

Veränderungen im Deuteriumgehalt bei partiell optisch aktiven, festen Verbindungen im Massenspektrometer

*Uwe-J. Záhorszky und Hans Musso**

Institut für Organische Chemie der Universität Karlsruhe, D-7500 Karlsruhe 1,
Richard-Willstätter-Allee 2

Eingegangen am 13. August 1973

Am Beispiel von 3,3'-Dijodbimesityl (**1**), Mandelsäure (**2**) und 1-Phenyläthylamin-hydrochlorid (**3**·HCl) wird gezeigt, daß bei der Isotopenanalyse partiell deuterierter und partiell optisch aktiver Präparate Schwankungen im Deuteriumgehalt bis zu 12% auftreten, wenn feste Proben ins Massenspektrometer eingeführt und wiederholt gemessen werden. Dieser Effekt beruht auf unterschiedlichem Deuteriumgehalt der Enantiomeren und Differenzen in den Verdampfungsgeschwindigkeiten von überschüssigem Enantiomerem und Racemat.

Variations in the Deuterium Content of Partially Optically Active Solid Compounds in the Mass Spectrometer

When solid samples of partially deuterated and partially optically active compounds were analyzed for their isotope content by mass spectrometry changes have been observed up to 12% in repeated measurements, as shown with 3,3'-diiodobimesityl (**1**), mandelic acid (**2**), and 1-phenylethylamine hydrochloride (**3**·HCl). This effect is caused by differences in the isotope content of the enantiomers in addition to different rates of vapourization of the predominant enantiomer and the racemate.

In der Regel lassen sich massenspektrometrische Isotopenanalysen auch bei direkter Probeneinführung ohne Schwierigkeiten mit befriedigender Genauigkeit von ± 0.3 bis $\pm 0.4\%$ ausführen, wenn von der gleichen Probe der Massenbereich des Moleküls mehrmals hintereinander aufgenommen wird. Kristallisiertes Material muß natürlich vollkommen homogen sein. Auf mögliche Fehler durch Anreicherung einer isotop-isomeren Spezies beim Kristallisieren z. B. im Falle deuterierter Bernsteinsäuren haben bereits Rétey, Seibl, Arigoni, Cornforth, Ryback, Zeylemaker und Veeger¹⁾ hingewiesen.

Bei der Deuteriumanalyse partiell deuterierter und partiell optisch aktiver Proben von 3,3'-Dijod-[5,5'- 2 H₂]bimesityl (**1**) traten z. T. erhebliche Schwankungen im Deuteriumgehalt auf, die sich nicht durch Änderungen des Probendampfdruckes sowie durch Massendiskriminierungs- und Isotopeneffekte erklären ließen²⁾. Ein Präparat enthielt z. B. partiell optisch aktives nicht deuteriertes **1(S)**, partiell optisch aktives Monodeuterio-**1(R)** und optisch reines Dideuterio-**1(S)**. Wie aus Abb. 1 ersichtlich, nimmt bei wiederholten Messungen derselben Probe der Gehalt an [2 H₁]-**1**

¹⁾ J. Rétey, J. Seibl, D. Arigoni, J. W. Cornforth, G. Ryback, W. P. Zeylemaker und C. Veeger, Eur. J. Biochem. 14, 232 (1970).

²⁾ M. Bloch, N. Lau, H. Musso und U.-J. Záhorszky, Chem. Ber. 105, 1790 (1972).

($M^+ 491$) von 36.5 % auf 49.0 % zu und bei [$^2\text{H}_2$]-**1** ($M^+ 492$) von 47.3 % auf 37.3 % ab. Während des Verdampfungsvorganges erfolgt also keine Anreicherung der schweren Moleküle im Probenrückstand. Bei so geringen Massenunterschieden wäre ein so starker Effekt auch nicht zu erwarten gewesen.

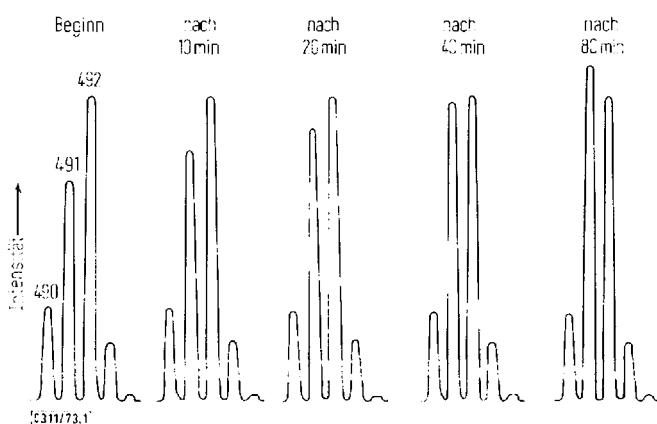
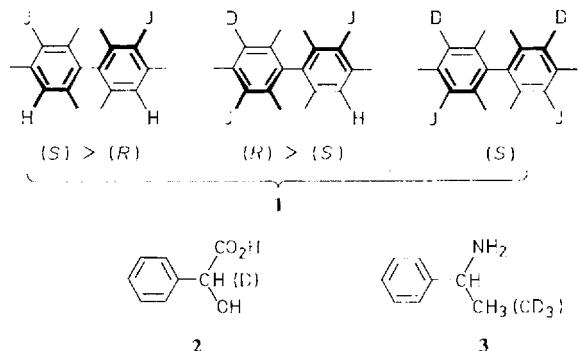


Abb. 1. Molekülionenbereich im Massenspektrum von partiell optisch aktivem, deuteriertem 3,3'-Dijodbimesityl (**1**) zu verschiedenen Zeiten nach direkter Probeneinführung

In dieser Probe liegen die Enantiomeren von **1** in unterschiedlicher Menge vor und haben deutlich verschiedene Deuteriumgehalte. Das Racemat ist schwerer löslich und schmilzt bei 176–178 °C, die reinen Enantiomeren bei 150–151 °C. Offensichtlich verdampft hier das überschüssige und an $^2\text{H}_2$ -Molekülen reichere Enantiomere rascher als das an $^2\text{H}_1$ -Molekülen reichere Racemat.

Um zu prüfen, ob dieser Effekt immer dann auftritt, wenn die Enantiomeren einer Verbindung nicht in gleicher Menge vorliegen, verschiedene Isotopengehalte haben und zudem ein echtes Racemat und keine Mischkristalle bilden, wurden als leicht zugängliche Vertreter möglichst unterschiedlicher Substanzklassen Mandelsäure (**2**) und 1-Phenyläthylamin-hydrochlorid (**3·HCl**) gewählt. In beiden Fällen war der Effekt deutlich zu beobachten.

Eine mechanische Mischung aus undeuterierter, optisch reiner Mandelsäure **2(S)** (Schmp. 134°C) und in α -Stellung zu 97.6 \pm 0.4% deuterierter, racemischer Mandelsäure [α -²H]-**2(R,S)** (Schmp. 120°C) im Verhältnis 2:1 zeigte bei direkter Probeneinführung ins Massenspektrometer die in Abb. 2a wiedergegebene Abhängigkeit des [α -¹H]-**2** Gehaltes von der relativen Verweilzeit der Probe im Gerät bei 47 und 55°C Verdampfungstemperatur. Diese im Verlauf unrepräsentierbaren, aber stets auftretenden Schwankungen beruhen auf Inhomogenitäten in der zufälligen Mischung. Nach Auflösen und raschem Auskristallisieren erhält man ein homogenes Material, das einen gut reproduzierbaren steten Anstieg des [α -¹H]-**2** Gehaltes im Laufe der Messungen liefert (Abb. 2b). Bei einer Probentemperatur von 47°C steigt der Gehalt an nicht deuterierter **2** von 57.2 auf 67.3 % von der ersten Messung nach der Probeneinführung bis zum nahezu vollständigen Verbrauch der Probe; bei 55°C von 57.5 bis 67.0 %. Der Temperaturunterschied von 8°C hat auf die Größe des Effektes (10%) kaum einen Einfluß, obwohl bei der höheren Temperatur die gleiche Substanzmenge viel rascher verdampft. Der Effekt ist erstaunlich groß, wenn man bedenkt, daß beim Mischungsverhältnis von 2:1 das überschüssige reine Enantiomere ca. 20% und das

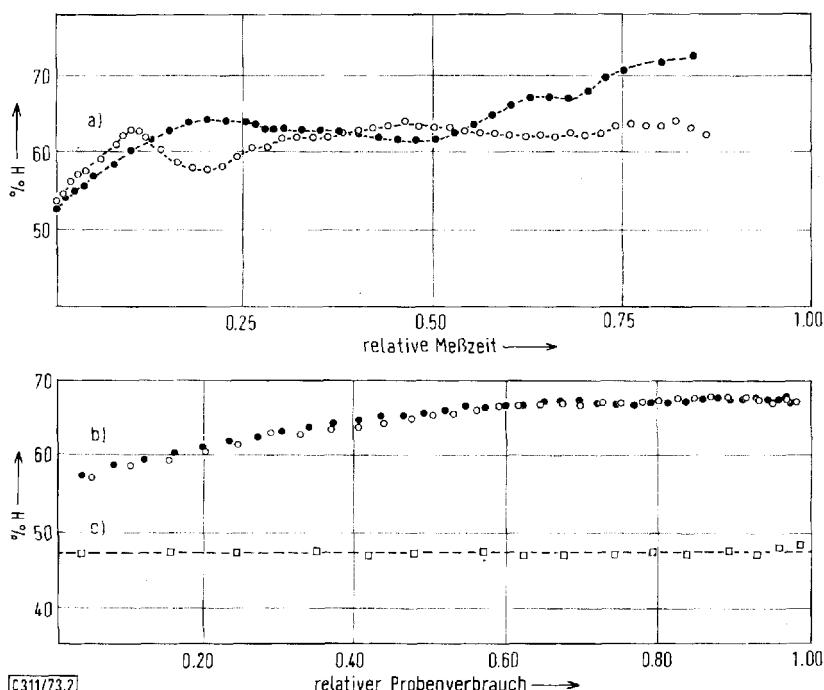


Abb. 2. Gehalt an nicht deuterierter Mandelsäure [α -¹H]-**2** im M^+ -Ionenbereich des Massenspektrums a) in Abhängigkeit von der relativen Meßzeit, b) und c) vom relativen Verbrauch der Probe — ● — bei 55°C, — ○ — bei 47°C, — □ — bei 51°C. a) Mechanische Mischung aus 2 Teilen (+)-[α -¹H]Mandelsäure (**2(S)**) und einem Teil racem. [α -²H]Mandelsäure (**2(R,S)**). b) wie a), jedoch rasch aus Chloroform/Cyclohexan umkristallisiert
c) Mischung aus racem. [α -¹H]- und racem. [α -²H]-**2(R,S)** im Verhältnis 1:1 rasch umkristallisiert

Racemat ca. 60% Deuterium enthalten. Mittelt man den Deuteriumgehalt über die gesamte Meßzeit, so findet man für 47 und 55°C übereinstimmend 36.0 und 35.8 ± 0.4%.

Bereitet man eine Probe durch Umkristallisieren gleicher Teile racemischer nicht deuterierter und racemischer deuterierter Mandelsäure (2), so wird der Isotopengehalt während der gesamten Verdampfungszeit innerhalb des Meßfehlers konstant (47.0 ± 0.4%) angezeigt (Abb. 2c). Dieser Versuch beweist, daß während der Messungen kein Isotopeneffekt beim Verdampfen nachweisbar ist.

Ein entsprechendes Bild liefert ein umkristallisiertes 2:1-Gemisch aus undeuteriertem optisch reinem 1-Phenyläthylamin-hydrochlorid [$\text{CH}_3\text{-}3(S)\cdot\text{HCl}$] (Schmp. 171°C) und an der Methylgruppe deuteriertem, aber racemischem [$\text{C}^2\text{H}_3\text{-}3(R,S)\cdot\text{HCl}$] (Schmp. 159°C) (Abb. 3a). Der CH_3 -Gehalt steigt während der Meßreihe von 69.0 auf 76.5%³⁾, hier also um 7.5%. Ein 2:1-Gemisch aus racemischen Präparaten von [$\text{CH}_3\text{-}3\cdot\text{HCl}$] und [$\text{C}^2\text{H}_3\text{-}3\cdot\text{HCl}$] zeigt wieder einen zeitlich konstanten Verlauf mit 73% [$\text{CH}_3\text{-}3\cdot\text{HCl}$]³⁾ (Abb. 3b).

Zur Prüfung auf einen eventuellen Isotopeneffekt beim Verdampfen, der entgegengesetzt verlaufen sollte, wenn man den [C^2H_3]-Molekülen einen etwas niedrigeren Dampfdruck zuschreibt, wurde auch eine 1:1-Mischung aus den freien, flüssigen Aminen [$\text{CH}_3\text{-}3(S)$] und [$\text{C}^2\text{H}_3\text{-}3(R,S)$] über das Gaseinlaßsystem des Gerätes in 6 etwa gleichgroßen Fraktionen durch das Vorratsgefäß eingeführt. Die Intensitätsverhältnisse im M^+ -Bereich der Spektren ließen trotz des relativ großen Massenunterschiedes von 121 zu 124 innerhalb des Meßfehlers von ±0.4% keine Veränderung erkennen (Abb. 3c).

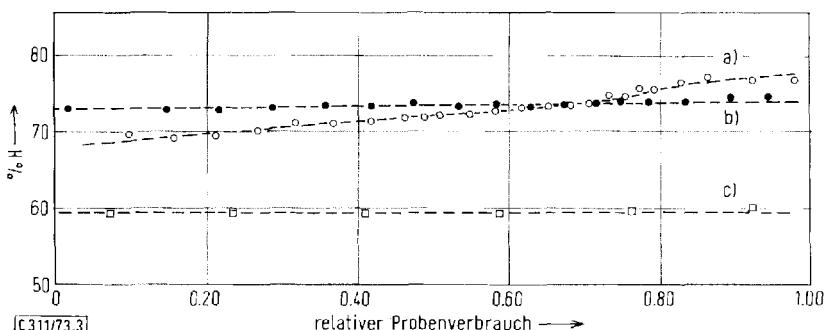


Abb. 3. Gehalt an nicht deuteriertem 1-Phenyläthylamin [$\text{CH}_3\text{-}3$] in Abhängigkeit vom relativen Probenverbrauch bei 70°C.

- a) —○— 2:1-Mischung aus optisch reinem (—)- $\text{[CH}_3\text{-}3(S)\cdot\text{HCl}]$ und racem. [$\text{C}^2\text{H}_3\text{-}3(R,S)\cdot\text{HCl}$] aus Methanol mit Äther gefällt und direkt eingeführt
- b) —●— wie a), aber beide Präparate racemisch
- c) —□— flüssige 1:1-Mischung aus (—)- $\text{[CH}_3\text{-}3(S)}$ und racem. [$\text{C}^2\text{H}_3\text{-}3(R,S)$] bei indirekter Probeneinführung

³⁾ Der wirkliche Gehalt an nicht deuteriertem $\text{[CH}_3\text{-}3\cdot\text{HCl}]$ ist niedriger, da die deuterierte Probe nur 60% [C^2H_3]-Moleküle und dafür natürlich auch $[\text{CH}_2\text{H}_2]$ - und $[\text{CH}_2\text{H}]$ -Moleküle enthält. Die Auswertung erfolgte nur an den CH_3 - (m/e 121) und C^2H_3 -Peaks (m/e 124).

Es fällt auf, daß bei **1** während der Meßreihe das monodeuterierte Isotopisomere aus dem Racemat angereichert wird, bei **2** und **3·HCl** aus dem 2:1-Gemisch von Enantiomeren und Racemat dagegen die undeuterierten Moleküle, die im überschüssigen Enantiomeren der Ausgangsmischungen überwiegen. Dieses ist leicht zu erklären, wenn man annimmt, daß die bekannten Schmelzkurven sich auch im Phasendiagramm fest-gasförmig widerspiegeln. Bei **1** liegt das Eutektikum zwischen Racemat und Enantiomeren bei ca. 85 % (145°C) Enantiomeren und 15 % Racemat, bei **2** und **3·HCl** umgekehrt bei ca. 25 und 75 %. Die untersuchten Proben liegen bei **1** in der Zusammensetzung zwischen dem Eutektikum und dem Racemat, bei **2** und **3·HCl** zwischen Eutektikum und Enantiomeren.

Die genaue Beziehung zwischen den Phasendiagrammen fest-flüssig und fest-gasförmig und der Einfluß auf den hier beobachteten Effekt ist nicht bekannt und wurde nicht näher untersucht.

Zuletzt mag man fragen, ob durch den an diesen „künstlichen“ Mischungen studierten Effekt nicht eine Fehlermöglichkeit bei der massenspektrometrischen Isotopenanalyse aufgedeckt wurde, die praktisch keine Rolle spielt. Dazu sei bemerkt, daß der Effekt ja zuerst am Beweis der Chiralität des [3,3'-²H₂]Bimesityls beobachtet wurde²⁾, und daß die Gefahr solch eines Fehlers immer auftritt, wenn optisch aktive, partiell isotopmarkierte Verbindungen vorliegen und die optische Reinheit nicht vollständig oder nicht sehr genau bekannt ist, z. B. beim Verdünnen mit markiertem oder nicht markiertem Material.

Dem *Fonds der Chemischen Industrie* danken wir für die Unterstützung, den Herren U. Tanger und W. Waigel für sorgfältige Mitarbeit.

Experimenteller Teil

Die Massenspektren wurden mit einem Varian MAT CH5-Gerät aufgenommen. Die festen Proben wurden mit kühl- und heizbarer Schubstange direkt eingeführt und innerhalb von 2 s auf die jeweils angegebene Temp. erhitzt. Die flüssigen Proben gelangten über das Einlaßsystem EMI mit angebautem Gaseinlaßteil in das Gerät. Die Elektronenenergien betrugen: **1** 70, **2** 15 und **3** sowie **3·HCl** 13 eV, die Intensitäten wurden auf $\pm 0.4\%$ bestimmt. Am Ende der Meßreihe betrug der Fehler bei **2** und **3·HCl** wegen der geringen Intensität bis max. $\pm 1\%$. Darstellung von **1** siehe l. c.²⁾. Optische Drehungen bestimmte man am Perkin Elmer-Polarimeter 141: (+)-**2(S)**: $[\alpha]_D^{25} = +157.4^\circ$ (*c* = 0.005, Aceton) (Lit.⁴⁾ +155.2°, *c* = 1.6, Aceton). (-)-**3(S)**: $[\alpha]_D^{25} = -41.1^\circ$ (*c* = 0.02, Benzol) (Lit.⁵⁾ -40.3°, unverdünnt).

*[α-²H]Mandelsäure ([α-²H]-**2**):* Zur Lösung von 1.5 g Natrium in 8.0 g Deuteriumoxid (99.5 %) gab man 1.0 g Mandelsäure und erhitzte unter Feuchtigkeitsausschluß 4 h auf 100°C. Dann tropfte man das Reaktionsgemisch in 60 ml 2 N HCl. Durch Ausäthern, Trocknen, Abdampfen und Umkristallisieren aus Chloroform/Cyclohexan erhielt man 0.62 g $[\alpha-^2\text{H}]\text{-}2$ vom Schmp. 120°C mit 97.6 \pm 0.4 % ²H.

*1-Phenyl-[C₂H₃]äthylamin ([C₂H₃]-**3**):* 2.50 g [C₂H₃]Acetophenon mit 75 % ²H₃ und 4.20 g durch zweimaliges Umkristallisieren aus Deuteriumoxid deuteriertes Ammoniumförmiat

⁴⁾ H. Grimsell, Ark. Kemi **15B**, 6 (1942).

⁵⁾ W. Theilacker und H. G. Winkler, Chem. Ber. **87**, 690 (1954).

wurden zweimal mit je 1.0 g ${}^2\text{H}_2\text{O}$ versetzt, kurz rückfließend gekocht und durch Abdampfen von Wasser befreit. Anschließend führte man die Leuckart-Wallach-Reaktion nach Lit.⁶⁾ durch und erhielt nach Destillation 1.20 g [CD₃]-3 mit [${}^2\text{H}_3$] 60 ± 3%, [${}^2\text{H}_2$] 35 ± 3% und [${}^2\text{H}_1$] 5 ± 2%. Der absolute Fehler ist hier viel größer als der relative bei den Messungen in Abb. 3, da die Auswertung hier durch das M-1-Ion gestört wird.

Die Hydrochloride von 3 wurden erhalten, indem Lösungen von 3 in Methanol mit methanol. Salzsäure versetzt und abgedampft wurden. Die Rückstände kristallisierte man aus Methanol/Aceton um, Ausb. ca. 90 %. (-)-3(S)·HCl Schmp. 171°C, [C²H₃]-3(R,S)·HCl Schmp. 159°C.

⁶⁾ Org. Synth. Coll. Vol. III, 503.