

SCHLÜSSELBRUCHSTÜCKE UND SCHLÜSSELDIFFERENZEN ALS KRITERIUM BEI DER DATENERFASSUNG VON MASSENSPEKTREN

G. v. UNRUH, M. SPITELLER-FRIEDMANN und G. SPITELLER*

Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen

(Received in Germany 20 February 1970; Received in the UK 13 March 1970)

Zusammenfassung—Charakteristika der Massenspektren von Verbindungen mit funktionellen Gruppen sind Molekulargewicht, Schlüsselbruchstücke und Schlüsseldifferenzen. Auf diesem Prinzip haben wir ein einfaches System zur Datenerfassung zunächst für Steroidmassenspektren aufgebaut. Es ermöglicht eine rasche Identifizierung bekannter Steroide und gibt Hinweise für vorhandene Strukturelemente in unbekannten. Das System ist so einfach, dass eine Suche schon mit Rechenanlagen kleinster Speicherleistung oder mit einem Lochkartensystem möglich ist.

Abstract—Molecular weight, key fragments and key differences are characteristic of mass spectra of compounds containing functional groups. We established on this basis a simple system for data processing—first for steroids. It allows a fast identification of known steroids and provides hints about functional groups in unknowns. The system is so simple that a search is possible with a computer of smallest size or even with a punch card system.

ALLE Verfahren zur massenspektrometrischen Identifizierung organischer Verbindungen basieren auf dem Vergleich von Spektren, wobei als Charakteristika Molekulargewicht (eventuell Bruttoformel) und Ionen höchster Intensität herangezogen werden. Im einfachsten Fall werden nur die 6 oder 10 Ionen höchster Intensität berücksichtigt,¹ in etwas ausgefeilten Systemen die intensitätsstärksten Ionen einer Ionengruppe.² Diese Verfahren sind brauchbar, wenn es sich um die Identifizierung von Verbindungen niedrigen Molekulargewichtes handelt, denn diese bilden beim massenspektrometrischen Abbau nur wenige Bruchstücke. Je höher die Molekulargewichte sind, um so grössere Schwierigkeiten ergeben sich aber: Vor allem das Aussehen von Massenspektren aliphatischer und alicyclischer Verbindungen ist sehr stark von den Aufnahmebedingungen und vom Gerätetyp abhängig, denn diese Verbindungen zerbrechen im Zuge von Vielstufenreaktionen. Wie weit Abbaureaktionen fortschreiten, hängt dann sehr von den durchschnittlichen Energieinhalten der Molekülionen ab, so dass mitunter beträchtliche Abweichungen in den Intensitätswerten zu beobachten sind. Bei entsprechend starker Anregung kann es daher zu einem weitgehenden Abbau und damit zur Bildung intensitätsstarker, aber unspezifischer Ionen im niederen Massenbereich kommen.

Unbeeinflusst von den angewandten Bedingungen ist aber die *Richtung* der Abbaureaktionen: Aus ein und derselben Verbindung entstehen immer die *gleichen* Abbauprodukte, wenn auch in unterschiedlicher Intensität. Vergleichsverfahren sollten diesem Umstand Rechnung tragen und weniger Intensitätswerte als die Masse der wichtigsten

* Diese und die folgenden 3 Arbeiten sind Herrn Professor Dr. R. Tschesche zum 65. Geburtstag gewidmet.

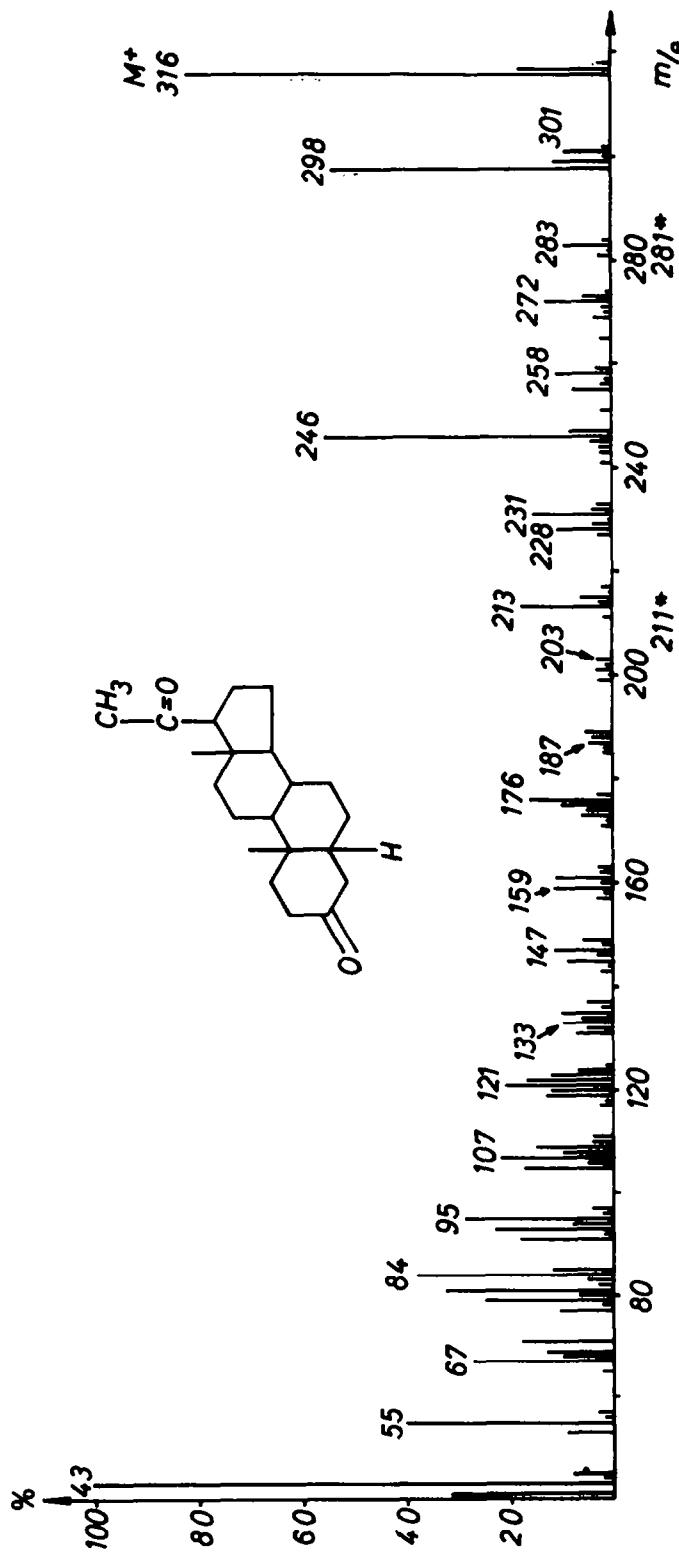


ABB 1a. Massenspektrum des 5 β -Pregnan-3,20-dions, aufgenommen mit einem Varian CH 4 Gerät, bei einer Ionenquellentemperatur von 90° und einer Elektronenenergie von 70 eV.

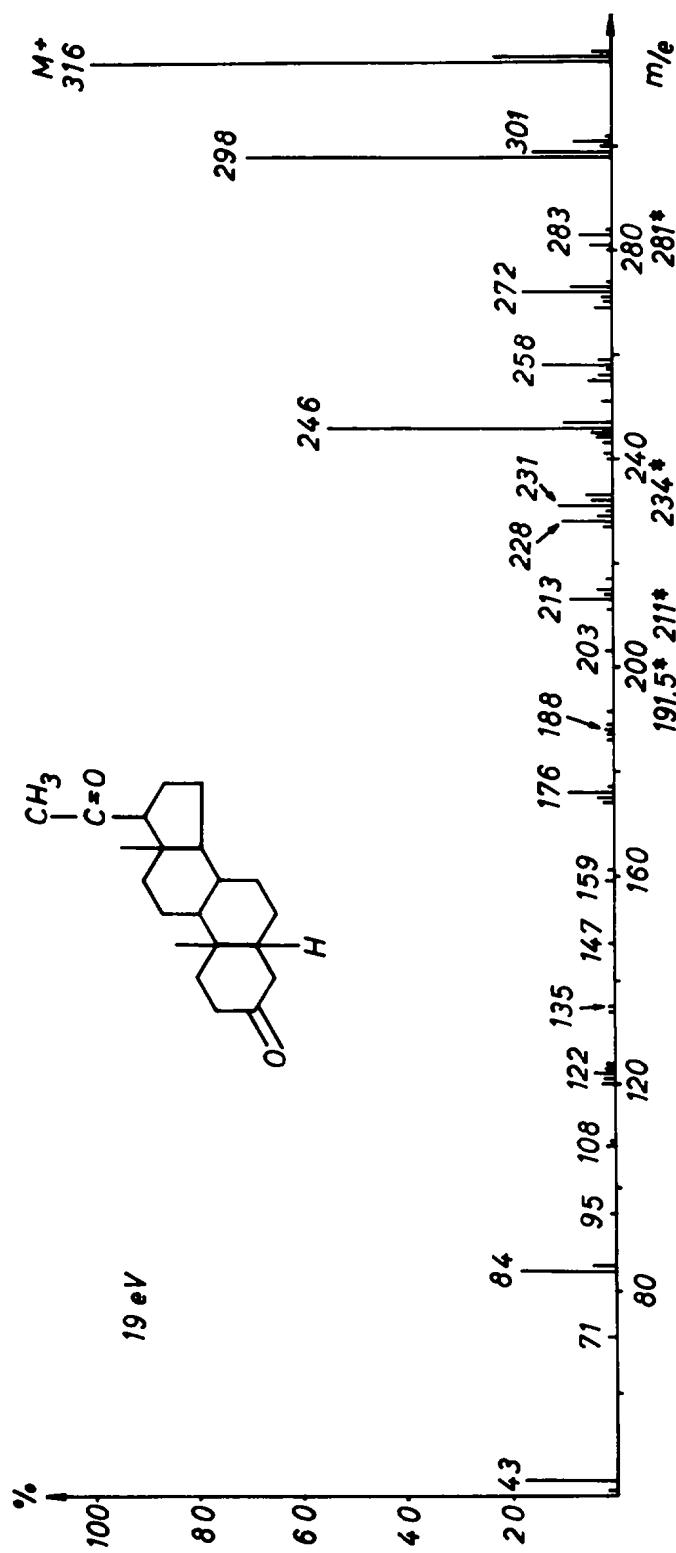


ABB 1b. Massenspektrum der gleichen Verbindung, aufgenommen mit einer Elektronenenergie von 19 eV, alle an deren Bedingungen wurden gleich gehalten.

Abbauprodukte—von Schlüsselbruchstücken und Schlüsseldifferenzen—berücksichtigen.

Schlüsselbruchstücke zeichnen sich durch ungewöhnliche Masse und/oder ungewöhnlich hohe Intensität aus. Sie entstehen meist in einer einstufigen, wenig Energie beanspruchenden Abbaureaktion und geben daher Aufschluss über vorhandene Strukturelemente. Sie lassen sich besonders leicht erkennen, wenn die Anregungsenergie durch Verminderung der Ionenquellentemperatur und der Elektronenenergie herabgesetzt wird: Beispielsweise lässt das Massenspektrum des 5β -Pregnan-3, 20-dions, das bei einer Elektronenenergie von 19 eV aufgenommen wurde, die Schlüsselbruchstücke der Masse 43, 84, 176 und 246 klar hervortreten (Abb. 1). Ähnlich wertvolle Schlüsse über die Struktur einer Verbindung wie aus Schlüsselbruchstücken können aus Schlüsseldifferenzen über vorhandene funktionelle Gruppen gezogen werden.

Innerhalb einer Stoffklasse ist das Molekulargewicht das wichtigste Kriterium. Aus der Vergleichsspektrensammlung müssen daher zuerst alle Verbindungen gleichen Molekulargewichtes herausgeholt werden. Eine Eingrenzung erfolgt nun in einem zweiten Identifizierungsschritt durch Berücksichtigung der wichtigsten Schlüsselbruchstücke und Schlüsseldifferenzen. In der Regel lässt sich zumindest auf dem Steroidgebiet die Zahl möglicher Isomeren durch Angabe von 3–5 Schlüsselbruchstücken bzw. Schüsseldifferenzen auf 2–3 Spektren begrenzen. Zwischen den Isomeren kann dann am besten durch einen optischen Vergleich der Strichspektren unterschieden werden.

Wir haben sämtliche Daten aus bereits publizierten Steroidspektren und unserer eigenen, sehr umfangreichen Steroidspektrensammlung auf Randlochkarten gespeichert.

Jedes Spektrum wird auf zwei Randlochkarten DIN A 4 (300 Löcher) xerokopiert; auf der einen sind die Schlüsselbruchstücke markiert, auf der anderen die Schüsseldifferenzen.

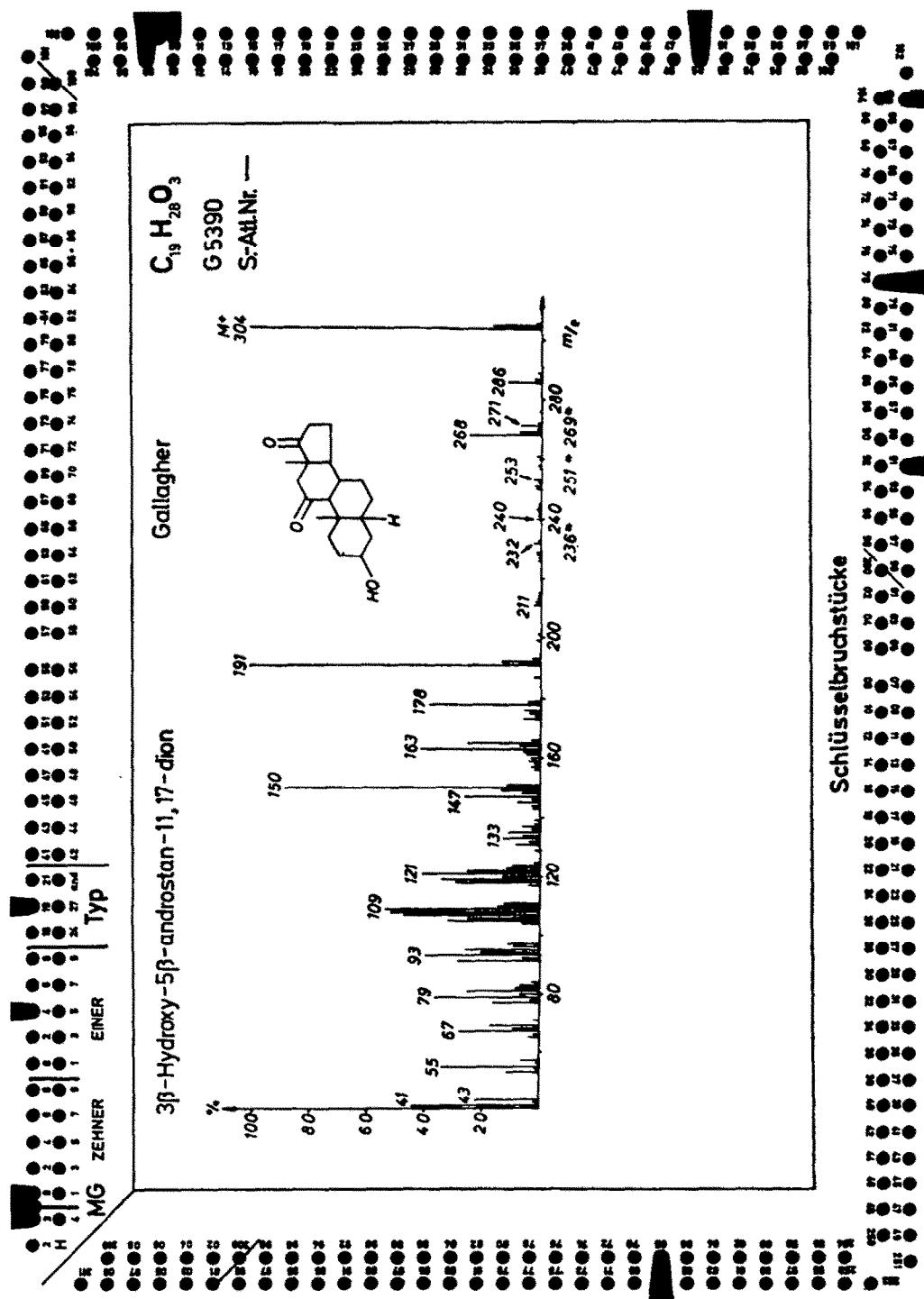
Die Unterscheidung zwischen freien Steroiden, Derivaten funktioneller Gruppen und sonst abgeänderter Verbindungen wird durch die Farbe der Karteikarten getroffen.

In jede Karte wird in der linken oberen Ecke das Molekulargewicht (je ein Loch je Hunderter, Zehner und Einer) eingelocht. Dann folgen die Löcher für den Gerüsttyp:

Aufdruck auf der Karte	Typ	Zahl der C-Atome
18	Östrane	18
19	Androstane	19
21	Pregnane	21
24	Cholane	24
27	Cholestane	27
and.	andere, z.B. Sterine	27

Daran schliessen sich bezifferte Löcher für Schlüsselbruchstücke bzw. Schlüsseldifferenzen (M-X Spalten) an.

Die Innenfläche jeder Karte zeigt das 70 eV-Strichspektrum des Steroids mit Strukturformel, seinen rationellen Namen, die Herkunft der verwendeten Probe, die Summenformel, die Nummer des Spektrums sowie die Nummer, unter der die Verbindung im Steroidspektratlas Neudert/Röpke³ verzeichnet ist. Darüber hinaus ist Platz für Literaturzitate.



Dieses einfache System ist vor allem zur Identifizierung von natürlich vorkommenden Steroiden geeignet: Bisher sind nämlich nur etwa 250 Steroide in Körperflüssigkeiten oder menschlichem Gewebe gefunden worden und eine derartige begrenzte Zahl von Verbindungen lässt sich ohne weiteres auch in einem Lochkartensystem speichern. Zur Zeit wird das Identifizierungsverfahren allerdings noch durch den Mangel an Vergleichsspektren beeinträchtigt.

Die auf Schlüsselbruchstückionen und Schlüsseldifferenzen basierende Spektrenkartei bietet ferner eine gute Möglichkeit zur Ermittlung von Teilstrukturen in unbekannten Steroiden: Aus der Kartei können mit wenigen Einstichen alle jene Spektren herausgeholt werden, die gleiche Schlüsselbruchstücke oder Schlüsseldifferenzen wie die unbekannte Verbindung zeigen. Decken sich mehrere Schlüsselbruchstücke im Spektrum der unbekannten Verbindung und der Vergleichsprobe, so kann mit einiger Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß beide Verbindungen gleiche Strukturelemente enthalten. Um diese Art der Identifizierung möglicher Teilstrukturen zu erleichtern, wurden die für einzelne Strukturelemente typischen Schlüsselbruchstücke und Schlüsseldifferenzen in Tabellenform zusammengestellt.

Da viele Spaltreaktionen unabhängig vom Steroidgrundtyp ablaufen, wurden meist nur die für den Androstangrundtyp charakteristischen Bruchstücke tabelliert. Die anderen Steroidgerüste entsprechenden Werte lassen sich daraus leicht bestimmen, wenn man dem Schlüsselbruchstück des Androstantyps für Pregnane 28 ME (C_2H_4), eine C_2H_5 -Gruppe anstelle von H), für Cholane 70 ME (C_3H_{10}) und für Cholestane 112 ME (C_8H_{16}) zuzählt bzw. für Östrane 14 ME (anstelle eines CH_3 an C-10 ein H) abzieht.

Bei der Aufstellung der Tabellen wurden jene Bruchstücke nicht berücksichtigt, die durch zusätzliche Anwesenheit eines Substituenten eine entsprechende Verschiebung des Schlüsselbruchstückes des Grundkörpers verursachen. So erniedrigt jede zusätzliche Doppelbindung die Masse des betreffenden Schlüsselbruchstückes um 2 ME, jede Ketogruppe erhöht sie um 14 ME, jede Hydroxylgruppe um 16 ME. Eine Ketogruppe entspricht also massenmäßig einer Hydroxylgruppe und einer Doppelbindung.

Bei Östrogenen (Ring A aromatisch) wurde dem natürlichem Vorkommen dieser Steroide Rechnung getragen und alle Werte auf 3-Hydroxy-Östrogene bezogen.

Die Tabellen, in denen die gesamten Erkenntnisse der Literatur und alle Ergebnisse eigener Untersuchungen berücksichtigt wurden, sind in den folgenden Arbeiten zusammengestellt.

Danksagung—Für die Unterstützung der Arbeit durch Sachbeihilfen danken wir dem Fonds der chemischen Industrie, der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Schering AG., Berlin.

LITERATUR

- 1 A. Cornu und R. Massot, *Compilation of Mass Spectral Data*, Heyden 1966
- 2 R. A. Hites und K. Biemann in "Advances in Mass Spectrometry" Vol. 4, p.37, Pergamon Press, London 1968
- 3 W. Neudert und H. Röpke "Steroidspektrenatlas" Springer, Heidelberg 1965