

Kurt Heyns und Harry Scharmann*)

Massenspektrometrische Untersuchungen, XIII¹⁾

Substituenteneinfluß auf das Fragmentierungsverhalten von 1.6-Anhydro-hexopyranosen; Zerfallsmechanismen von peracetylierten 1.6-Anhydro-hexosen mit stickstoffhaltigen Ringen

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg

(Eingegangen am 14. Mai 1966)

Der Einfluß von Acetyl-, Trideuteroacetyl-, Trifluoracetyl- und Trimethylsilyl-Substituenten auf das Verhalten von 1.6-Anhydro-pyranosen bei Elektronenbeschuß im Massenspektrometer wird untersucht. Die Zerfallsmechanismen peracetylierter 1.6-Anhydro-hexosen mit stickstoffhaltigen Ringen werden diskutiert.

Im Rahmen unserer Arbeiten über das massenspektrometrische Verhalten von Kohlenhydrat-Derivaten haben wir uns ausführlich mit den Fragmentierungsmechanismen permethylierter Anhydrozucker befaßt^{2,3)}. Die Untersuchungen werden in der vorliegenden Arbeit auf Triacetyl-, Trifluoracetyl- und Trimethylsilylderivate von 1.6-Anhydro-hexopyranosen ausgedehnt. Die nachgewiesenen Zerfallsreaktionen liefern einen wesentlichen Beitrag zur massenspektrometrischen Strukturaufklärung von 1.6-Anhydro-hexosen mit stickstoffhaltigen Ringen.

2.3.4-Tri-*O*-acetyl-D-idosan (1)

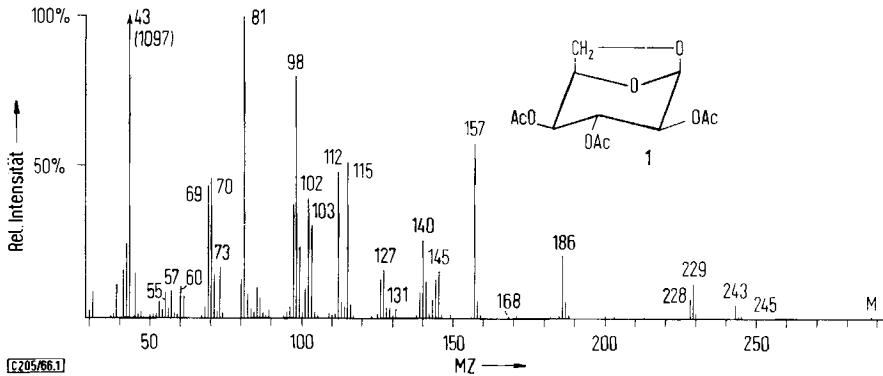
Das massenspektrometrische Verhalten der peracetylierten Glykosane wurde am Beispiel von **1** untersucht (Abbild. 1). Zur Aufklärung der Fragmentierungsreaktionen wurde das Massenspektrum von 2.3.4-Tris-*O*-trideuteroacetyl-D-idosan aufgenommen. Die Massenzahlen (MZ) der aus der perdeuteroacetylierten Verbindung entstehenden Ionen sind in Klammern gesetzt. Aus der beobachteten Massenverschiebung ergibt sich ein eindeutiger Hinweis auf die Anzahl der in einem Ion vorhandenen Acetylgruppen. Das Acetyl-Ion MZ 43 (46) bildet das Haupt-Ion im Massenspektrum von **1**. Die folgende Übersicht verdeutlicht die primären Zerfallsschritte. Eine Beschreibung der Folgefragmentierungen schließt sich an.

*) Jetzige Adresse: Unilever Forschungslaboratorium Hamburg.

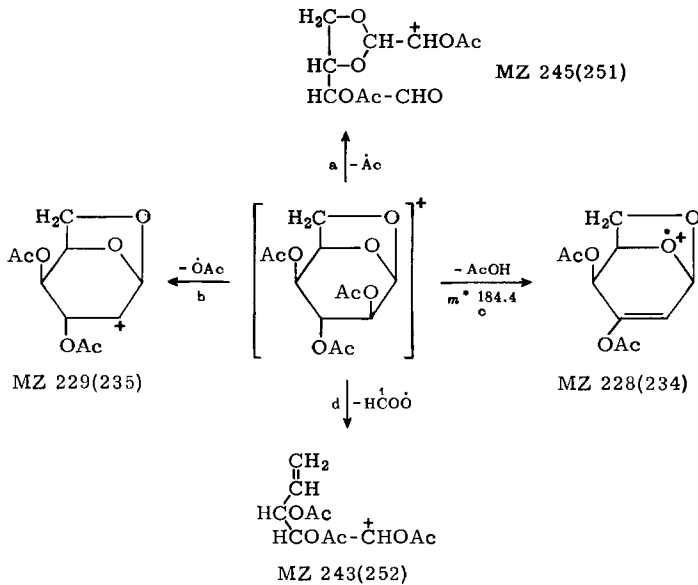
¹⁾ XII. Mittel.: K. Heyns, R. Stute und H. Scharmann, *Tetrahedron* [London] **22**, 2223 (1966).

²⁾ K. Heyns und H. Scharmann, *Carbohydrate Res.* **1**, 371 (1966).

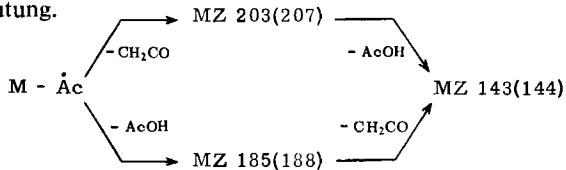
³⁾ K. Heyns, H. F. Grützmaker und H. Scharmann, *Fortschr. chem. Forsch.* **5**, 448 (1966).



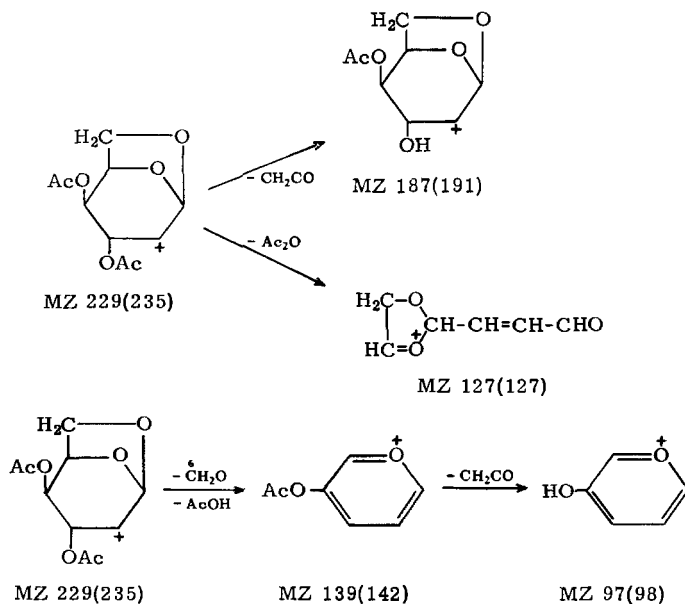
Abbild. 1. Massenspektrum von 2.3.4-Tri-O-acetyl-D-idosan (1)



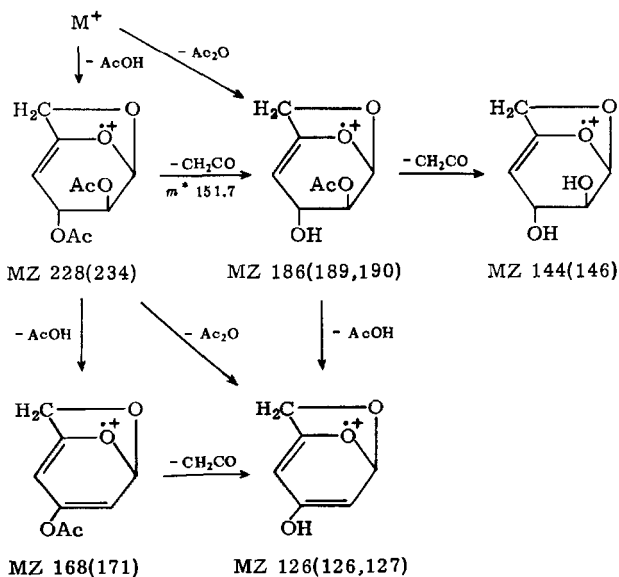
Folgereaktionen der primären Abspaltung eines Acetyl-Radikals (a) haben nur untergeordnete Bedeutung.



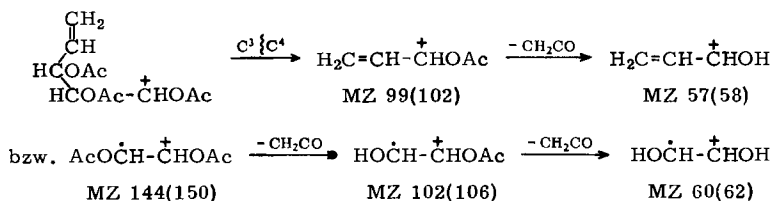
Das durch Abspaltung eines Acetoxy-Radikals (b) entstehende Primärfragment MZ 229 zerfällt unter Verlust von Keten bzw. Acetanhydrid. Daneben erfolgt eine simultane Eliminierung von Essigsäure und Formaldehyd zum Acetoxy-pyrylium-Ion MZ 139, das sich durch Verlust von Keten zum Hydroxy-pyrylium-Ion MZ 97 stabilisiert.



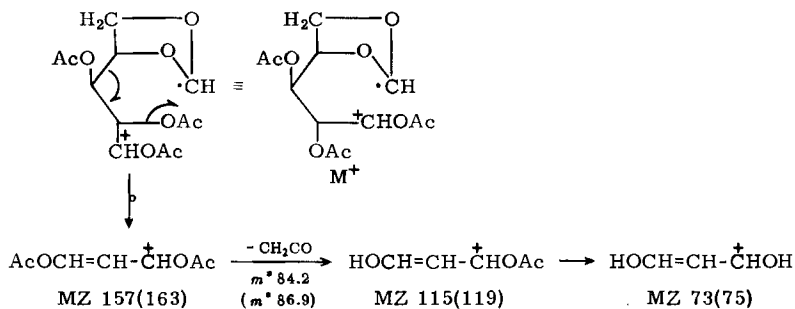
Der Primärsplattung c schließt sich Verlust von Keten bzw. Essigsäure an. Die Massenverschiebungen im Spektrum der markierten Verbindung zeigen jedoch, daß vorwiegend Stabilisierung durch direkte Eliminierung von Acetanhydrid erfolgt. ($\text{M} - \text{CD}_3\text{CO}_2\text{H} - \text{CD}_2\text{CO} \longrightarrow \text{MZ } 190$; $\text{M} - (\text{CD}_3\text{CO})_2\text{O} \longrightarrow \text{MZ } 189$)



Das Primärfragment d zerfällt unter Spaltung der Bindung zwischen den C-Atomen 3 und 4 und nachfolgender Keten-Eliminierung.

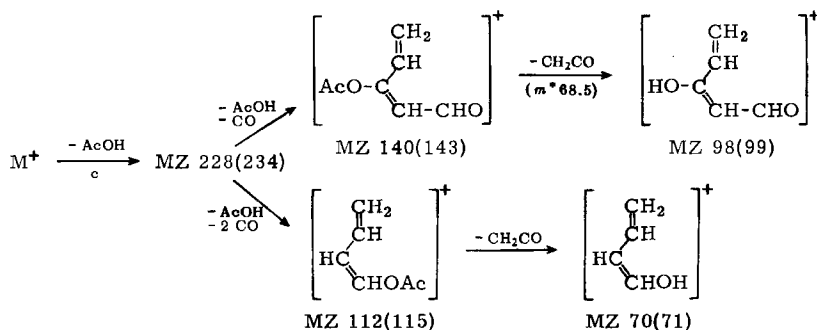


Die Ionen MZ 57 und 60 bilden im Massenspektrum des Idosans die beiden intensivsten Fragmente⁴⁾. Die in Analogie zu den Trimethylderivaten zu formulierende primäre Öffnung der Bindung zwischen den C-Atomen 1 und 2, Wanderung eines Acetoxy-Radikals und Spaltung der Bindung C-3/C-4 führt zu dem C₃-Fragment MZ 157, das durch Keten-Eliminierung zu MZ 115 bzw. 73 zerfällt.



Die Ladung verbleibt in sehr untergeordnetem Maße an C-1 unter Bildung des Umlagerungs-Ions MZ 131.

Die bisher beschriebenen Zerfallsreaktionen stehen in völliger Analogie zu den bei den Trimethyläthern gemachten Beobachtungen²⁾. Der Bildungsmechanismus des charakteristischen Pyrylium-Ions MZ 81 und der Fragmente MZ 140 und 112, die durch Keten-Eliminierung weiterzerfallen, kann ohne spezifische Deuterium-Markierung nicht aufgeklärt werden. Die Ionen MZ 140 und 112 können formal durch eine Eliminierungsfolge von Essigsäure und CO entstehen.



Die Bildung dieser Ionen, für die auch eine Furan- bzw. Pyran-Struktur angenommen werden kann, und des Pyrylium-Ions muß über einen komplexen Umlagerungs-

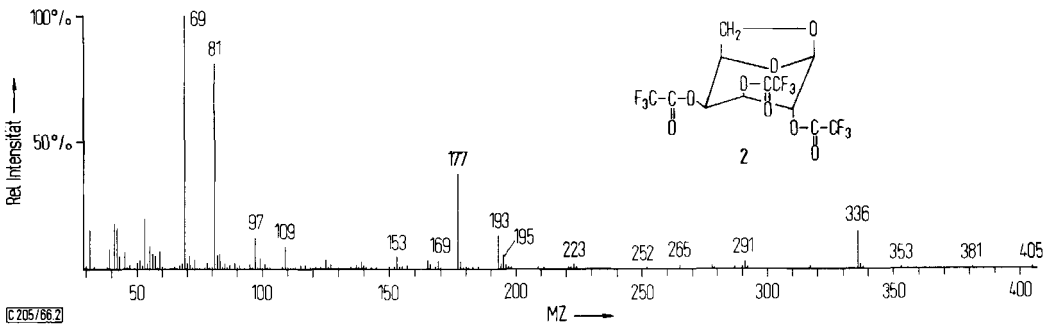
⁴⁾ H. Scharmann, unveröffentlicht.

mechanismus erfolgen, da sie auch im Spektrum von 1.6-Anhydro-2.3.5-tri-*O*-acetyl- α -D-galaktofuranose beobachtet werden⁴⁾. Im Massenspektrum von **1** und des Deuterium-markierten Furanose-Derivates erfolgt keine Massenverschiebung des Pyrylium-Ions MZ 81 und Verschiebung um drei Masseneinheiten bei den Fragmenten MZ 140 und 112, die die Beteiligung einer Acetylgruppe beweist. Die in der Literatur beobachtete Bildung von Di- und Triacetyl-oxonium-Ionen⁵⁾ bei peracetylierten Monosacchariden kann bei den Triacetyl-glykosanen bestätigt werden.



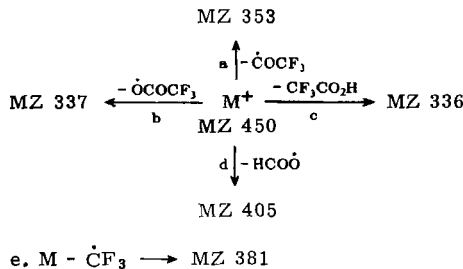
2.3.4-Tris-*O*-trifluoracetyl-D-galaktosan (**2**)

Das Massenspektrum von **2** (Abbild. 2) ist im Vergleich zu **1** sehr viel übersichtlicher, da die der Ketten-Eliminierung analoge Abspaltung von CF_2CO nicht beobachtet



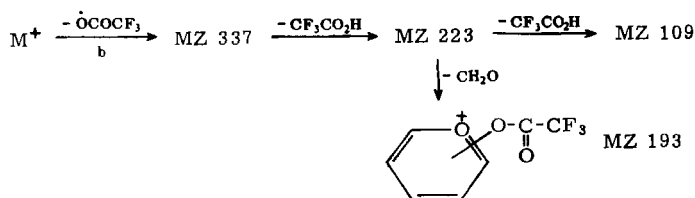
Abbild. 2. Massenspektrum von 2.3.4-Tris-*O*-trifluoracetyl-D-galaktosan (**2**)

wird. Haupt-Ion im Massenspektrum von **2** ist das CF_3 -Ion MZ 69. Das Trifluoracetyl-Ion MZ 97 tritt nur mit geringer relativer Intensität auf. In Analogie zu **1** werden folgende Primärsplaltungen beobachtet:

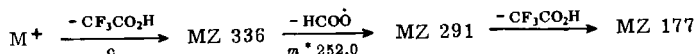


Bevorzugter Primärschritt ist Eliminierung von Trifluoressigsäure. Als Folgereaktion von **b** wird $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ eliminiert zu MZ 223, das weiter fragmentiert unter Eliminierung von CH_2O bzw. $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$.

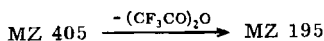
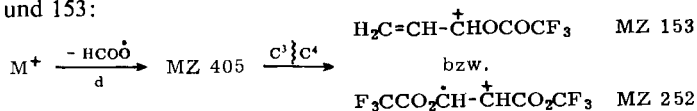
⁵⁾ K. Biemann, D. C. DeJongh und H. K. Schoes, J. Amer. chem. Soc. **85**, 1763 (1963).



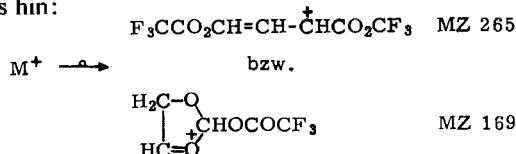
Der Primärreaktion c folgt Abspaltung von C-1 als $HCO\dot{O}$ -Radikal und Eliminierung von CF_3CO_2H zu dem intensiven Fragment MZ 177.



Die Weiterreaktion des Fragmentes $M-HCO\dot{O}$ führt unter Eliminierung von Trifluoressigsäure bzw. Spaltung der Bindung C-3/C-4 zu den Ionen MZ 195 bzw. 252 und 153:



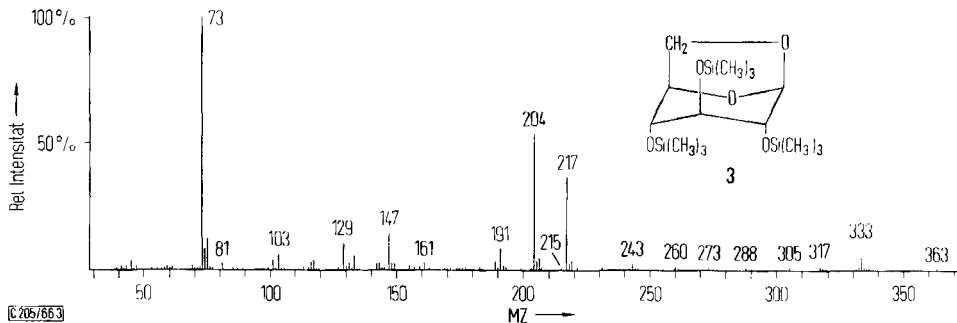
Die Bildung der Ionen MZ 265 und MZ 169 deutet auf eine 1-3-Wanderung eines $OCOCF_3$ -Radikals hin:



Das für **1** charakteristische Pyrylium-Ion MZ 81 wird bei **2** ebenfalls beobachtet. Bildung von Bis- bzw. Tris-trifluoressigsäure-oxonium-Ionen erfolgt nicht. Im Gegensatz zu **1** wird primär ein CF_3 -Radikal abgespalten (e).

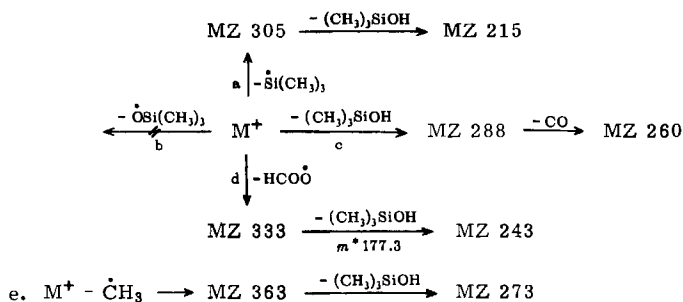
2.3.4-Tris-O-trimethylsilyl-D-glucosan (3)

Das Fragmentierungsverhalten von **3** (Abbild. 3) steht in Analogie zu dem der O-Methyläther²⁾. Die Bildung der intensiven Fragmente erfolgt bevorzugt durch

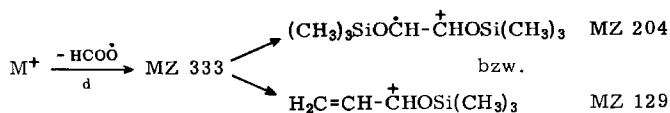


Abbild. 3. Massenspektrum von 2.3.4-Tris-O-trimethylsilyl-D-glucosan (**3**)

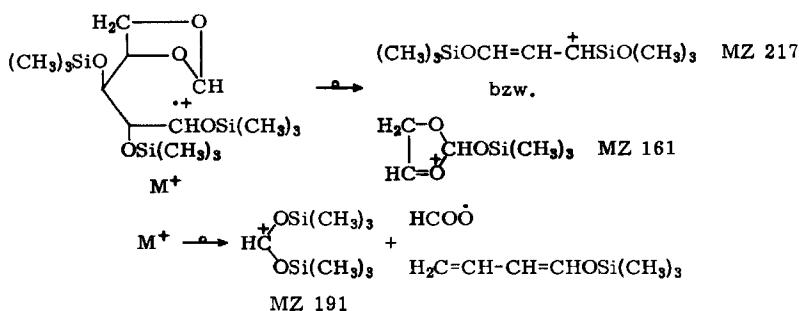
Spaltungen von C—C-Bindungen. Das für die Acetate typische Pyrylium-Ion MZ 81 besitzt nur untergeordnete Intensität. Das Haupt-Ion $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ hat die MZ 73. Die bei den Methyläthern der Glykosane beobachteten Primärsplaltungen a, c und d werden bei **3** in gleicher Weise gefunden.



Weitere Zerfallswege der Primär-Ionen sind in das obenstehende Schema aufgenommen. Primärsplaltung e: $\text{M}^+ - \dot{\text{C}}\text{H}_3$ ist typisch für die Trimethylsilyläther. Abspaltung eines $\dot{\text{O}}\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ -Radikals wird nicht beobachtet. Das durch d gebildete Primärfragment MZ 333 zerfällt weiter durch Spaltung der Bindung C-3/C-4 in die charakteristischen Fragmente MZ 204 und MZ 129:



Neben den angegebenen Fragmentierungswegen sind von entscheidender Bedeutung die primäre Öffnung der Bindung zwischen den C-Atomen 1 und 2 und Wanderung einer $\text{OSi}(\text{CH}_3)_3$ -Gruppe:



In Analogie zu den Methyläthern kann vorwiegend 1—3-Wanderung angenommen werden.

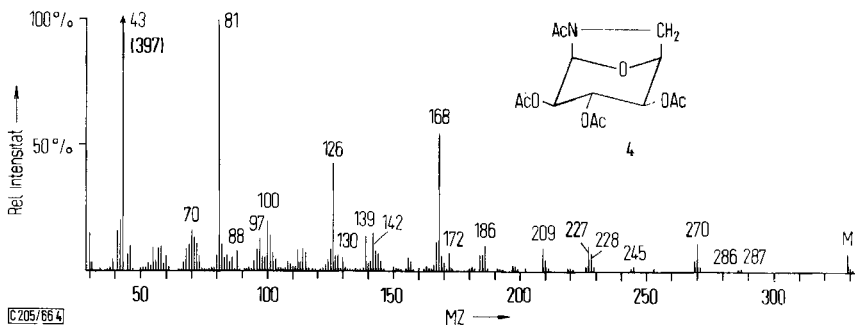
2.3.4-Tri-O-acetyl-L-idosane mit stickstoffhaltigen Ringen

Im Gegensatz zu **1** werden bei den Acetyl-idosanen mit stickstoffhaltigen Ringen die charakteristischen Ionen im wesentlichen durch Eliminierungsreaktionen gebildet. Spaltung von C—C-Bindungen erfolgt nur in untergeordnetem Maße. Die für Zuckeracetate charakteristischen C_2 - bzw. C_3 -Bruchstücke MZ 157 und MZ 144 und die

durch Keten-Eliminierung entstehenden Folge-Ionen fehlen praktisch. In Analogie zu **1** werden die Primärfragmente $M - \dot{A}c$, $M - \dot{O}Ac$ und $M - AcOH$ gefunden. Auf weitere Abbaureaktionen wird bei den einzelnen Verbindungen näher eingegangen. Primärsplaltung a und die aus diesem Fragment sekundär entstehenden Ionen fehlen völlig.

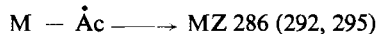
1.6-Acetimino-2.3.4-tri-*O*-acetyl-6-desoxy-L-idopyranose (**4**)

Zur Untersuchung des Zerfallsmechanismus von **4** wurde 1.6-Acetimino-2.3.4-tris-*O*-trideuteroacetyl-6-desoxy-L-idopyranose (**5**) synthetisiert. Aus den Massenverschiebungen im Spektrum von **5** ergab sich die Anzahl der *O*-Acetylgruppen bzw. die Beteiligung der *N*-Acetylgruppe in den charakteristischen Fragmenten. Massenzahlen der aus **5** gebildeten Ionen sind in dem folgenden Fragmentierungsschema in Klammern hinzugefügt.



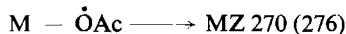
Abbild. 4. Massenspektrum von 1.6-Acetimino-2.3.4-tri-*O*-acetyl-6-desoxy-L-idopyranose (**4**)

Primärsplaltung a:

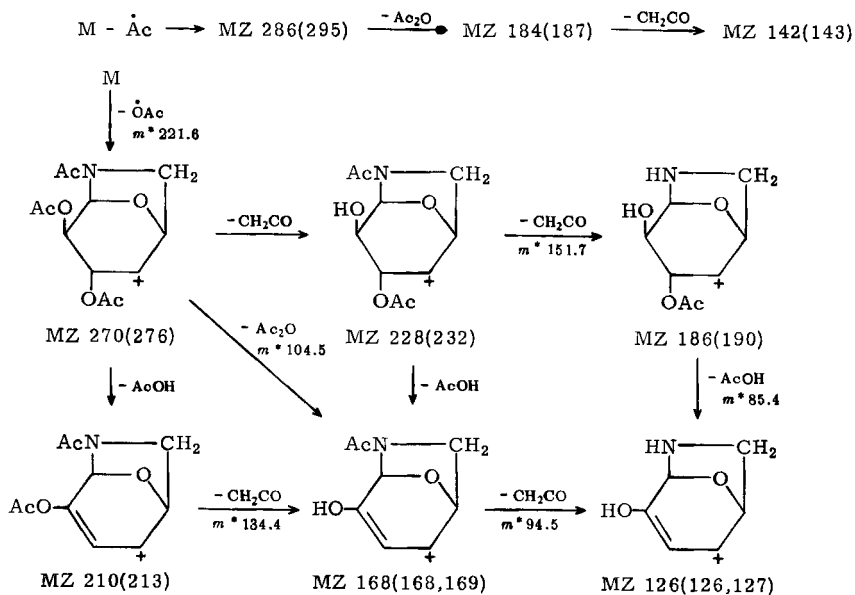


Massenverschiebung erfolgt vorwiegend um 9 Masseneinheiten zu MZ 295, d. h. es wird bei dieser primären Zerfallsreaktion vorwiegend die *N*-Acetylgruppe abgespalten. Der weitere Zerfall erfolgt durch Eliminierung von Acetanhydrid und Keten.

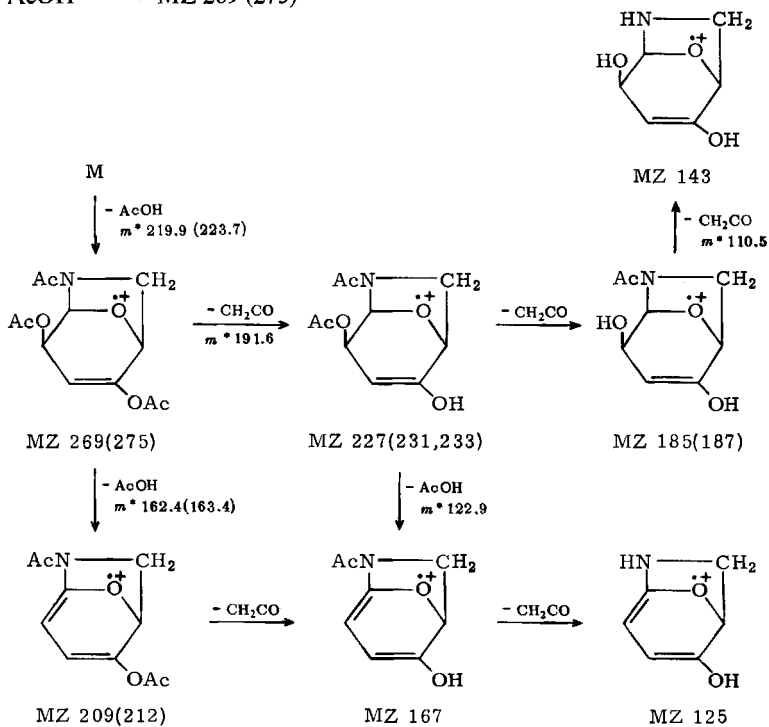
Primärsplaltung b:



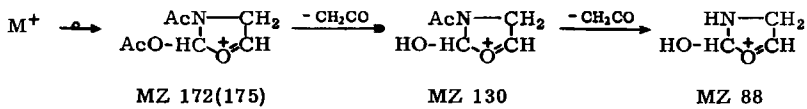
Durch eine Folge von Keten- bzw. Essigsäure-Eliminierungen entsteht das neben dem Acetyl-Ion MZ 43 intensivste stabile Endprodukt MZ 126. Aufschlußbereich für den Zerfallsmechanismus war das Spektrum von **5**. Das Ion MZ 126, das noch das vollständige Ringgerüst enthält, zeigte zu 65% keine Massenverschiebung und zu 35% eine Verschiebung um 1 Masseneinheit. Die gleiche Massenverschiebung wird für das vorgelagerte Ion MZ 168, aus dem durch Keten-Eliminierung (metastabiler Übergang bei $m^* = 94.5$) das Ion MZ 126 entsteht, beobachtet. Keine Massenverschiebung bedeutet den Verlust sämtlicher *O*-Acetylgruppen; Verschiebung um eine Masseneinheit wird erklärt durch die Reaktionsfolge $M - \dot{O}Ac - AcOH - CH_2CO$. Die Abspaltung der drei Acetylgruppen wird durch metastabile Übergänge als Fragmentierungsfolge $M - \dot{O}Ac - (Ac)_2O$ bewiesen. Im letzten Schritt erfolgt dann Eliminierung von Keten aus der *N*-Acetylgruppe zur MZ 126.



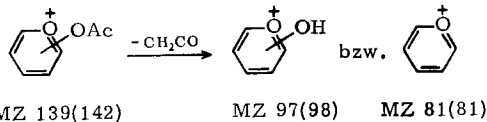
Primärspaltung c:



Die anschließenden Sekundärreaktionen führen zu Ionen geringer relativer Intensität. Das Spektrum von **5** zeigt, daß die Keten-Eliminierung im zweiten Reaktionsschritt zur MZ 231 bzw. 233 an der *N*- bzw. *O*-Acetylgruppe erfolgen kann: z. B. $MZ\ 275 - CH_2CO \rightarrow MZ\ 233$ ($m^* = 197.4$) und $MZ\ 275 - CD_2CO \rightarrow MZ\ 231$ ($m^* = 194.0$). In das Schema ist nur eine der möglichen Ionenstrukturen aufgenommen. Für die Bildung der Ionengruppe MZ 172, 130 und 88 muß die Übertragung einer OAc-Gruppe nach C-1 angenommen werden. Die Ladung verbleibt ausschließlich beim Umlagerungs-Ion MZ 172, das sich durch zweimalige Keten-Eliminierung stabilisiert.



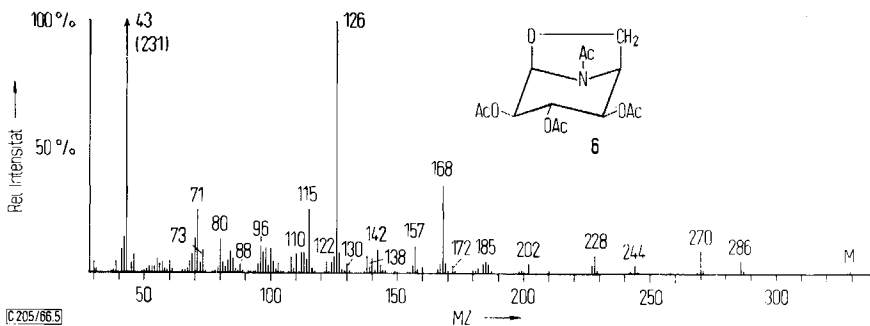
Charakteristisch für das Vorliegen einer Pyranose-Ringstruktur sind die substituierten Pyrylium-Ionen MZ 139 und 97 bzw. das Pyrylium-Ion MZ 81, das, wie bei **1**, neben dem Acetyl-Ion den intensivsten Peak darstellt.



Die für Acetate von Monosacchariden typischen Acylium-Ionen MZ 145 und 102 werden nicht gebildet.

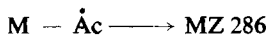
N-Acetyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-1,6-anhydro-L-idopiperidinose (**6**)

6 ist ein Strukturisomeres von **4**, enthält jedoch einen Piperidinose-Ring. Primärreaktionen führen daher zu Ionen gleicher Massenzahl (Abbild. 5).

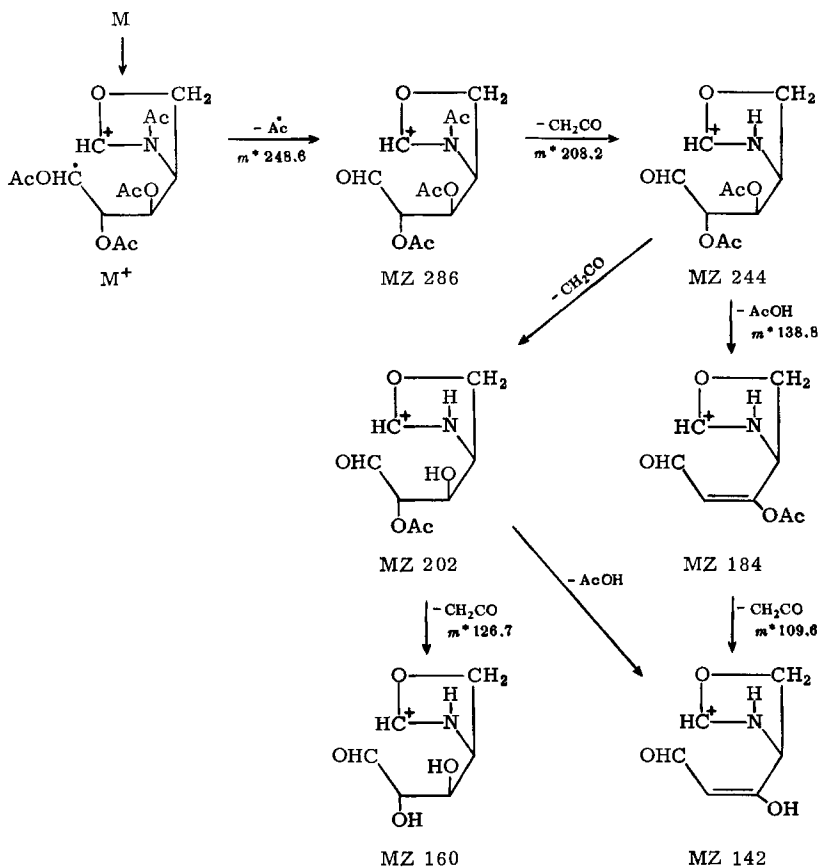


Abbild. 5. Massenspektrum von *N*-Acetyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-1,6-anhydro-L-idopiperidinose (**6**)

Primärsplattung a:

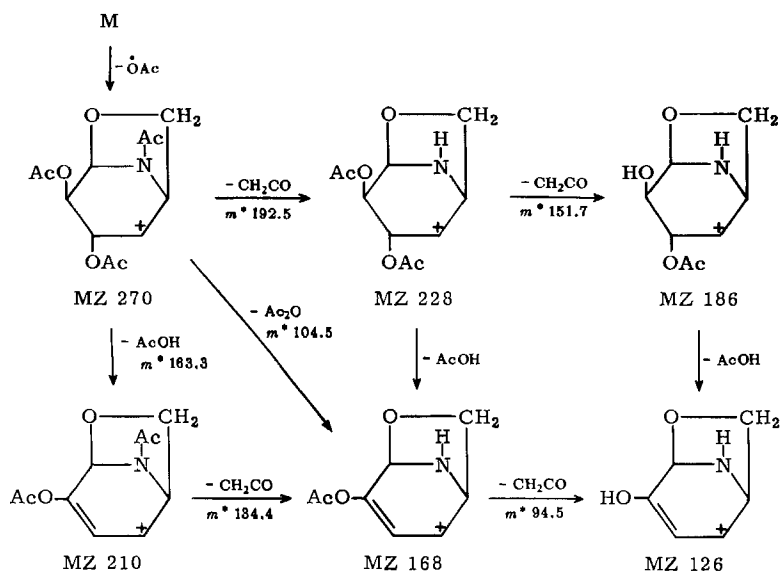


Die Eliminierungsreaktionen verlaufen analog denen von **4**. Die Mehrzahl der Folgeschritte wird durch metastabile Übergänge (m^*) bewiesen.

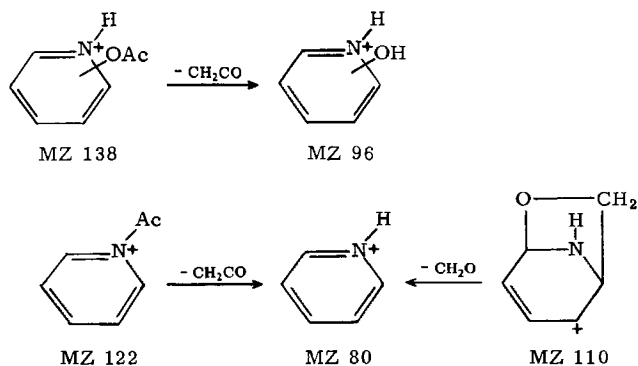
**Primärspaltung b:**

Das Fragmentierungsschema stimmt weitgehend mit dem bei 4 angegebenen überein. Es ist nur eine der möglichen Ionenstrukturen als Beispiel angeführt. Charakteristisch für 6 ist die hohe Intensität des stabilen Endproduktes der Eliminierungsfolge $MZ 126$. Die Primärspaltung c: $M - \text{AcOH} \longrightarrow MZ 269$ und Folgeprodukte haben nur sehr untergeordnete Bedeutung.

Die bei 4 beschriebene Wanderung einer OAc -Gruppe nach C-1 führt wieder zu den Ionen der $MZ 172$ bzw. 130 und 88 . Im Gegensatz zu 4 verbleibt die Ladung jedoch vorwiegend an dem bei 1 ebenfalls gebildeten C_3 -Bruchstück $MZ 157$ bzw. den Folge-Ionen $MZ 115$ und 73 . Das Vorliegen einer Piperidinose-Struktur wird eindeutig bewiesen durch das Fehlen des Pyrylium-Ions $MZ 81$ und die Bildung einer Reihe von Pyridinium-Ionen, deren MZ um eine Masseneinheit niedriger liegen als die entsprechenden Pyrylium-Fragmente.



Die Bildung der Pyridinium-Ionen MZ 138, 122, 96 und 80 ist bereits bei der massenspektrometrischen Fragmentierung von 1.5-Acetimino-2.3.4-tri-*O*-acetyl-1.5-dideoxy-xylit beobachtet worden⁶⁾.

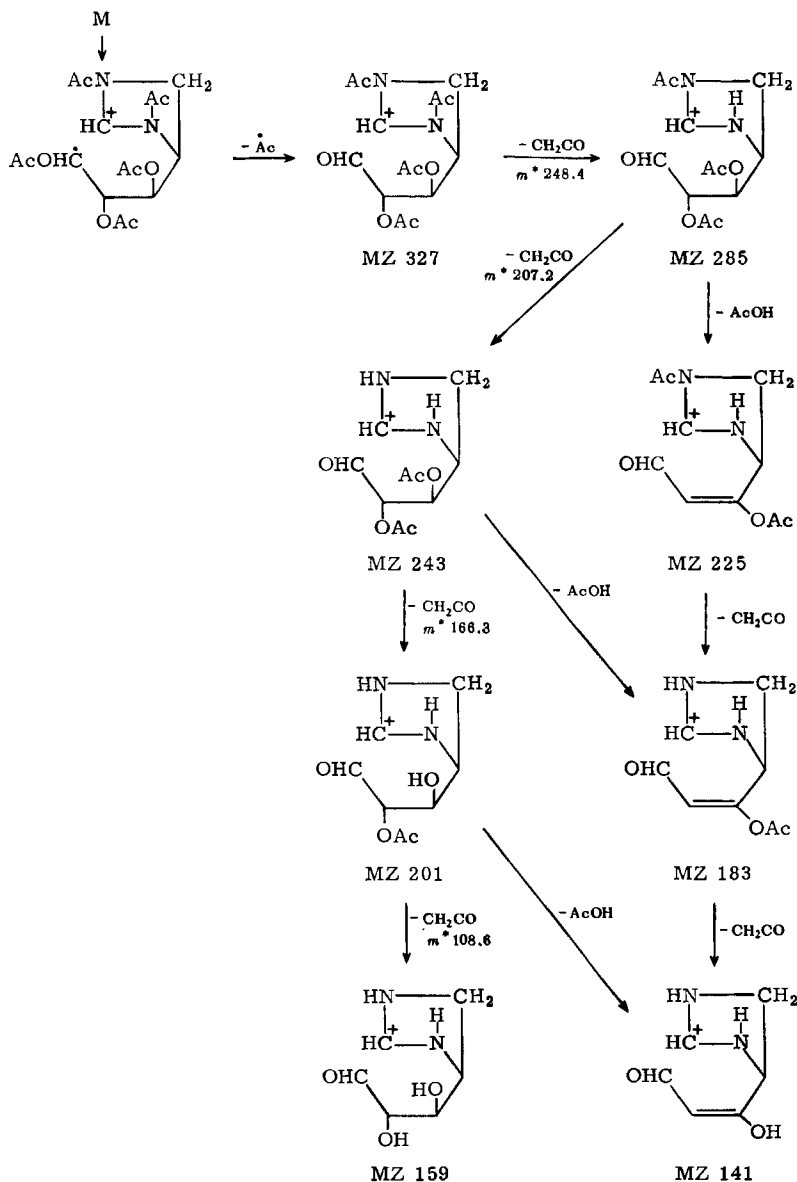


1.6-Acetimino-*N*-acetyl-2.3.4-tri-*O*-acetyl-6-desoxy-*L*-idopiperidinoso (7)

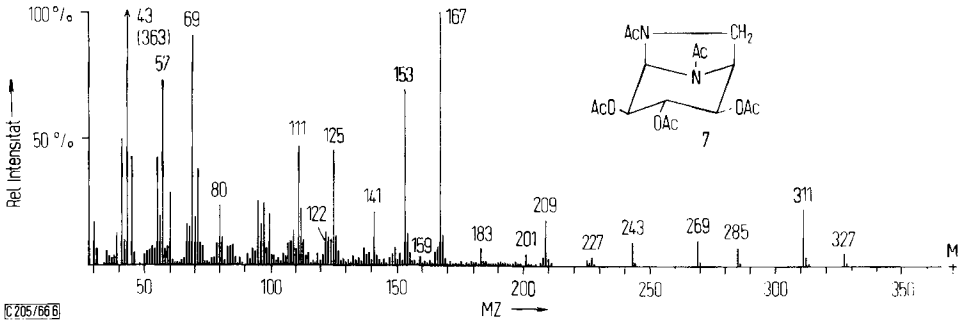
7 enthält in beiden Ringsystemen eine *N*-Acetylgruppierung. Das Molekulargewicht verschiebt sich daher im Vergleich zu 4 und 6 um 41 Masseneinheiten zu 370. Es werden die analogen primären Zerfallsschritte beobachtet. Erheblichen Einfluß auf die Fragmentierung haben die beiden im fünfgliedrigen Anhydring vorliegenden *N*-Acetylgruppen (Abbild. 6).

⁶⁾ H. Paulsen, Liebigs Ann. Chem. **683**, 187 (1965).

Primärsplattung a :

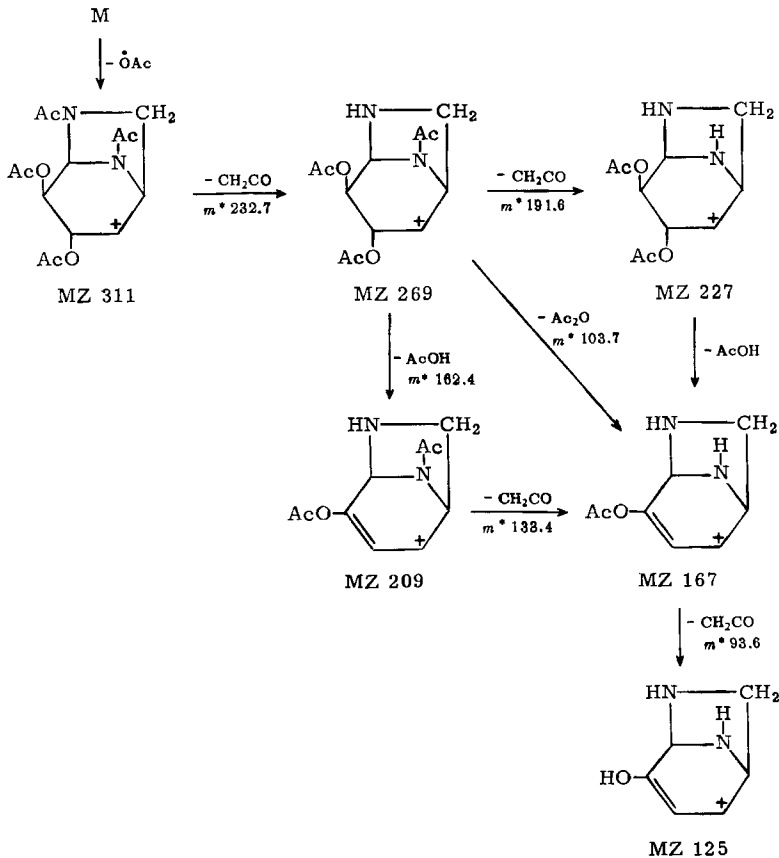


Die weitgehend durch metastabile Übergänge belegte Folge von Eliminierungsreaktionen führt zu dem stabilen Ion MZ 141. Die MZ ist gegenüber 4 und 6 entsprechend der Differenz NH – O um eine Masseneinheit verschoben.



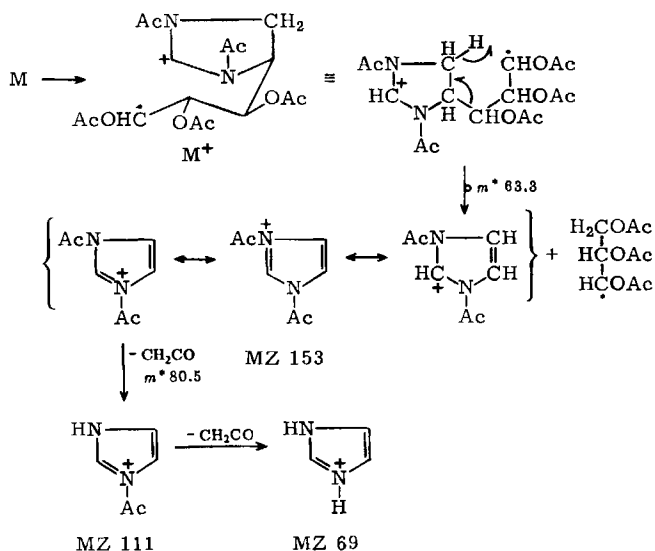
Abbild. 6. Massenspektrum von 1,6-Acetimino-*N*-acetyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-deoxy-*L*-idopiperidinose (7)

Primärsplaltung b:



Das Vorliegen von zwei Stickstoffatomen ergibt sich wiederum aus der Massenschiebung der intensiven Ionen MZ 167 und 125. Charakteristisch für die Piperidi-

dinose-Struktur ist die Bildung des Pyridinium-Ions MZ 80. Typisch für die gleichzeitig vorliegende 1.6-Acetimino-Gruppierung ist eine Umlagerungsreaktion, die bei 4 und 6 nur sehr untergeordnete Bedeutung hat.



Nach primärer Öffnung der Bindung zwischen den C-Atomen 1 und 2 erfolgt Umlagerung über einen cyclischen sechsgliedrigen Übergangszustand durch Übertragung eines Wasserstoffatoms von C-6 nach C-1 und Spaltung der Bindung zwischen den C-Atomen 3 und 4. Das resonanzstabilisierte Umlagerungs-Ion MZ 153 verliert zwei Moleküle Keten und bildet das stabile Imidazolium-Ion MZ 69. Fragmente, die durch Wanderung einer Acetoxygruppe entstehen, werden nicht beobachtet.

Zusammenfassung

Die bei den permethylierten Anhydrozuckern durch spezifische Deuteriummarkierung aufgefundenen massenspektrometrischen Fragmentierungsreaktionen²⁾ lassen sich weitgehend auf andere Substitutionsprodukte übertragen. In der folgenden Tabelle sind die bei allen untersuchten Derivaten beobachteten primären Zerfallschritte und einige charakteristische Ionen zusammengefaßt:

	R = H ⁴⁾	R = CH ₃ ²⁾	R = CD ₃ ²⁾	R = COCH ₃	R = COCD ₃	R = COCF ₃	R = Si(CH ₃) ₃
M - R	—	189	195	245	251	353	305
M - ÖR	145	173	179	229	235	337	—
M - ROH	144	172	178	228	234	336	288
M - HCOÖ	—	159	168	243	252	405	333
R ⁺	—	—	—	43	46	97	73
CH ₂ =CH- ⁺ CHOR	57	71	74	99	102	153	129
RO ⁺ CH-CHOR	60	88	94	144	150	252	204
ROCH=CH- ⁺ CHOR	73	101	107	157	163	265	217
H ⁺ C(OR) ₂	47	75	81	131	137	—	191

Haupt-Ion ist bei den Acetaten und Trimethylsilyläthern R^+ , bei den nicht substituierten Glykosanen und Methyläthern $RO\dot{C}H-\dot{C}HOR$ bzw. $ROCH=CH-\dot{C}HOR$ und bei den Trifluoracetaten CF_3^+ . Charakteristisch für die Acetyl- und Trifluoracetyl-derivate ist das Pyrylium-Ion. Eine typische Reaktion der Acetate ist der Abbau des Substituenten durch Eliminierung von Keten und die Abspaltung von Acetanhydrid unter Beteiligung von zwei Acetylgruppen. Trifluoracetate zeigen keine der Keten-Eliminierung analoge Reaktion, auffallend ist die bevorzugte Eliminierung von Trifluoressigsäure.

Das Vorliegen einer Acetimino-Gruppierung führt zu einer drastischen Änderung der Zerfallsreaktionen. Die Primärfragmente zerfallen durch eine Folge von Eliminierungsreaktionen zu einem stabilen Endprodukt, das noch das vollständige Ringgerüst enthält. Aus der Pyranose-Form wird das Pyrylium-Ion gebildet; bei der Piperidinose-Form entsteht das instabilere Pyridinium-Ion. Charakteristisch für eine 1.6-Acetimino-piperidinose-Struktur ist das Imidazolium-Ion.

Wir danken dem *Bundesministerium für wissenschaftliche Forschung* für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Beschreibung der Versuche

Die *Massenspektren* wurden mit einem Massenspektrometer Typ CH-4 der Firma Fr. Krupp, MAT Bremen mit Hochtemperatureinlaßteil (150°) bei einer Ionisierungsenergie von 70 eV aufgenommen. Die substituierten Glykosane wurden nach Literaturverfahren dargestellt. Die markierten Verbindungen wurden unter Verwendung von Acetanhydrid- d_6 synthetisiert. Die Darstellung der peracetylierten 1.6-Anhydro-hexosen mit stickstoffhaltigen Ringen ist in der vorstehenden Arbeit beschrieben.

[205/66]