfalls gut interpretieren (Abb. 5b). Auch hier ist die Verwendung von Deuterium angezeigt, da es nur auf diese Weise möglich ist, die Seitenketten von α -Aminobuttersäure, Threonin und Asparaginsäure zu unterscheiden [44].

Diese Polyamine und -alkohole sind typische Vertreter jener Gruppen, die ein sehr instabiles Molekülion geben, deren protonierte Form (Ammonium-Ion) jedoch wesentlich stabiler ist und daher zu einer Partikel der Masse $M + 1$ Anlaß gibt. Wie eingangs erwähnt, ist die relative Intensität solcher Ionen von verschiedenen Um-

Im Falle einfacher Dipeptide sind auch die N-Trifluoroacetate der Methylester flüchtig genug, um gaschromatographisch getrennt [47] und massenspektrometrisch untersucht [48] zu werden.

Alkaloide

Auch auf dem Alkaloid-Gebiet läßt sich die Massenspektrometrie vorteilhaft anwenden. Ausgehend von der Überlegung, daß in einem Molekül, welches aus einem aromatischen und einem aliphatischen Teil besteht, hauptsächlich aliphatische Bindungen gespalten werden, ließ sich erwarten, daß diese Methode besonders zum Vergleich und der Identifizierung des alicyclischen Kohlenstoff-Skelettes von Alkaloiden wertvoll sein sollte. Auf diesem Wege wurden die für die Alkaloide Sarpagin [49] und Ibogalin [50] von anderer Seite auf Grund biogenetischer Überlegungen vorgeschlagenen Strukturen bewiesen. Abb. 6 zeigt dies an Hand der Massenspektren von Ibogamin, Ibogain und Ibogalin. Klar erkenntlich sind zwei Gruppen von Fragmenten: Eine, zwischen Masse 120 und 150, ist in allen drei Spektren vorhanden; die andere (oberhalb Masse 155) ist in Ibogain um 30, in Ibogalin um 60 Masseneinheiten höher.

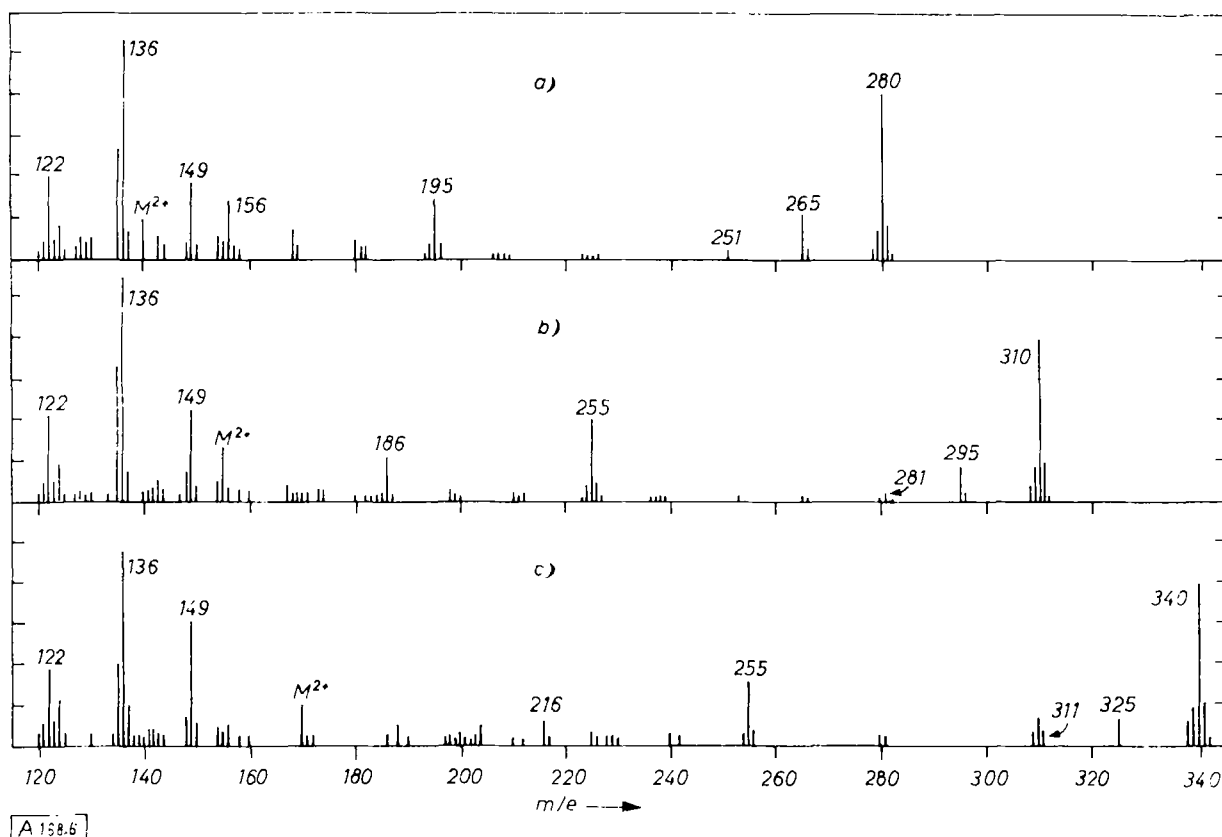


Abb. 6. Massenspektren von Iboga-Alkaloiden (im Bereich von Masse 120-350): a) Ibogamin (VIIIfa), b) Ibogain (VIIIfb) und c) Ibogalin (VIIIfc)

ständen abhängig; der gestrichelte Teil der Massen 294 und 340 in Abb. 5 deutet dies an. Auf diese Weise kann das Molekulargewicht der Verbindung bestimmt werden, welches dann auch mit der angenommenen Struktur übereinstimmen muß.

[45] R. S. Gohlke, *Analytic. Chem.* 31, 535 (1959).

[46] L. P. Lindeman u. J. L. Annis, *ebenda* 32, 1742 (1960).

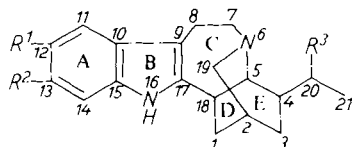
[47] F. Weygand, *Europäisches Peptidsymposium*, Basel, September 1960.

[48] C. O. Andersson, *Acta chem. scand.* 12, 1353 (1958).

[49] (a) K. Biemann, *Tetrahedron Letters* 1960, Nr. 15, 9. (b) Zusammenfassung über Sarpagin vgl. A. R. Battersby u. F. Hodson, *Quart. Rev. (chem. Soc., London)* 14, 77 (1960).

[50] (a) K. Biemann, *Internationales Symposium über die Chemie der Naturstoffe*, Melbourne, August 1960. (b) Isolierung von Ibogalin vgl. N. Neuss, *J. org. Chemistry* 24, 2047 (1959).

Diese Differenz entspricht einer bzw. zwei Methoxyl-Gruppen. Die Fragmente der zweiten Gruppe enthalten offensichtlich das Indol-Gerüst, die der ersten nicht. Da für Ibogamin und Ibogain die Formeln VIIIa und VIIIb eindeutig bewiesen sind, ergibt sich für Ibogalin, dessen UV-Spektrum den 5,6-Dimethoxyindol-Chromophor aufweist, die Struktur VIIIc.



VIII a: $R^1=R^2=R^3=H$
 VIII b: $R^1=OCH_3, R^2=R^3=H$
 VIII c: $R^1=R^2=OCH_3, R^3=H$
 VIII d: $R^1=OCH_3, R^2=H, R^3=OH$

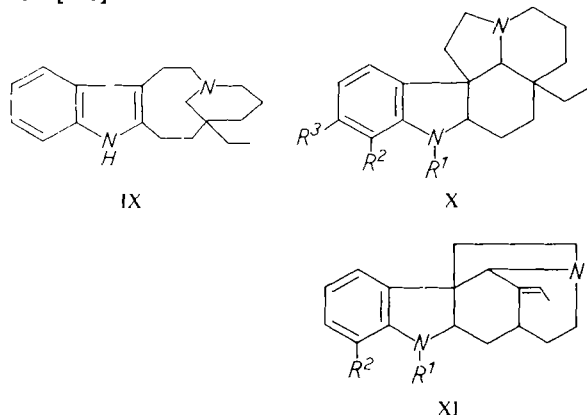
Mit Hilfe von deuterium-markiertem Ibogain konnte die Herkunft der verschiedenen Spaltstücke untersucht werden [51]. Die erwähnte erste Gruppe enthält immer Ring E mit der Äthyl-Gruppe und in Masse 122 auch C₇, in 136 C₇ und C₈ und in 149 C₁₈, C₁ und C₇. Masse 186 enthält Ring A, B und C₈, C₁₉ und C₁, während Masse 225 Ringe A, B und C sowie C₁₉ repräsentiert. Masse 281 und 295 entstehen durch Verlust der Äthyl- bzw. Methyl-Gruppe.

Auf Grund solcher Überlegungen wurde der Sitz der Hydroxyl-Gruppe in Iboxygain (VIIId) bewiesen [52]. Nach Ersatz dieser Gruppe durch Deuterium zeigte das Spektrum des so erhaltenen Ibogains charakteristische Massenverschiebungen, die darauf hinwiesen, daß das Deuterium-Atom nicht in der Methyl-, sondern in der Äthyl-Gruppe sitzt: Erstere wurde immer noch als 15 Masseneinheiten, letztere aber als 30 abgespalten, wie aus den Fragmenten der Masse 281 und 296 sowie dem Molekulargewicht von 311 hervorgeht.

Die in Abb. 6 mit M²⁺ bezeichneten Peaks rühren von doppelt positiv geladenen Molekülonen her. Sie entstehen durch Abspaltung von zwei Elektronen aus dem Molekül und treten daher besonders bei solchen Verbindungen auf, die über eine größere Anzahl von (möglichst konjugierten) π -Elektronensystemen verfügen, z.B. Heterocyclen, Aromaten und Olefinen. Da auch Fragmente doppelt geladen sein können und Partikel mit zwei Ladungen bei der halben Masse registriert werden (weshalb die Skala immer in m/e ausgedrückt ist), zeigen solche Verbindungen oft eine Anhäufung von Peaks meist geringer Intensität, die genau auf eine halbe Masseneinheit fallen.

Die Methode ermöglicht es also, Alkaloide von gleichem Kohlenstoff-Gerüst, aber mit verschiedenen Substituenten im aromatischen Rest, direkt miteinander in Beziehung zu bringen, ohne diese Gruppen zuerst zu entfernen oder ineinander überzuführen (was oft schwierig und zeit- und materialraubend ist). Neben den erwähnten Fällen wurde sie auch zur Bestimmung der Struktur von Quebrachamin (IX) [53a], Pyrifolidin (X, R₁=CH₃CO, R₂-R₃=CH₃O) [53b] und einer ganzen Reihe

von Alkaloiden vom Aspidospermin-Typ (X) benutzt. Darüber hinaus war es möglich, die Struktur einer neuen Alkaloidgruppe (XI), welche auch aus *Aspidosperma quebracho blanco* isoliert worden war, fast ausschließlich auf Grund von Massenspektren aufzuklären [53c].



Andere Naturstoffe

Als ein Fall, in welchem der Materialmangel die klassische Bearbeitung, vor allem eine Elementaranalyse, ausschloß, sei ein relativ einfaches Indolderivat erwähnt, das in Spuren in der Zirbeldrüse von Rindern vorkommt. An einer Gesamtmenge von 0,4 mg wurde auf Grund von UV-, Fluoreszenz- und IR-Spektren sowie dem Massenspektrum des Methylesters, der das Molekulargewicht 219 und ein intensives Fragment bei 160 (Verlust der COOCH₃-Gruppe) zeigte, das Vorliegen von 5-Methoxyindol-3-essigsäure bewiesen [54].

Auch Steroide und Triterpene ergeben gute Spektren, deren Interpretation aber wegen der poly-alicyclischen Natur dieser Verbindungen nicht einfach ist. Während das Molekulargewicht und meist auch die Größe und Struktur der Seitenkette bestimmt werden können [55], ist die Spaltung des Ringsystems, wobei immer mindestens zwei Bindungen gelöst werden müssen, oft von Umlagerungen begleitet. Man hat zwar versucht, diese im Falle einfacher Vertreter dieser Klasse (Kohlenwasserstoffe, Alkohole, Ketone und Ester) zu deuten [55-57], doch muß noch mehr Material erarbeitet werden (möglichst mit Hilfe spezifischer Isotopenmarkierung), bevor ein klares Bild erhalten werden kann. Die Untersuchung von Kohlehydraten stößt wegen ihrer geringen Flüchtigkeit und der Tatsache, daß es sich meist um Stereoisomere handelt, auf gewisse Schwierigkeiten. Unterschiede in der Bindungsenergie α - und β -glucosidischer Bindungen sollen sich in den Spektren bemerkbar machen [58]. Die Flüchtigkeit kann

[53] (a) K. Biemann u. G. Spiteller, *Tetrahedron Letters* 1961, Nr. 9, 299. (b) C. Djerassi, B. Gilbert, J. N. Shoolery, L. F. Johnson u. K. Biemann, *Experientia* (Basel), 17, 162 (1961). (c) K. Biemann, M. Friedmann-Spiteller u. G. Spiteller, *Tetrahedron Letters* 1961, Nr. 14, 485.

[54] A. B. Lerner, J. D. Case, K. Biemann, R. V. Heinzelman, J. Szmuszkovicz, W. C. Anthony u. A. Krivis, *J. Amer. chem. Soc.* 81, 5264 (1959).

[55] P. de Mayo u. R. I. Reed, *Chem. and Ind.* 1956, 1481.

[56] R. I. Reed, *J. chem. Soc. (London)* 1958, 3432.

[57] S. S. Friedland, G. H. Lane jr., R. T. Longman, K. E. Train u. M. J. O'Neal, *Analytic. Chem.* 31, 169 (1959).

[51] K. Biemann u. M. Friedmann-Spiteller, *J. Amer. chem. Soc.* 83 (1961), im Druck.

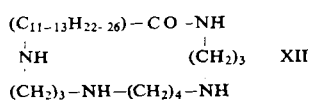
[52] K. Biemann u. M. Friedmann-Spiteller, *Tetrahedron Letters* 1961, Nr. 2, 41.

auch hier durch Bildung geeigneter Derivate wesentlich erhöht werden. So wurde z. B. von dem Oligosaccharid Laminarin nach Permethylierung und Einbringen der Probe (unter Umgehung des Reservoirs) direkt in die Ionenquelle ein brauchbares Spektrum erhalten [59]. Eine systematische Bearbeitung von Zucker-Derivaten liegt jedoch noch nicht vor.

In einigen Fällen wurde darauf hingewiesen, daß die Spektren diastereomerer Verbindungen immer sehr ähnlich sind. Die Untersuchung einer Reihe von di- oder polycyclischen, epimeren Alkoholen [60] zeigte, daß die auftretenden Unterschiede mit der Stereochemie der Verbindungen zusammenhängen. Da die gebildeten Fragmente und daher deren Bildungsenergie gleich sind (daher die Ähnlichkeit der Spektren), macht sich der Unterschied in den sterischen Verhältnissen im Molekül nur in dessen Zerfallsgeschwindigkeit und daher in seiner Intensität bemerkbar. Epiandrosteron (äquatoriale Hydroxyl-Gruppe) zeigt z. B. ein Molekülion, das 4,58 % aller gebildeten Ionen ausmacht, während dieser Wert beim Androsteron (axiale Hydroxyl-Gruppe) 3,53 % beträgt. In den Acetaten ist dieser Unterschied wegen des erhöhten Raumbedarfs der Acetoxy-Gruppe noch verstärkt.

Gemische

Bisher wurden fast ausschließlich die Spektren reiner Einzelsubstanzen besprochen. In der Praxis stellt das Vorliegen von Gemischen, besonders wenn sie sich wie Reinsubstanzen verhalten, oft ein besonderes Problem dar. In solchen Fällen finden sich im Massenspektrum oft Peaks, welche sich nicht als Fragmente einer einzigen Verbindung erklären lassen. Gemische von Homologen weisen z. B. Zwischenräume von 14 Masseneinheiten (vom Molgewicht abwärts) auf und können daran als solche erkannt werden, da ein Molekülion niemals CH_2 als solches abspaltet. So wurde z. B. für das Alkaloid Pithecolobin auf Grund vieler Analysen das Vorhandensein einer C_{12} -Kette angenommen [61]. Die beim Abbau des Desoxy-pithecolobins (XII) erhaltene aliphatische



Säure, die daher eine C_{13} -Verbindung sein sollte, erwies sich auf Grund des Massenspektrums jedoch als ein Gemisch von hauptsächlich Laurinsäure, weniger Myristinsäure und ca. 5 % Tridecansäure, was aus den Molekulargewichten 200, 214 und 228 geschlossen wurde. Dieser Befund konnte durch fraktioniertes Einführen der Probe in das Instrument bestätigt werden, da sich hierbei die Spektren laufend änderten. Dieses Verfahren ist neben der Anwendung von Elektronen niederer Energie, die die Molekülionen mehr hervortreten lassen, eines der

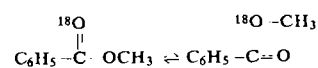
sichersten Unterscheidungsmerkmale von Gemischen gegenüber Reinsubstanzen. Für die Hauptkomponente des Desoxy-pithecolobins ergibt sich daher die Formulierung XII mit einer C_{11} -Kette [62].

Die Frage nach den Reinheitsanforderungen läßt sich nicht allgemein beantworten, da sie ganz vom individuellen Problem abhängt. Die Anwesenheit von etwas Wasser oder niedermolekularen Lösungsmitteln stört z. B. beim Vergleich der Spektren der Iboga-Alkaloide nicht, da man dort nur den höheren Massenbereich benutzt (Abb. 6). Auch bei der noch zu besprechenden Bestimmung von Deuterium im Gesamtmolekül ist eine Verunreinigung mit schwerem Wasser belanglos. Andererseits könnten Verunreinigungen in einem Diastereomerenpaar, in welchem die sterische Zuordnung von der Intensität der Molekularionen, verglichen mit der Gesamtintensität des Spektrums, abgeleitet werden soll, zu falschen Ergebnissen führen. Belanglos sind natürlich nichtflüchtige Verbindungen, solange vermieden wird, daß sie in die Ventile gelangen.

5. Lokalisierung von stabilen Isotopen im intakten Molekül

Schon mehrfach wurde erwähnt, daß der Einbau von Deuterium in ein Molekül außer einer Erhöhung des Molekulargewichts auch zu Verschiebungen im Massenspektrum führt, die mit der Position des Isotops im Molekül in Zusammenhang stehen. Die Anwendung auf Strukturprobleme wurde schon diskutiert (in diesen Fällen wurde Lithiumaluminiumdeuterid angewendet.) Der Austausch von Wasserstoff-Atomen gegen Deuterium mittels D_2O oder $\text{C}_2\text{H}_5\text{OD}$ in Gegenwart von Basen und die massenspektrometrische Bestimmung der Anzahl der austauschbaren Atome wurde schon mehrfach angewandt [63]. Die katalytische Deuterierung von Doppelbindungen führt dagegen oft zu weitgehendem Austausch an den gesättigten Zentren, wie z. B. an Ölsäuremethylester gezeigt wurde [64]. Das Ausmaß dieser Reaktion scheint sehr von den sterischen Verhältnissen abzuhängen, da z. B. die Doppelbindung in Sarpagin durch katalytische Deuterierung in der Seitenkette lokalisiert werden konnte [50].

Für Studien von Reaktionsmechanismen ist es oft wichtig, nicht die Gesamtmenge eines stabilen Isotops, sondern seine Verteilung im Reaktionsprodukt zu bestimmen. Diese kann aus dem Massenspektrum des Produktes ermittelt werden. Als Beispiel sei die thermische Isomerisierung von Benzoesäuremethylester genannt [65]:



Die Verbindung ergibt ein Fragment hoher Intensität bei Masse 105, welches der $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CO}$ -Gruppe entspricht und daher das Carbonyl-Sauerstoffatom ent-

[58] P. A. Finan, R. I. Reed u. W. Snedden, Chem. and Ind. 1958, 1172.

[59] P. A. Finan u. R. I. Reed, Nature (London) 184, Suppl. 24, 1866 (1959).

[60] K. Biemann u. J. Seibl, J. Amer. chem. Soc. 81, 3149 (1959).

[61] K. Wiesner et al., Canad. J. Chem. 30, 761 (1952); J. Amer. chem. Soc. 75, 6348 (1953).

[62] D. E. Orr u. K. Wiesner, Chem. and Ind. 1959, 672.

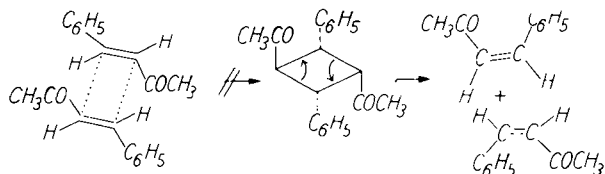
[63] Vgl. z. B. G. Büchi, M. Schach v. Wittenau u. D. M. White, J. Amer. chem. Soc. 81, 1968 (1959).

[64] Ng. Dinh-Nguyen u. R. Ryhage, J. Res. Inst. Catalysis, Hokkaido Univ. 8, Nr. 1, 73 (1960).

[65] K. B. Wiberg, J. Amer. chem. Soc. 75, 2665 (1953).

hält. Mit ^{18}O in dieser Gruppe ergibt sich Masse 107. Erhitzen von Benzoesäuremethylester mit ca. 1,5 % O^{18} in der Methoxyl-Gruppe auf 250 bzw. 400 °C und Vergleich der 105/107 Verhältnisses mit dem Ausgangsmaterial zeigte, daß diese Umlagerung nur bei höherer Temperatur in stärkerem Maße auftritt. Eine ^{18}O -Bestimmung auf dem sonst üblichen Wege (Verbrennung zu CO_2) ist hier natürlich wertlos.

Ähnlich wurde die Möglichkeit der *trans-cis*-Isomerisierung von Benzalaceton über ein Dimeres geprüft [66]:



Ein Gemisch von normalem *trans*-Benzalaceton und Pentadeutero-benzalaceton ($\text{C}_6\text{H}_5\text{-CD=CD-CO-CD}_3$) wurde den Isomerisierungsbedingungen unterworfen und das Massenspektrum des Produktes mit dem des Ausgangsmaterials verglichen. Da keine di- und trideutierten Moleküle, wie sie bei dimeren Zwischenstufen zu erwarten wären, auftraten, ist dieser Mechanismus ausgeschlossen.

Für viele mechanistische Probleme ist die Anwendung der Massenspektrometrie sicher sehr wertvoll. Der Hauptvorteil besteht darin, daß der Isotopengehalt einzelner Komponenten einer Mischung sozusagen individuell beobachtet werden kann. Kürzlich wurde dies auch im Falle von ^{15}N -markierten Aminosäuren gezeigt [67]. Aus Abb. 3 ist ersichtlich, daß sich die Anwesenheit von schwerem Stickstoff in der Amino-Gruppe des Leucins in einer Erhöhung des Peaks der Masse 87, im Methionin aber bei 105 auswirken wird. Daraus läßt sich der ^{15}N -Gehalt dieser Aminosäuren nicht nur in reiner Form, sondern auch im Gemisch bestimmen, da sie sich ja gegenseitig nicht beeinflussen. Um auch geringe Beiträge der anderen Komponenten auszuschalten, werden diese durch Verwendung von Elektronen geringer Energie (ca. 10 eV) möglichst unterdrückt, während unter diesen Bedingungen die „Aminfragmente“, die für die Messung benutzt werden, immer noch sehr intensiv sind. Auf diese Weise konnte der ^{15}N -Gehalt der einzelnen Aminosäuren in einer aus elf Komponenten bestehenden Mischung ohne vorherige Auftrennung bestimmt werden [67]. Der Zeit- und Materialbedarf, aber ebenso die Genauigkeit nahe der natürlichen ^{15}N -Konzentration, sind wesentlich geringer als die Überführung in N_2 , die außerdem eine sehr sorgfältige Auftrennung in die einzelnen Komponenten verlangt.

6. Massenspektrometer extrem hoher Auflösung

Bisher wurde nur von vollen Masseneinheiten gesprochen, da fast alle käuflichen Instrumente im höheren Massenbereich nur diese Auflösung besitzen. Eine Bestim-

[66] H. O. House, J. org. Chemistry 24, 1374 (1959).

[67] K. Biemann u. G. G. J. Deffner, Biochem. biophysic. Res. Com. 4, 283 (1961).

mung der Masse eines Moleküls oder Fragments auf $\leq 0,01$ Masseneinheiten genau, ermöglicht natürlich noch zusätzliche Aussagen [68], wenn man die Abweichungen der Atomgewichte von der Ganzzahligkeit in Betracht zieht. So ergibt sich z. B. für das „monoisotopische“ (d. h. nur aus den leichtesten Isotopen zusammengesetzte) Molekulargewicht von Tetralin ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}$) 132,136, für Indanon ($\text{C}_9\text{H}_8\text{O}$) 132,010 und für Divinylpyrazin ($\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2$) 132,110. Es kann also nicht nur das Molekulargewicht, sondern auch die Elementarzusammensetzung bestimmt werden, und zwar besser als nach der schon erwähnten Methode, die auf der Messung der Intensität der „Isotopenpeaks“ beruht. Für die Zusammensetzung der Fragmente ergibt sich dieselbe Möglichkeit, was oft für die Interpretation des Spektrums von großem Werte ist [69]. (Allerdings kommt es hier oft darauf an zu wissen, von welchem Teil des Moleküls ein gewisses Fragment stammt; die Elementarzusammensetzung allein läßt diese Entscheidung meist nicht zu.)

Die Verwendung von hochauflösenden Instrumenten in Verbindung mit Isotopenmarkierung wird sich in der Zukunft wohl als die wirksamste Form der Massenspektrometrie organischer Verbindungen zeigen.)

Schlußbetrachtungen

Im Vorangegangenen wurde versucht, besonders diejenigen Ergebnisse aufzuzeigen, die für den organischen Chemiker von Interesse sind und die in naher Zukunft immer mehr an Bedeutung gewinnen werden. Auf die schon länger bekannten analytischen Anwendungsgebiete wurde bewußt nicht eingegangen, da hierüber bereits eine Anzahl von Zusammenfassungen erschienen ist [70–72].

Das hier entworfene Bild der Strukturbestimmung ist noch sehr skizzenhaft, hauptsächlich deshalb, weil bisher nur in wenigen Forschungslaboratorien daran gearbeitet wird. Vielleicht ändert sich dies, wenn wir die Massenspektrometrie nicht nur als komplizierte instrumentelle Methode, sondern vor allem als eine neue Mikroabbaureaktion betrachten, deren Mechanismus bereits einigermaßen aufgeklärt ist und bei welcher die Produkte automatisch aufgetrennt und gleichzeitig einer Molekulargewichtsbestimmung und oft auch Elementaranalyse unterworfen werden. Die Interpretation der Resultate bleibt auch hier der Erfahrung des Experimentators überlassen.

Eingegangen am 4. April 1961 [A168]

[68] J. H. Beynon, in J. D. Waldron (Herausg.): Advances in Mass Spectrometry, Pergamon Press, London 1959, S. 328.

[69] J. H. Beynon, G. R. Lester u. A. E. Williams, J. physic. Chem. 63, 1861 (1959).

[70] V. H. Dibeler, in J. Mitchell jr. (Herausg.): Organic Analysis, Bd. III, S. 387, Interscience, New York 1956.

[71] V. H. Dibeler u. R. M. Reese, Analytic. Chem. 32, 211R (1960).

[72] D. W. Stewart: Mass Spectrometry, in A. Weissberger (Herausg.): Physical Methods of Organic Chemistry (Technique of Organic Chemistry, Bd. I), Interscience, New York 1960, Teil IV, S. 3449–3539.