

Abb. 2. Proteinmuster der aus dem Schwertbohnenrohextrakt gewonnenen Fraktionen (Abb. 1b). A: Schwertbohnenrohextrakt, B: durch D-Glucose aus dem Phlorrhizinpolymer eluierte Fraktion, C: kommerziell erhältliches Concanavalin A (Pharmacia, Tübingen). Die Proteinmuster wurden durch Elektrophorese in 8proz. Polyacrylamid in Anwesenheit von Natrium-dodecylsulfat ermittelt (SDS-Gelelektrophorese).

Inkorporierung der Proteine in Liposomen bestimmt. Damit scheint das Phlorrhizinpolymer für die Isolierung von Proteinen geeignet zu sein, die eine Affinität zu β -glykosidisch verknüpfter D-Glucose haben.

Arbeitsvorschrift

Herstellung des Phlorrhizinpolymers: Eine Mischung von 2 g Phlorrhizin (1), 30 g Harnstoff und 65 ml 37proz. Formalin wurde mit einem Tropfen Essigsäure versetzt und unter starkem Rühren auf 120–140 °C erhitzt. Nach 20–30 min erhält man eine weiße, undurchsichtige Masse, die nach dem Abkühlen grob zerkleinert und mit Wasser/Ethanol solange gewaschen wurde, bis sie frei von niedermolekularen Bestandteilen war. Nach Waschen mit Ethanol und Trocknen bei 60 °C verblieben 46,2 g trockenes Polymer, das gemahlen und mit Wasser oder der entsprechenden Pufferlösung äquilibriert wurde. Das in eine Chromatographiesäule eingefüllte Polymer wurde solange mit Wasser oder Pufferlösung gewaschen, bis im Eluat keine Absorption bei 256 nm mehr auftrat. Anschließend wurde das Proteingemisch aufgetragen.

Bindung von Lectinen: Die Bindung wurde durch 2 h Inkubation von 10 mg Phlorrhizinpolymer mit verschiedenen konzentrierten Lectinlösungen (0,13 bis 2,6 mg/ml) in Ammoniumacetat (0,1 mol/l, pH=6,5) bei 22 °C bestimmt. Nach Inkubation und Sedimentation des Polymers wurde das freie Protein im Überstand gemessen. Als Kontrolle diente Albumin, das nur unwesentlich gebunden wurde.

Eingegangen am 22. Mai 1979,
ergänzt am 27. Juli 1979 und 8. April 1980 [Z 492]

[1] de Koninck, Justus Liebigs Ann. Chem. 15, 258 (1835).

[2] G. Zemplén, R. Bognar, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 75, 1040 (1942).

[3] R. Kinne, Curr. Top. Membr. Transp. 8, 209 (1976); R. Kinne, H. Murer, E. Kinne-Saffran, M. Thees, G. Sachs, J. Membr. Biol. 21, 375 (1975); A. Klip, S. Grinstein, G. Semenza, ibid. 51, 47 (1979).

[4] M. Dubois, K. A. Giles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, F. Smith, Anal. Chem. 28, 350 (1956).

[5] H.-G. Elias: Makromoleküle. Hüthig & Wepf, Basel 1972, S. 714 ff., 733 ff.

Stoßinduzierte Fragmentierungen von Alkyldenammonium-Ionen^[**]

Von Hans J. Veith^[*]

Alkyldenammonium-Ionen spielen in der organisch-chemischen Synthese und als Naturstoffe eine besondere Rolle (vgl. ^[1a]). Im folgenden wird über eine massenspektrometrische Methode (FD-CA) berichtet, mit der zusätzlich zum Molekulargewicht strukturelle Details von Alkyldenammoniumsalzen bestimmt werden können.

Bisher konnten solche Salze massenspektrometrisch nicht untersucht werden, da bei der Überführung in die Gasphase die ionische Struktur nicht erhalten bleibt (vgl. ^[1b]). Mit der Felddesorptions-(FD-)Methode gelingt jedoch die Erzeugung intakter Alkyldenammonium-Ionen in der Gasphase aus den entsprechenden Salzen. Während somit die Masse der Kationen direkt bestimmt werden kann und zusätzlich auftretende Clusterionen es ermöglichen, das Molekulargewicht der Salze zu ermitteln, erhält man aus dem FD-Massenspektrum keine strukturellen Details, da die felddesorbierten Alkyldenammonium-Ionen wegen der zu geringen Anregungsenergie innerhalb der massenspektrometrischen Zeitskala nicht zerfallen^[2].

Eine Möglichkeit zur Fragmentation-Erzeugung bietet die Stoßaktivierungs- („Collisional Activation“, CA-)Methode. Dabei erfahren die hochbeschleunigten Ionen durch einen inelastischen Stoß mit einem Neutralgas eine vom eigentlichen Ionenbildungsprozeß räumlich und zeitlich getrennte Anregung, die zu Bruchstücken der zu untersuchenden Ionen führt (vgl. ^[3]). Diese Fragmentationen werden in der ersten feldfreien Region eines doppelfokussierenden Massenspektrometers erzeugt und mit einer „Linked-Scan“-Einrichtung registriert^[4].

Die FD-CA-Massenspektren der drei isomeren Alkyldenammonium-Ionen (1)–(3) (Abb. 1), durch Felddesorption aus den Tetrafluoroboraten erzeugt^[5], unterscheiden sich vor allem durch die Intensitätsverhältnisse der Hauptfragmentationen. Das Ion (1) zerfällt überwiegend durch Heterolyse der N—C_{Benzyl}-Bindung in ein C₇H₇⁺-Ion ($m/e=91$). Dieser Ladungstransfer vom N-Atom zum aromatischen Ring wird auch beim Ion (2) beobachtet, doch ist die Bildung der C₇H₇⁺-Ionen aus (2) und auch aus (3) mit einer Wasserstoffwanderung verbunden. Für die Eliminierung von N-Methylmethylenamin aus (1) wird offenbar weniger Energie benötigt als bei den Ionen (2) und (3), da der Anteil an konkurrierenden Zerfällen bei (2) und (3) beträchtlich zunimmt. Das $[M^+ - CH_3]$ -Ion ($m/e=118$) erreicht im CA-Spektrum von (2) ca. 60% der Intensität des C₇H₇⁺-Ions und erscheint im Spektrum vom Ion (3) als Basispeak.

Die N,N-Dimethylaminotropylium-Struktur sowohl beim Ion (3) als auch partiell nach Isomerisierung von (2) wird durch das Auftreten der im Vergleich zum CA-Spektrum von (1) intensiveren Signale bei $m/e=90$ und 89 belegt. Die Bildung dieser Ionen läßt sich durch Homolyse der C—N-Bindung bzw. durch N,N-Dimethylamin-Eliminierung erklären. Wie bei Phenylalkyl-substituierten Ammonium-Ionen^[4] wird bei den Ionen (1) und (2) die Eliminierung von 52 Masseneinheiten ($m/e=82$), bei (3) von 26 Masseneinheiten ($m/e=108$) beobachtet. Trotz der geringen Signalintensität

[**] Dr. H. J. Veith

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Technischen Hochschule
Petersenstraße 22, D-6100 Darmstadt

[**] 4. Mitteilung über stoßinduzierte Fragmentierungen von felddesorbierten Kationen. Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt; Herrn M. Fischer danke ich für die experimentelle Mitarbeit. – 3. Mitteilung: H. J. Veith, Adv. Mass Spectrom. 8, im Druck.

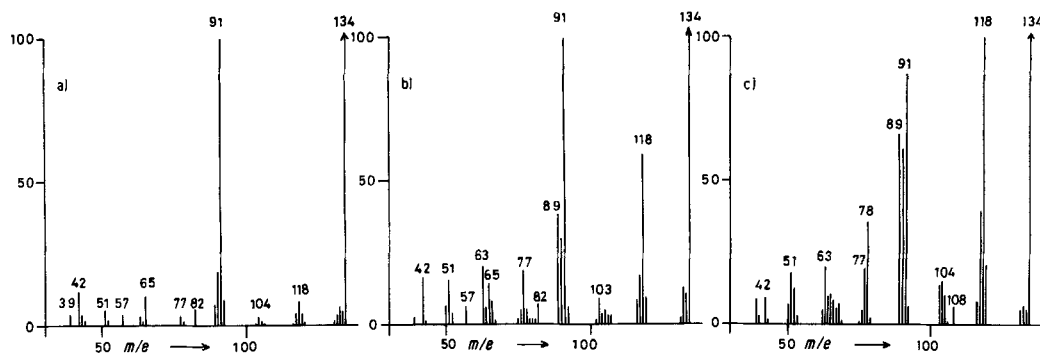
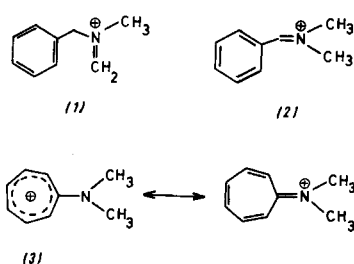
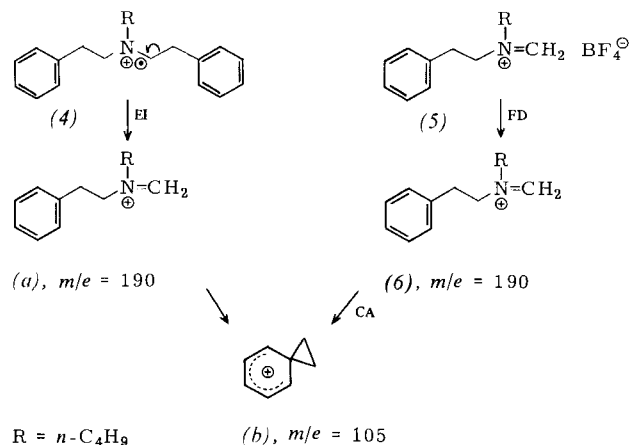


Abb. 1. FD-CA-Massenspektrum a) vom *N*-Benzyl-*N*-methylmethylenammonium-Ion (1), b) vom *N,N*-Dimethylbenzylidenammonium-Ion (2), c) vom *N,N*-Dimethylaminotropylium-Ion (3).

ermöglichen diese Fragmente eine Antwort auf die Frage nach der Ladungslokalisierung. Positiv geladene aromatische Systeme eliminieren sowohl unter CA- als auch bekanntermaßen unter Elektronenstoß-Bedingungen ein Molekül Acetylen, dagegen werden aus ungeladenen Benzolringen unter CA-Bedingungen durch Neutralteil-Fragmentierung direkt zwei Acetylenmoleküle abgespalten.



Neben der Anwendung zur Strukturanalyse eröffnet die FD-CA-Methode neue Wege zu vergleichenden Studien über Gasphasenfragmentierungen von Alkylidenammonium-Ionen, die nach Elektronenstoß-(EI-)Anregung durch α -Spaltung aus den Molekülonen von Alkylaminen oder unter FD-Bedingungen aus Alkylidenammoniumsalzen erzeugt wurden. Aus dem Molekülion von *N,N*-Bis(β -phenylethyl)butylamin (4) entsteht unter EI-Bedingungen durch α -Spaltung das Methylenammonium-Ion a ($m/e=190$), das nach homobenzylischer Heterolyse unter Abspaltung von *N*-Methylenbutylamin in das Ion b ($m/e=105$) zerfällt (vgl. Schema 1^[6]). Diese mit einem Ladungstransfer vom N-Atom zum Benzolring verbundene Reaktion ist ebenfalls die Hauptre-



Schema 1. Hauptfragmentierung des Methylenammonium-Ions a bzw. (6), das durch α -Spaltung im Elektronenstoß-ionisierten Molekülion von (4) oder aus dem Tetrafluoroborat (5) unter FD-CA-Bedingungen erzeugt wurde.

aktion beim stoßinduzierten Zerfall des aus dem Salz (5) freigesetzten Ions (6). Aus den innerhalb der Meßgenauigkeit übereinstimmenden Intensitäten der aus (4) und (6) erzeugten $C_7H_7^+$ -Ionen ($m/e=91$) wird gefolgert, daß die im EI-Massenspektrum der Verbindung (4) registrierten $C_7H_7^+$ -Ionen durch Sekundärfragmentierung aus dem Iminium-Ion a gebildet werden und nicht, wie zunächst angenommen werden kann, durch Spaltung einer Benzylbindung im Molekülion von (4). Weitere Übereinstimmungen zwischen dem EI- und dem FD-CA-Spektrum werden für die in der Elektronenstoß-Massenspektrometrie bekannten Propen- und Buten-Eliminierungen ($m/e=148$ bzw. 134) festgestellt^[7] (vgl. Tabelle 1).

Tabelle 1. Auszug aus dem EI-Massenspektrum (70 eV) von (4) und aus dem FD-CA-Massenspektrum von (6); Intensitätsangaben in [%].

m/e	148	146	134	132	105	98	91	84
FD-CA-MS von (6)	15	49	7	16	100	31	13	10
EI-MS von (4) [a]	11	1	8	0.5	100	3	16	0.7

[a] Die angegebenen Häufigkeiten sind auf $m/e=105 \pm 100\%$ normiert; $m/e=190 \pm 140\%$.

Anders als bei den Elektronenstoß-induzierten Fragmentierungen treten im CA-Spektrum von (6) Signale für die Eliminierung von Propan ($m/e=146$), Butan ($m/e=132$), Toluol ($m/e=98$) und Ethylbenzol ($m/e=84$) auf, wobei für die Spaltung von Allylbindungen die intensiveren Signale registriert werden. Das bei einer Alkan-Abspaltung mit der austretenden Gruppe zu eliminierende H-Atom stammt nicht – wie D-Markierungsexperimente zeigen – aus der Alkylidenammoniumfunktion. Aufgrund der Befunde bei alkylierten Methylenammonium-Ionen^[8] wird für die bei der Alkan-Eliminierung gebildeten Ionen eine Cycloalkylidenammonium-Struktur postuliert. Während Alkan-Eliminierungen unter EI-Bedingungen – wenn überhaupt – nur in geringem Ausmaß als Sekundärfragmentierungen von Alkylaminen beobachtet werden, erscheinen sie als stoßinduzierte Hauptfragmentierungen bei feldesorbieren Alkylidenammonium-Ionen. Darüber hinaus werden Alkan-Abspaltungen auch bei anderen „closed shell“-Ionen, z. B. bei quartären Ammonium-Ionen^[4, 9a] und bei den durch chemische Ionisation zugänglichen protonierten Aminen^[9b] als stoßinduzierte Hauptabbaureaktionen registriert.

Eingegangen am 3. Oktober 1979,
in veränderter Fassung am 24. April 1980 [Z 493]

- [1] a) H. Böhme, H. G. Viehe: Iminium Salts in Organic Chemistry. Wiley, New York 1976; b) R. Merényi in [1a], Part 1, S. 23.
- [2] H. J. Veith, Org. Mass Spectrom. 11, 629 (1976).
- [3] a) K. Leusen, H. Schwarz, Angew. Chem. 88, 589 (1976); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 15, 509 (1976); K. Leusen: Fundamental Aspects of Organic Mass Spectrometry. Verlag Chemie, Weinheim 1978.
- [4] M. Fischer, H. J. Veith, Helv. Chim. Acta 61, 1038 (1978).

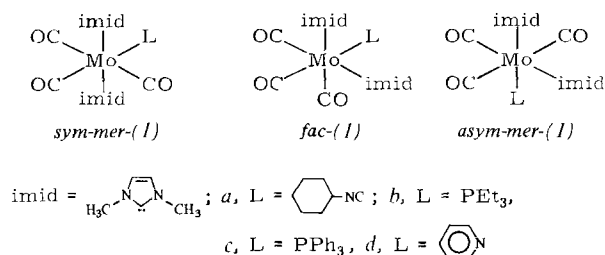
- [5] Die Methylenammoniumsalze erhielt man durch Kondensation des entsprechenden *sec*-Ammonium-tetrafluoroborates mit gasförmigem Formaldehyd; Herstellung von *N,N*-Dimethylbenzylidenammonium-tetrafluoroborat: T. R. Keenan, N. J. Leonard, J. Am. Chem. Soc. 93, 6567 (1971); Herstellung von *N,N*-Dimethylaminotropylium-tetrafluoroborat: E. Haug, B. Fohlsch, Chem. Ber. 104, 2338 (1971).
- [6] a) W. J. Richter, W. Vetter, Org. Mass Spectrom. 2, 781 (1969); b) P. A. Weibel, M. Hesse, Helv. Chim. Acta 56, 2460 (1973).
- [7] a) R. S. Gohlke, F. W. McLafferty, Anal. Chem. 34, 1281 (1962); b) C. Djerassi, C. Fenselau, J. Am. Chem. Soc. 87, 5752 (1965).
- [8] H. J. Meyer, Staatsexamensarbeit, Technische Hochschule Darmstadt 1979; H. J. Veith, noch unveröffentlicht.
- [9] a) R. H. Gierlich, F. W. Röllgen, F. Borchers, K. Leusen, Org. Mass Spectrom. 12, 387 (1977); b) M. L. Sigsby, R. J. Day, R. G. Cooks, ibid. 14, 556 (1979).

Elektrochemische Oxidation von Dicarben-Komplexen des Typs $(\text{Carben})_2\text{MoL}(\text{CO})_3$: Gegenseitige Umwandlung dreier Isomere über elektrochemische Redox-Prozesse^[**]

Von Reuben D. Rieke, Hiroyuki Kojima und Karl Öfele^[*]

Carben-Carbonyl-Metall-Komplexe werden derzeit intensiv untersucht^[1]. Öfele und Herberhold haben vor einiger Zeit *cis*- und *trans*-Dicarben-tetracarbonylmetall-Komplexe synthetisiert^[2]. 1976 beobachteten wir bei *trans*-Komplexen dieser Art eine elektrochemische Isomerisierung ohne äußeren Stromfluß^[3].

Wir fanden jetzt weitere ungewöhnliche Isomerisierungen bei Neutralligand-substituierten Dicarbentetracarbonylmolybdän-Komplexen des Typs $(\text{imid})_2\text{MoL}(\text{CO})_3$ (1): Die drei Isomere wandeln sich über elektrochemische Redoxprozesse ineinander um.



Die Verbindungen (1a-c) wurden durch Ligandenaustausch aus $(\text{imid})_2\text{Mo}(\text{py})(\text{CO})_3$ (1d) hergestellt, das photochemisch aus $(\text{imid})_2\text{Mo}(\text{CO})_4$ (2) erhalten worden war, und durch IR- und NMR-Spektren als *sym-mer*-Isomere identifiziert. *sym-mer* (1) wurde in Dichlormethan und Propylencarbonat mit Tetrabutylammoniumperchlorat (TBAP) als Leitelektrolyt elektrochemisch oxidiert. Da die Komplexe (1), außer (1a), stark luftempfindlich sind, mußte unter Luftausschluß und – zur Unterdrückung ungewollter Isomerisierungen – bei tiefer Temperatur gearbeitet werden.

Cyclische Voltammetrie von *sym-mer*-(1a) ergab zwei Oxidationsstufen bei den Spitzenpotentialen $E_p^a = -0.20$ und

0.09 V (vs. SCE) in Dichlormethan (Abb. 1a). Dieses Voltammogramm ist dem von *trans*-(2) sehr ähnlich^[3]. Die Amplitude der ersten Stufe ist bei Raumtemperatur und/oder bei geringerer Registrierungsgeschwindigkeit viel kleiner.

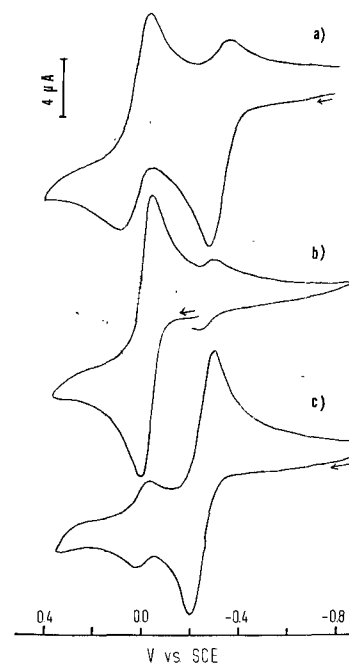


Abb. 1. Cyclische Voltammogramme von $(\text{imid})_2\text{Mo}(\text{CN-cyclo-C}_6\text{H}_{11})(\text{CO})_3$ (1a) in 0.25 M TBAP/Dichlormethan bei -20°C ; 0.20 V/s. a) Ausgangslösung, *sym-mer*-(1a); b) nach Elektrooxidation der ersten Stufe; Umwandlung in *fac*-(1a); c) nach Elektrooxidation der zweiten Stufe und anschließender Elektroreduktion der dritten Stufe; Umwandlung in *asym-mer*-(1a).

Die Elektrolyse der intensiv gelben Lösung war in einigen Minuten beendet; es wurde weniger als 10% der für Einelektronenoxidation erforderlichen Strommenge verbraucht. Das cyclische Voltammogramm der resultierenden blaßgelben Lösung zeigte, daß die Entstehung der zweiten Stufe annähernd reversibel war (Abb. 1b). Dieser Prozeß entsprach laut Coulometrie einer normalen Einelektronenoxidation. Bei erneuter Reduktion trat jedoch eine Stufe beim Kathodenpotential $E_p^c = -0.27$ V auf. Dies legt nahe, daß sich das Kation, das als zweite Stufe entsteht, in eine neue Spezies umwandelt; sie wurde durch Elektrooxidation der zweiten Stufe und anschließende Elektroreduktion der dritten Stufe als Neutralkomplex erhalten und durch ihr Voltammogramm identifiziert.

Die beiden neuen Spezies, die den Stufen bei $E_p^a = 0.09$ V und $E_p^b = -0.20$ V entsprechen, wurden nach Elektrolyse durch Entfernung von TBAP isoliert und durch NMR- und IR-Spektren identifiziert. Die Methylprotonen des Liganden imid (N-CH_3) der zweiten Spezies zeigen ein einziges Signal bei $\delta = 3.42$ (60 MHz, TMS int., in C_6D_6), das um 0.5 ppm gegenüber dem Signal von *sym-mer*-(1a) ($\delta = 3.86$) nach höherem Feld verschoben war; zum Vergleich: $\delta = 3.98$ für *trans*-, 3.62 für *cis*-(2) (TMS int., $[\text{D}_6]\text{Aceton}$). Die daraus abgeleitete Zuordnung der zweiten Spezies als *fac*-(1a) wird auch durch die Ähnlichkeit des elektrochemischen Verhaltens von (1a) und *trans*-(2) gestützt. Bei der dritten Spezies erscheinen die Methylprotonen als Dublett mit ähnlicher chemischer Verschiebung wie bei *fac*-(1a) ($\delta = 3.33, 3.29$; TMS int., in C_6D_6). Dieser Spezies wird die Struktur des verbleibenden *asym-mer*-Isomers zugeordnet.

Eine zusätzliche Stütze dieser Zuordnungen bietet die $\text{C}\equiv\text{N}$ -Streckfrequenz des Isocyanid-Liganden in (1a)^[4].

[*] Prof. Dr. R. D. Rieke, H. Kojima
Department of Chemistry, University of Nebraska-Lincoln
Lincoln, Nebraska 68588 (USA) und William Rand Kenan, Jr., Laboratories
of Chemistry, Department of Chemistry, University of North Carolina, Chapel
Hill, North Carolina 27514 (USA)

Dr. K. Öfele
Anorganisch-chemisches Institut der Technischen Universität München
Lichtenbergstraße 4, D-8046 Garching

[**] Diese Arbeit wurde von der National Science Foundation unterstützt.