

194. Gas-chromatographische und massenspektrometrische Untersuchung

von Phytylubichinon, Vitamin K₁ und Vitamin K₂

von W. Vetter, M. Vecchi, H. Gutmann, R. Rüegg, W. Walther und P. Meyer

(24. VIII. 67)

Einleitung - Die Gas-Chromatographie in Verbindung mit der Massenspektrometrie erweist sich immer mehr als ausgezeichnete Methode zur quantitativen und qualitativen Analyse organischer Verbindungen [1]. In günstigen Fällen, bei flüchtigen Verbindungen mit ausreichender thermischer Stabilität, ist eine Analyse ohne vorhergehende chemische Veränderung möglich. Bei der Mehrzahl physiologisch wichtiger Verbindungen ist jedoch die Herstellung flüchtiger Derivate notwendig. Für Verbindungen mit Hydroxyl- und Amino-Gruppen erwies sich die Umwandlung in Trimethylsilyl- (= TrMS-) Derivate als das weitaus beste Verfahren zur Erhöhung der Flüchtigkeit [2].

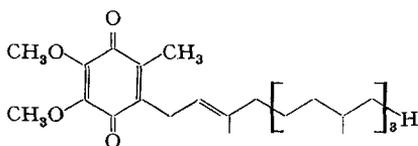
Auf dem Gebiet der Vitaminanalyse wurde diese Methode schon mehrfach mit Erfolg angewendet: Die Trimethylsilylderivate von Vitamin C [3], Vitamin A [4] und Vitamin B₆ [5] konnten gas-chromatographisch und massenspektrometrisch einwandfrei analysiert werden.

Über die K-Vitamine und die damit verwandten Plastochinone und Ubichinone lagen bisher keine befriedigenden gas-chromatographischen Untersuchungsergebnisse vor. Massenspektrometrisch wurden einige Vertreter dieser Verbindungsgruppen untersucht [6] [7] [8] und dabei teilweise pyrolytische Reaktionen in beträchtlichem Ausmasse festgestellt [6] [7].

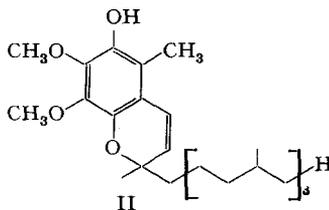
Es erschien daher interessant, die Möglichkeit einer kombinierten Analyse dieser Verbindungen durch Gas-Chromatographie und Massenspektrometrie sowohl direkt als auch besonders nach Umwandlung in geeignete Derivate zu untersuchen. Unter der Annahme, dass sich Vitamin K₁ und Phytylubichinon thermisch etwa gleich verhalten, wurde letzteres als Modells substanz für die Analyse verwendet.

I. Untersuchung von Phytylubichinon

1. *Versuche zur Direktanalyse mit Gas-Chromatographie.* MORIMOTO *et al.* [9] zeigten kürzlich, dass bei der Gas-Chromatographie von Ubichinonen infolge der erforderlichen hohen Analysentemperatur sehr wahrscheinlich die entsprechenden Chromenole entstehen. Unsere Versuche mit Phytylubichinon (I), die beim Erscheinen der zitierten



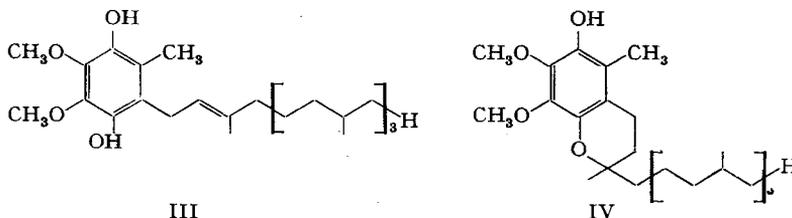
I



II

Arbeit bereits abgeschlossen waren, ergaben ein ähnliches, jedoch differenzierteres und beweiskräftigeres Bild.

Wird Phytylubichinon auf einem PVE-Gas-Chromatographen analysiert, so bekommt man ein Chromatogramm, das zwei Hauptpeke und einen Nebenpek enthält (Fig. 1). Die Analyse derselben Probe unter anderen Bedingungen ergibt ein prinzipiell gleiches Chromatogramm, in dem jedoch das Verhältnis der Pikelächen wesentlich verändert ist (Fig. 2). Zur Identifizierung der den Piken entsprechenden Verbindungen wurden die Fraktionen am Ende der Säule kondensiert und massenspektrometrisch untersucht; ausserdem wurden die Retentionszeiten der unbekanntenen Pike mit denen von einigen möglichen Umwandlungsprodukten von Phytylubichinon verglichen. Eine Zusammenstellung der Ergebnisse dieser Versuche ist in Tabelle 1 wiedergegeben. Daraus geht hervor, dass Pik II dem Ubichromenol (II) und Pik III dem Hydrochinon III entspricht. Um das letztere Ergebnis zu stützen – und das Chromanol IV sicher auszuschliessen –, wurde die kondensierte Probe (Pik III) mit CH_3OD behandelt. Dabei wurden im Maximum zwei H-Atome gegen Deuterium ausgetauscht, womit das Vorliegen von 2 Hydroxylgruppen und damit die Hydrochinonstruktur III bewiesen ist.



Die Entstehung des Hydrochinons ist nicht geklärt. Am wahrscheinlichsten erscheint die Disproportionierung [6] des Ubichinons zum Hydrochinon und einem unbekanntem Oxydationsprodukt, dessen sicherer Nachweis jedoch nicht gelang.

Diese Ergebnisse bestätigen, dass Phytylubichinon nicht unzersetzt gas-chromatographisch analysiert werden kann. Die Analysenbedingungen können wohl so gewählt werden, dass aus dem Chinon I hauptsächlich das Chromenol II entsteht, doch beträgt

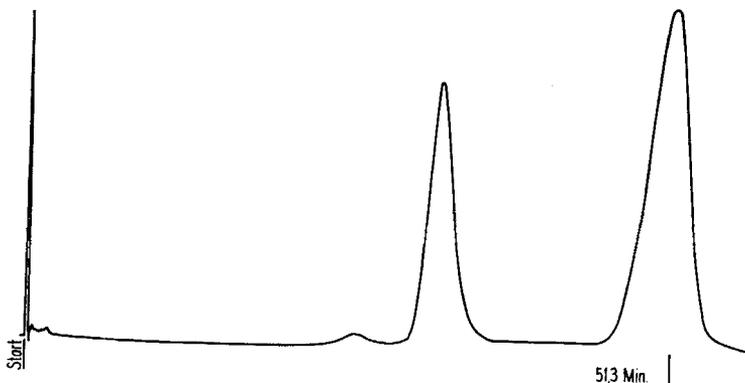
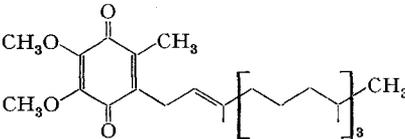
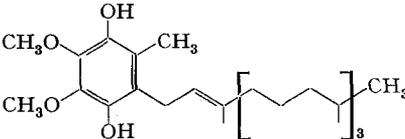
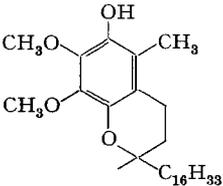
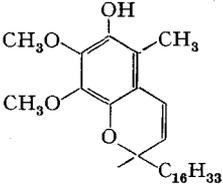


Fig. 1, Gas-Chromatogramm von Phytylubichinon; Einspritzblocktemp.: 240° ; Säulentemp.: 230° ; Belegung: 20% Apiezon N

Tabelle 1. Gas-chromatographische Direktbestimmung von Phytilyubichinon, Dihydro-phytilyubichinon, Ubichromanol und Ubichromenol

| | | | | | |
|---|---|--------------|----------------------|----------------------|-------------------|
| Phytilyubichinon (I) Masse 460 |  | Pik I 225 | Pik II 285 | Pik III 436 | Retention [mm] |
| | | 460 | 460 | 462 | Masse |
| Dihydro-ubichinon (III) Masse 462 |  | | Neben- pik 285 | Haupt- pik 440 | Retention [mm] |
| | | | - | 462 | Masse |
| Ubi- chromanol (IV) Masse 462 |  | | | 360 | Retention [mm] |
| | | | | 462 | Masse |
| Ubi- chromenol (II) Masse 460 |  | | 283 | | Retention [mm] |
| | | | 460 | | Masse |

auch in diesem Falle die Reproduzierbarkeit der Analyse bestenfalls 15%. Die analytisch wichtige Frage nach der prozentualen Zusammensetzung von *cis/trans*-Gemischen kann überhaupt nicht beantwortet werden.

Diese unbefriedigenden Resultate der gas-chromatographischen Direktanalyse legten die Untersuchung eines thermisch stabileren Derivates nahe. Da die Reduktion

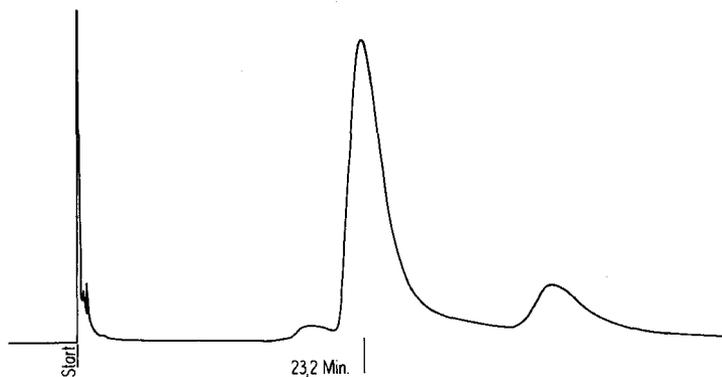
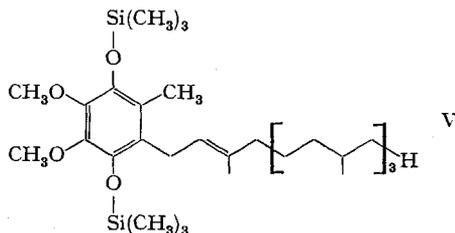


Fig. 2. Gas-Chromatogramm von Phytilyubichinon; Einspritzblocktemp.: 280°; Säulentemp.: 250°; Belegung: 5% Apiezon N

eines Chinons zum entsprechenden Hydrochinon leicht und quantitativ möglich ist, erschien in diesem Fall das Trimethylsilylderivat des Hydrochinons zweckmässig.

2. *Untersuchung von TrMS-Dihydro-phytylubichinon.* Die Darstellung des Dihydro-TrMS-Derivates V erfolgte ohne Schwierigkeiten durch katalytische Reduktion mit LINDLAR-Katalysator und anschliessender Reaktion des Hydrochinons mit N-Trimethylsilyl-acetamid.



Herstellung des Silyläther-Derivates. 0,1 g Phytylubichinon wird in 1 ml Petroläther (hochsiedend) gelöst, mit 0,05 g LINDLAR-Katalysator (5-proz.) versetzt und in einer Wasserstoffatmosphäre geschüttelt, bis die Wasserstoffaufnahme beendet ist. Die fast farblos gewordene, sehr sauerstoffempfindliche Lösung wird in einer Wasserstoffatmosphäre mit 1 g N-Trimethylsilyl-acetamid versetzt und unter zeitweiligem Umschwenken $\frac{1}{2}$ Stunde stehengelassen. Der Katalysator wird durch Filtration mittels einer Mikro-Glasnutsche (Porosität Nr. 4) entfernt und das Filtrat in einer Serumflasche verschlossen aufbewahrt.

GC-Arbeitsbedingungen

| | | | |
|--------------------|--|-------------------|-------------------------|
| Detektor: | FID | Trärgas: | Helium |
| Temperatur | | Gasfluss: | 40 ml/Min. |
| a) Säule: | 250°C | Stationäre Phase: | 5% APN |
| b) Einspritzblock: | 275°C | Trägermaterial: | Gaschrom Z, 80–100 mesh |
| Säule: | Glas; 2,3 mm \varnothing ; 2 m Länge | Papiervorschub: | 240 mm/h |

Wie aus dem Gas-Chromatogramm (Fig. 3) und Tabelle 2 ersichtlich ist, können *cis/trans*-Gemische nach diesem Verfahren einwandfrei analysiert werden. Voraussetzung hierfür ist jedoch eine Lösung, die frei von Katalysator ist, da sich sonst Spuren desselben im Einspritzblock absetzen und bei den nachfolgenden Einspritzungen Zersetzungen und Isomerisierungen hervorrufen. Ein entsprechendes Gas-Chromatogramm zeigt Figur 4.

Tabelle 2. *Gehaltsbestimmung von cis-TrMS-Dihydro-phytylubichinon*

| Einspritzung | 1 | 2 | 3 | 4 | 8 Tage nach der 1. Einspritzung | 16 Tage nach der 1. Einspritzung |
|--------------|------|------|------|------|------------------------------------|-------------------------------------|
| | % | % | % | % | | |
| Probe 1 | 14,0 | 13,3 | 13,6 | 13,7 | | |
| Probe 2 | 25,2 | 26,3 | 25,1 | 25,1 | | |
| Probe 4 | 15,6 | 15,0 | 14,8 | 15,1 | | |
| Probe 5 | 24,9 | 24,0 | 24,5 | 24,3 | | |
| Probe 6 | 15,4 | 15,4 | – | – | | |
| Probe 7 | 17,7 | 17,4 | 17,0 | 17,5 | | |
| Probe 8 | 14,5 | 14,7 | 14,6 | – | | |
| Probe 9 | 18,7 | 19,0 | – | – | 19,0 | 19,4 |
| Probe 10 | 14,5 | 14,7 | 14,6 | – | | |
| Probe 11 | 14,4 | 15,3 | 15,6 | – | | |
| Probe 12 | 17,2 | 16,5 | 17,1 | – | | |

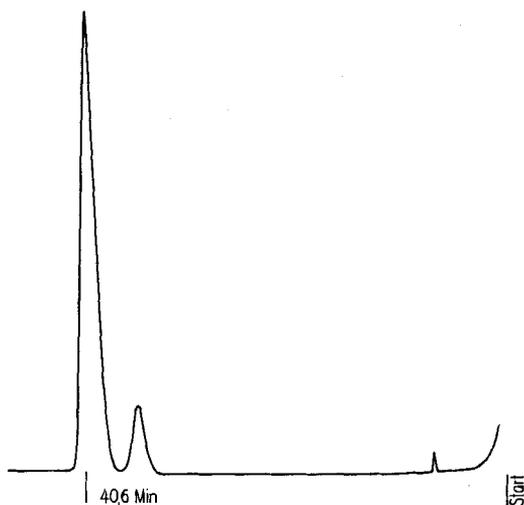


Fig. 3. Gas-Chromatogramm von cis- und trans-*TrMS*-Dihydro-phytylubichinon (Hauptpik: *trans*) (Arbeitsbedingungen s. Text)

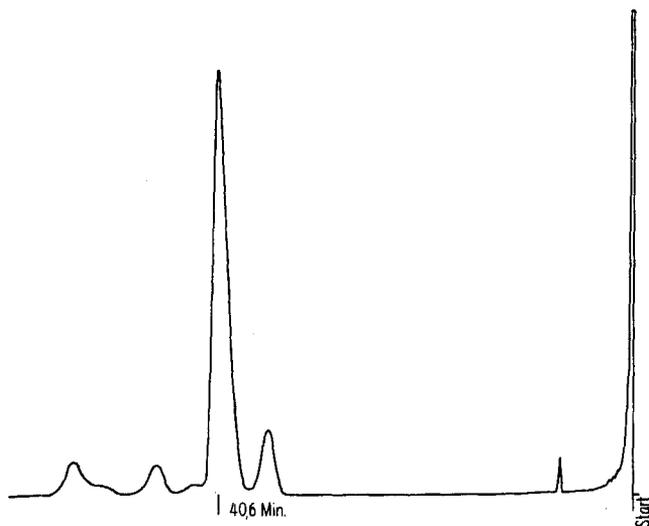


Fig. 4. Gas-Chromatogramm von cis- und trans-*TrMS*-Dihydro-phytylubichinon. Die eingespritzte Probe enthielt noch Spuren des Hydrierkatalysators

Zum Beweis des quantitativen Verlaufes der Dihydro-trimethylsilyläther-Bildung wurden mehrere Versuche unternommen. Die Ergebnisse von 4 Ansätzen mit verschiedenen Mengen Phytylubichinon und konstanter Menge internem Standard (*n*-Octacosan) sind in Figur 5 wiedergegeben. Die lineare Beziehung zwischen Detektor-signal und eingewogener Menge Phytylubichinon zeigt, dass für den untersuchten Konzentrationsbereich ein quantitativer Reaktionsverlauf anzunehmen ist.

In Tabelle 3 sind die Werte angeführt, die in Parallelversuchen mit mehreren Proben Phytilyubichinon erhalten wurden.

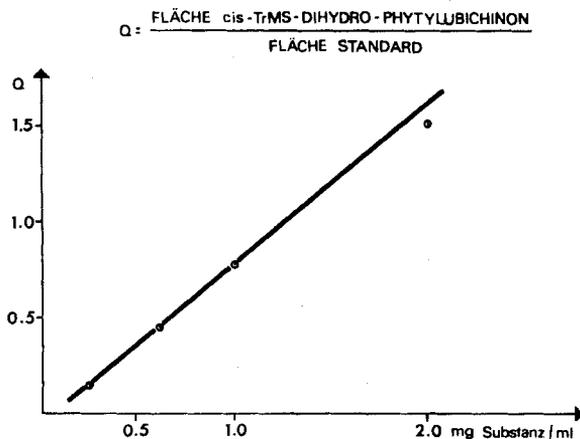


Fig. 5. Linearitätstest. Die relativen Peakflächen sind als Funktion der Konzentration von cis-TrMS-Dihydro-phytylubichinon aufgetragen

Tabelle 3. Bestimmung des Gehaltes an cis-TrMS-Dihydro-phytylubichinon (jede Probe wurde mehrfach reduziert und silyliert)

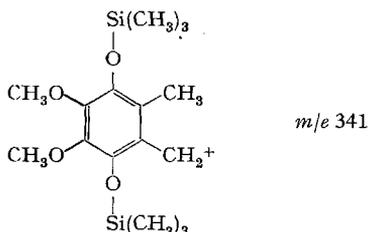
| Silylierung-Nr. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-----------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Probe 1 | 17,5% | 16,7% | 16,8% | 17,7% | 17,2% |
| Probe 2 | 15,0% | 14,6% | 14,8% | – | – |
| Probe 3 | 17,4% | 17,8% | 18,1% | – | – |

Zur Untersuchung der möglichen Isomerisierung der Doppelbindung und der Dauer der Hydrierung wurde ein *cis/trans*-Gemisch von I in Parallelversuchen einerseits verschieden lange katalytisch hydriert und andererseits mit NaHSO_3 reduziert. Tabelle 4 zeigt die Ergebnisse dieser Versuche. Die gefundenen Werte sind innerhalb der Fehlergrenze gleich und stimmen überdies mit dem Resultat einer PMR.-Analyse dieser Probe überein.

Tabelle 4. Vergleich der katalytischen und der chemischen Reduktion eines Gemisches von *cis*- und *trans*-Phytylubichinon

| Proben-Nr. | Reduktion | Reduktionszeit [Min.] | Gehalt an <i>cis</i> -Komponente [%] |
|------------|--|-----------------------|--------------------------------------|
| 1 | katalytisch, mit LINDLAR-Katalysator und Wasserstoff | 20 | 16,7 |
| 1 | | 170 | 17,5 |
| 1 | chemisch, mit Natriumhydrogensulfit | über Nacht | 16,8 |

Die Massenspektren¹⁾ von *cis*- und *trans*-TrMS-Dihydro-phytylubichinon sind in Fig. 6 und 7 wiedergegeben. Wie zu erwarten, unterscheiden sich die beiden Verbindungen nur geringfügig in ihrem Fragmentierungsverhalten, so dass ihre Identifizierung durch Vergleich der Massenspektren nur unter sorgfältig konstant gehaltenen apparativen Bedingungen möglich ist. Beide Spektren zeichnen sich durch überraschend intensive Molekel-Ion-Pike aus. Abgesehen von dem in TrMS-Derivaten meist bedeutenden Pik bei m/e 73 ($(\text{CH}_3)_3\text{Si}^+$) erreicht nur ein Fragmentpik, m/e 341, eine beträchtliche Intensität. Das zu diesem Pik gehörende Fragment entspricht dem von FOLKERS *et al.* [7] in Dihydro-ubichinon beobachteten Ion, das durch Abspaltung der Seitenkette von der Benzylstellung (möglicherweise nach Umlagerung der Doppelbindung in eine vom aromatischen Teil weiter entfernte Lage) entsteht:



Der Pik bei m/e 534 ist teilweise dem Mono-TrMS-Derivat zuzuschreiben, das bei der Manipulation der Probe zwischen Gas-Chromatographen und Massenspektrometer entstanden ist.

Die Fragmentierung der Seitenkette zeigt sich in einer Reihe von Piken sehr geringer Intensität (in Fig. 6 und 7 zehnfach vergrößert dargestellt). Meist treten die Signale bei Massenzahlen auf, die dem Verlust gesättigter Alkane entsprechen. Die Stellung der Methylgruppe in der Kette lässt sich kaum feststellen. Als Indiz kann bestenfalls die im Vergleich zu den übrigen Piken kleinere Intensität jener Signale gelten, die dem Verlust von Alkanen mit 7 bzw. 12 C-Atomen entsprechen (m/e 506, 436), welche nicht ohne Umlagerung des Kohlenstoffgerüsts oder mehrfache Fragmentierung entstehen können. Im Gegensatz zu rein aliphatischen Ketten dieser Art [10] werden im vorliegenden Falle die Verzweigungsstellen *nicht* durch Pike von besonderer Höhe angezeigt.

Die Massenspektren einer Anzahl von Ubichinonen (ohne vorhergehende Derivatbildung) wurden von FOLKERS *et al.* [7] diskutiert. In Übereinstimmung mit unseren Erfahrungen und den oben erwähnten gas-chromatographischen Befunden stellen diese Autoren bei der Aufnahme der Spektren stets eine teilweise thermische Umwandlung der Chinone in Hydrochinone und andere, nicht bekannte Produkte, deren Molekulargewicht um 2 Masseneinheiten unter dem der Chinone liegen, fest. Wie unsere Versuche zeigen, ist zur Vermeidung dieser Komplikationen die Umwandlung der Chinone in TrMS-Hydrochinone daher auch für die massenspektrometrische Untersuchung solcher Verbindungen vorteilhaft.

¹⁾ Aufgenommen mit einem MS-9-Gerät der Firma AEI, Manchester (Direkteinlass, Ionisierungsspannung 70 eV, Ionenquellentemperatur 260°).

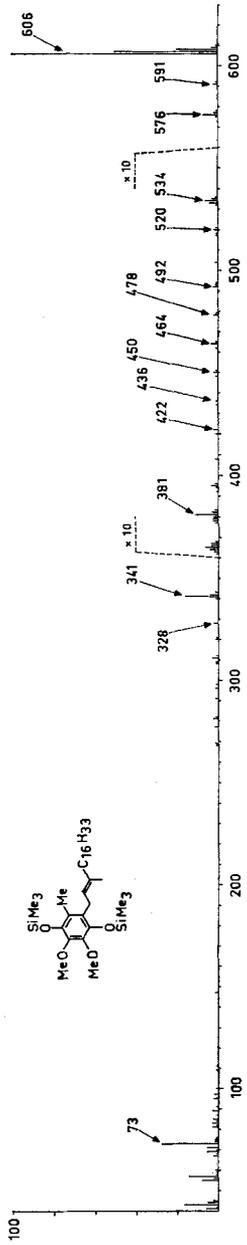


Fig. 6. Massenspektrum von *trans*-TrMS-Dihydro-phytylubichinon

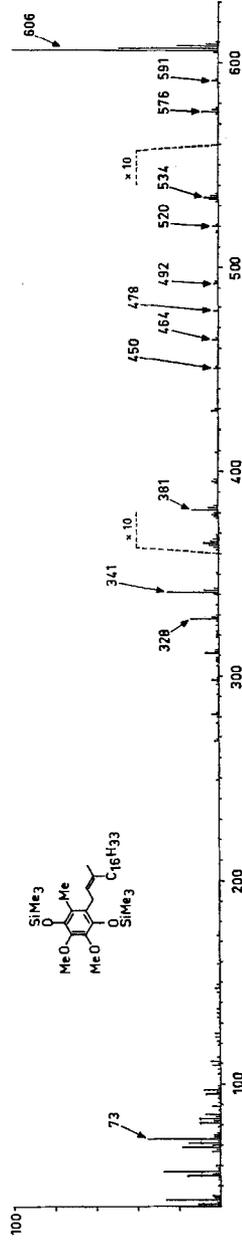
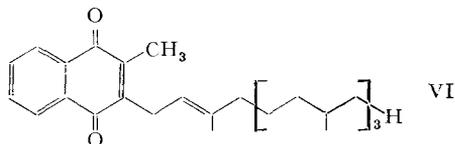


Fig. 7. Massenspektrum von *cis*-TrMS-Dihydro-phytylubichinon

II. Untersuchung von Vitamin K₁(20)



1. *Versuche zur gas-chromatographischen Direktbestimmung.* Auf Grund der Erfahrungen mit Phytylubichinon war zu erwarten, dass sich Vitamin K₁ (VI) nicht quantitativ gas-chromatographisch bestimmen lässt. Es zeigte sich, dass bei der Analyse von reinem *cis*- oder *trans*-Vitamin K₁ zwei Pike erhalten werden, die nach Retentionszeiten und Massenspektren dem zugehörigen Chromenol bzw. Chromanol entsprechen (Fig. 8). Je nach der Verdampfungstemperatur ist das Pikverhältnis sehr verschieden; somit ist die Reproduzierbarkeit der Analyse schlecht. Eine Bestimmung des *cis/trans*-Gehaltes ist nicht möglich.

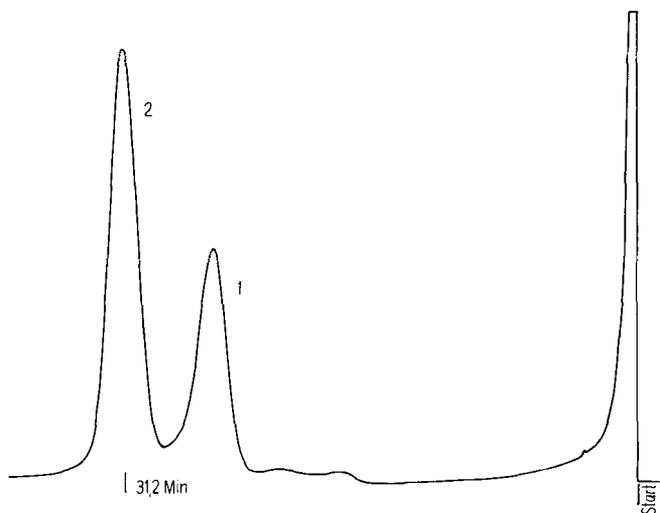


Fig. 8. Gas-Chromatogramm von Vitamin K₁(20); Einspritzblocktemp.: 280°; Säulentemp.: 250°; Belegung: 5% Silicon UCW 98

Pik 1: Chromanol; Pik 2: Chromenol

2. Untersuchung von TrMS-Dihydrovitamin K₁(20).

Der TrMS-Äther wurde nach der für Phytylubichinon gegebenen Vorschrift hergestellt.

GC-Arbeitsbedingungen

Stationäre Phase: 5% APL oder 10% UCW-98
 Säulentemperatur: 275° C (für APL),
 250° C (für UCW-98)
 Einspritzblock-
 temperatur: 280° C
 Detektor: · Flammenionisation
 Empfindlichkeit: X 10

Säule/
 Säulendimension: Glas/2 m; 2,2 mm Ø
 Trägergas: Helium
 Gasfluss: 40 ml/Min.
 Trägermaterial: Gaschrom Q; 80-100 mesh
 Papiervorschub: 20 mm/h

Figur 9 zeigt ein unter obigen Bedingungen erhaltenes Chromatogramm. Da die Phyllohydrochinone ausserordentlich sauerstoffempfindlich sind, lässt es sich kaum vermeiden, dass während der Probenaufarbeitung Spuren von Chinon zurückgebildet werden.

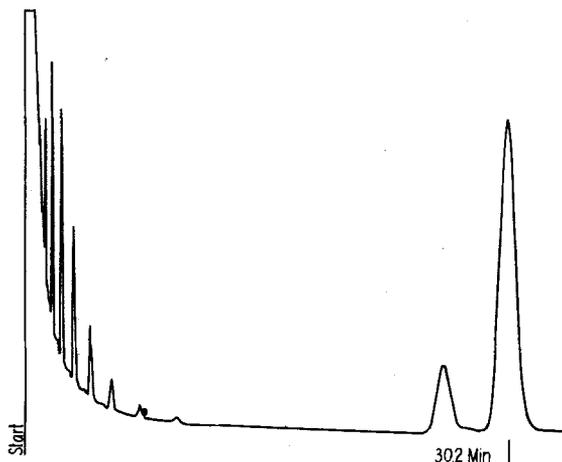


Fig. 9, Gas-Chromatogramm von *cis*- und *trans*-TrMS-Dihydrovitamin $K_1(20)$
(Hauptpik: *trans*)

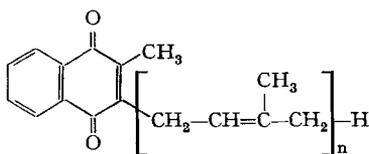
Die Reproduzierbarkeit der Analysen liegt im üblichen Rahmen der gas-chromatographischen Genauigkeit. Bei Mehrfachbestimmungen liegen die maximal vorkommenden Abweichungen vom Mittelwert bei etwa 2%. Bei mehrfachen Silylierungen derselben Probe differieren die Analysenwerte der einzelnen Ansätze maximal 5% vom Mittelwert. Durch Verwendung eines internen Standards und elektronische Auswertung dürfte der Fehler noch wesentlich vermindert werden. Das aus dem Chromatogramm errechnete *cis/trans*-Verhältnis stimmt mit der Aussage des PMR.-Spektrums überein.

Durch massenspektrometrische Untersuchung wurden die beiden Fraktionen als Di-trimethylsilyläther von *cis*- und von *trans*-Dihydrovitamin $K_1(20)$ identifiziert.

Das Massenspektrum von *trans*-TrMS-Dihydrovitamin $K_1(20)$ (siehe Fig. 10) ist dem von *cis*-TrMS-Dihydro-phytylubichinon sehr ähnlich. Auch Unterschiede dieses Spektrums zu dem (hier nicht dargestellten) Spektrum der *cis*-Verbindung sind mit denen des TrMS-Dihydro-ubichinonpaares (Fig. 6 und 7) vergleichbar, und alles dort Gesagte gilt daher auch in diesem Falle.

III. Untersuchung der Vitamine der K_2 -Reihe

Folgende Verbindungen wurden untersucht:



- all-trans* $K_2(10)$ $n = 2$
- all-trans* $K_2(15)$ $n = 3$
- all-trans* $K_2(20)$ $n = 4$
- all-trans* $K_2(25)$ $n = 5$
- all-trans* $K_2(35)$ $n = 7$
- all-trans* $K_2(45)$ $n = 9$

Auf Grund der beschriebenen Erfahrungen bei den Versuchen zur gas-chromatographischen Direktanalyse von Phytylubichinon und Vitamin K_1 wurde auf entsprechende Versuche verzichtet.

Untersuchung der Dihydro-TrMS-Derivate. Die orientierenden Versuche zur Herstellung der Dihydro-TrMS-Derivate wurden an Vitamin $K_2(20)$ durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass die katalytische Reduktion nach der beim Ubichinon verwendeten Vorschrift nicht brauchbar war, da eine teilweise Hydrierung der Doppelbindungen in der Kette eintrat (Pike bei $M + 2$, $M + 4$ usw. im Massenspektrum). NaHSO_3 erwies sich hingegen als einwandfreies Reduktionsmittel.

Herstellung der TrMS-Derivate. In einen 200-ml-Rundkolben schüttet man eine Lösung von 250 mg Vitamin $K_2(20)$ in 25 ml Äther und fügt dazu 25 ml einer 2,5-proz. wässrigen Lösung von NaHSO_3 . Der mit CO_2 begaste und gut verschlossene Kolben wird alsdann solange geschüttelt bis die Lösung farblos geworden ist. Hierauf giesst man den Kolbeninhalt in einen Scheidetrichter, der zuvor mit CO_2 begast wurde, und trennt die wässrige Phase ab. Nach zweimaligem Waschen mit dest. Wasser wird die Ätherphase mit Na_2SO_4 getrocknet, durch Watte filtriert und der Äther im Vakuum abgedampft. Die entsprechende Menge (15-facher Überschuss) N-Trimethylsilylacetamid, gelöst in 10 ml Pyridin, wird zugegeben. Nach einer Reaktionszeit von ca. 30 Min. kann die Lösung analysiert werden.

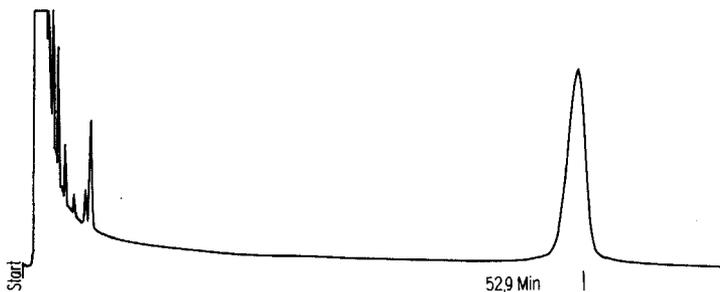


Fig. 11. Gas-Chromatogramm von trans-TrMS-Dihydrovitamin $K_2(25)$

Es wurde eine Trennsäule von 2 m Länge und mit einer Belegung von 3% Silicon UCW 98 verwendet; Säulentemp.: 280°

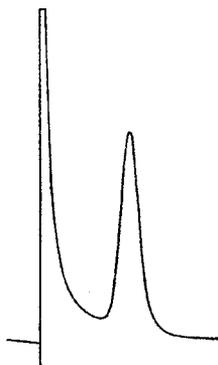


Fig. 12. Gas-Chromatogramm von trans-TrMS-Dihydrovitamin $K_2(45)$

Trennsäule: 50 cm lang; Belegung: 3% Silicon UCW 98; Säulentemp.: 280°

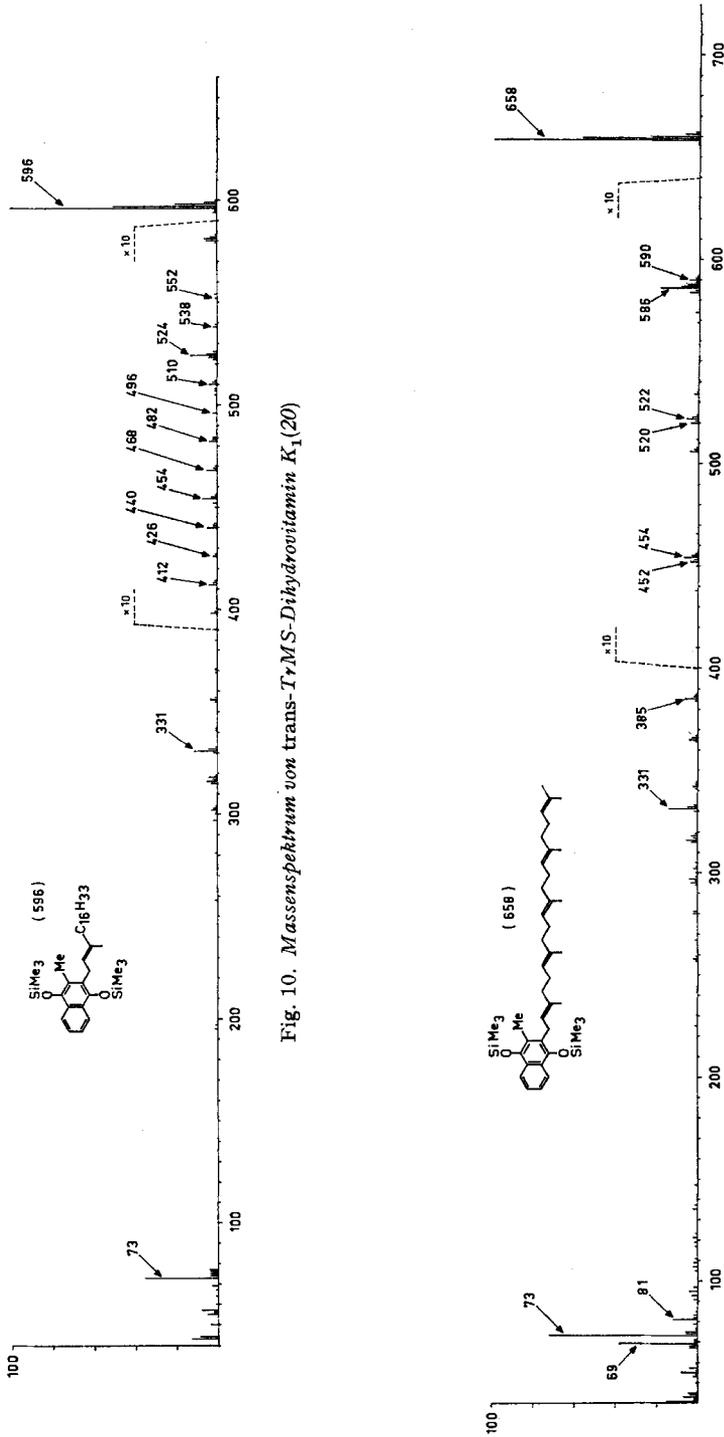


Fig. 10. Massenspektrum von trans-TrMS-Dihydrovitamin K₁ (20)

Fig. 13. Massenspektrum von trans-TrMS-Dihydrovitamin K₂ (25)

Apiezon L und Silicon UCW-98 in 3% Belegung erwiesen sich als geeignete stationäre Phasen. Figur 11 und 12 zeigen Gas-Chromatogramme der TrMS-Derivate von *trans*-Vitamin K₂(25) und *trans*-Vitamin K₂(45).

Die gas-chromatographische Reproduzierbarkeit wurde durch je eine Messreihe für die Verbindungen K₂(25) und K₂(45) geprüft. Während die Abweichungen für K₂(25) im üblichen Rahmen der gas-chromatographischen Genauigkeit liegen, ergibt sich für K₂(45) bei Ausführung einer Dreifachbestimmung und 95-proz. statistischer Sicherheit ein Fehler von $\pm 15\%$ (Standardabweichung: $\pm 10,4\%$).

Von den gas-chromatographischen Fraktionen aller TrMS-Derivate einschliesslich TrMS-Dihydrovitamin K₂(45) (*M*: 930) konnten im Massenspektrum die erwarteten Molekel-Ion-Pike einwandfrei nachgewiesen werden²⁾.

Das Massenspektrum von TrMS-Dihydrovitamin K₂(25) ist als Beispiel dieser Reihe in Figur 13 (s. S. 1877) wiedergegeben. Wieder ist die starke Ähnlichkeit mit den Spektren der Dihydro-TrMS-Derivate von Phytylubichinon und Vitamin K₁ auffallend: Der sehr intensive Molekel-Ion-Pik sowie die Fragmentpike bei *m/e* 73 und *m/e* 331 dominieren im Spektrum. Die ungesättigte Seitenkette erzeugt jedoch einige charakteristische Fragmente, die in den vorher diskutierten Spektren fehlen.

Wie bei den Plastochinonen [6] und Ubichinonen [7] selbst, erscheint eine Reihe von Piken im oberen Massenbereich, die von Fragmentierungen der doppelt allylischen Bindungen in der Seitenkette stammen. Im Gegensatz zu den Chinonen sind diese Fragmentierungen in den vorliegenden TrMS-Derivaten jedoch meist von der Umlagerung jeweils eines H-Atoms begleitet, die entweder in Richtung zum geladenen Fragment hin oder von ihm weg erfolgen kann. Dadurch entstehen jeweils 2 Pike mit gerader Massenzahl (452 und 454, 520 und 522, 588 und 590 in Fig. 13). Der Mechanismus dieser Reaktion ist nicht geklärt.

In diesem Zusammenhang ist bemerkenswert, dass sich die Polyisoprenketten je nach den funktionellen Gruppen mit denen sie verknüpft sind, etwas verschieden fragmentieren. In den vorliegenden Fällen sowie in Chromanderivaten vom Typ der Tocotrienole [11] erfolgt der Abbau hauptsächlich durch Bruch der allylischen Bindungen mit *H-Umlagerungen*. In den Verbindungen mit Chinonstruktur dagegen treten hauptsächlich Spaltungen dieser Bindungen ohne *H-Umlagerungen* auf. Der Mechanismus, durch den die relativ weit entfernten funktionellen Gruppen ihren Einfluss auf die Fragmentierung der Kette ausüben, ist noch nicht bekannt.

Im unteren Massenbereich gibt die ungesättigte Kette zu charakteristischen Piken bei *m/e* 69 und *m/e* 81 Anlass. Die Intensität des Piks 81 relativ zu 69 nimmt mit der Anzahl der Isoprenreste in der Kette regelmässig zu. Aus den Massenzahlen dieser Pike und aus dieser Beziehung ihrer Intensitäten kann man schliessen, dass das Ion der Masse 69 das Kettenende repräsentiert, während 81 aus dem Inneren der Kette stammen muss.

Alle genannten Vertreter der Vitamin K₂-Reihe wurden auch *direkt* als Chinone im Massenspektrometer untersucht [12]. Unsere Beobachtungen an diesen Verbindungen decken sich mit den von LEDERER *et al.* [6] über die Massenspektren von

²⁾ Im Massenspektrum von TrMS-Vitamin K₂(45) tritt neben dem Molekel-Ion-Pik bei *m/e* 930 noch ein Pik bei *m/e* 932 auf (Intensität $\sim 20\%$ des Piks bei *m/e* 930), der vermutlich von einem oder mehreren Dihydroderivaten von Vitamin K₂(45) stammt, deren Herkunft und genaue Struktur jedoch nicht bekannt sind.

Plastochinonen publizierten Ergebnissen sowie mit den schon erwähnten Untersuchungen an Ubichinonen [7]: Es ist möglich, die Molekulargewichte der Verbindungen einwandfrei zu bestimmen. Man erhält eine Reihe charakteristischer Pike, die durch Fragmentierung der Seitenkette an den allylischen Bindungen entstehen. Der Basispektrale erscheint stets wie im Spektrum des Vitamins K₁ [8] bei *m/e* 225. Andererseits treten auch hier in allen Fällen die schon erwähnten thermischen Umwandlungsprodukte auf, und zwar in umso grösserem Ausmass, je höher die Molekulargewichte der Verbindungen liegen.

SUMMARY

The trimethylsilyl ethers of reduced vitamins K₁, K₂, and of phytylubiquinone were investigated by means of gas chromatography and mass spectrometry.

These derivatives turned out to be well suited for quantitative analysis by gas chromatography, in contrast to the original quinones which undergo considerable thermal change.

Forschungsabteilung der
F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG, Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Zusammenfassende Arbeit über direkte Kopplung von Gas-Chromatograph und Massenspektrometer: J. A. VÖLLMIN, W. SIMON & R. KAISER, *Z. analyt. Chem.* **229**, 1 (1967).
- [2] a) A. G. SHARKEY JR., R. A. FRIEDEL & S. H. LANGER, *Analyt. Chemistry* **29**, 770 (1957);
b) C. C. SWEELEY, R. BENTLEY, M. MAKITA & W. W. WELLS, *J. Amer. chem. Soc.* **85**, 2497 (1963).
- [3] M. VECCHI & K. KAISER, *J. Chromatogr.* **26**, 22 (1967).
- [4] M. VECCHI, W. VETTER & W. WALTHER, *Helv.* **50**, 1243 (1967).
- [5] W. RICHTER, M. VECCHI, W. VETTER & W. WALTHER, *Helv.* **50**, 364 (1967).
- [6] B. C. DAS, M. LOUNASMAA, C. TENDILLE & E. LEDERER, *Biochem. biophysica Res. Commun.* **27**, 318 (1965).
- [7] R. F. MURACA, J. S. WHITTICK, G. DOYLE DAVES JR., PALLE FRIIS & KARL FOLKERS, *J. Amer. chem. Soc.* **89**, 1505 (1967).
- [8] S. J. DI MARI, J. H. SUPPLE & A. RAPOPORT, *J. Amer. chem. Soc.* **88**, 1226 (1966).
- [9] HIROSHI MORIMOTO, TAKASHI SHINNE & ISUKE IMACHE, *Biochem. Z.* **343**, 329 (1965).
- [10] M. J. O'NEAL JR. & T. P. WIER JR., *Analyt. Chemistry* **23**, 830 (1954).
- [11] H. J. MAYER, J. METZGER & O. ISLER, *Helv.* **50**, 1376 (1967).
- [12] Unpublizierte Ergebnisse (W. VETTER).

195. Die Koordinationstendenz des Murexid-Ions

von G. Geier

(25. VIII. 67)

Im Zusammenhang mit der kinetischen Untersuchung der Metallion-Wasser-Bindung in den Aquokomplexen, erwies sich das Murexid (Purpureat-Ion) als ganz besonders günstiger Reaktionspartner [1]. In Erweiterung dieser begonnenen Untersuchung wird in der vorliegenden Arbeit über die Koordinationstendenz des Murexids mit einer Anzahl Metall-Ionen der Klassen A und B berichtet. Eine folgende Publikation behandelt die Kinetik dieser Murexidkomplexbildungen [2].