

7. Nachweis von Fragment-Genesen im Massenspektrometer

1. Mitteilung

Struktur des Schlüsselfragmentes von Bisamidin (3,3,4,4-Tetramethyl-5-imino-1-pyrrolin-2-yl)- (3',3',4',4'-tetramethyl-5'-iminopyrrolidin-2'-yliden)-methan), einem Zwischenprodukt zur Synthese von Hexahydroporphinen

von Urs Peter Schlunegger, Samuel Leutwyler¹⁾, Felix Friedli und Rolf Scheffold

Institut für organische Chemie der Universität Bern
Erlachstrasse 9a, CH-3012 Bern

(16. X. 74)

Summary. The structure of the fragment-ion *m/e* 178 of the title compound was elucidated by the analysis of its formation and its subsequent fragmentation, using DADI, defocussing, peak matching, and deuterium labeling.

Einleitung. – In dieser und einer Reihe weiterer Arbeiten berichten wir über den kombinierten Einsatz verschiedener, auch neuer massenspektrometrischer Techniken zum experimentellen Nachweis der konsekutiven Bildung von Molekel-Fragmenten (Fragment-Genese) im Massenspektrometer. Die genaue Kenntnis der Fragment-Genese erlaubt nicht nur, das Fragmentierungs-Verhalten von Verbindungen zu klären, sondern liefert Informationen über im feldfreien Raum gebildete Fragmente. In Verbindung mit der klassischen Massenspektrometrie erleichtern diese Informationen die Strukturbestimmung von Verbindungen, das Studium von Umlagerungsreaktionen im Massenspektrometer oder die Sequenzanalyse periodisch aufgebauter Molekeln – zum Beispiel Oligopeptide – in reiner Form oder sogar in Gemischen²⁾).

In diesem Zusammenhang kommt der 'Direct Analysis of Daughter Ions', der DADI-Massenspektrometrie, eine besondere Bedeutung zu. Sie wurde erstmals 1971 vorgestellt [2] und lässt sich zum Beispiel in doppelfokussierenden Massenspektrometern mit einem magnetischen und einem nachfolgenden elektrostatischen Ablenkfeld durchführen (inverse *Nier-Johnson*-Geometrie). Im Prinzip wählt man bei der DADI-Massenspektrometrie bei der ersten Ablenkung mit einer geeigneten Magnetfeldstärke Ionen einer einzelnen, interessierenden Massenzahl aus. Die aus Ionen dieser Massenzahl im nachfolgenden feldfreien Raum entstehenden Fragmente werden im anschliessenden elektrostatischen Ablenkfeld analysiert. Im Scan des elektrostatischen Ablenkfeldes erfasst man dabei ausschliesslich³⁾ die Folgeprodukte der

¹⁾ Auszug aus der Lizentiatsarbeit von S. Leutwyler am Institut für organische Chemie der Universität Bern.

²⁾ Über ausgewählte Beispiele wurde kürzlich an der Tagung der Arbeitsgemeinschaft Massenspektrometrie berichtet [1].

³⁾ Neueste Ergebnisse im Rahmen unserer Arbeiten haben gezeigt, dass vereinzelt im Scan des elektrostatischen Sektorfeldes Signale auftreten, die auf Ionen anderer Genese hindeuten. Diese Signale sind aufgrund ihrer Form und Lage leicht zu erkennen. Arbeiten zur Untersuchung dieser Phänomene sind zur Zeit im Gange.

mit dem Magnetfeld ausgewählten Ionen, Die im feldfreien Raum zwischen Magnet- und elektrostatischem Feld auftretenden Zerfälle folgen – soweit heute bekannt – den klassischen Fragmentierungsregeln [3]. Die auf diese Art gewonnenen DADI-Spektren⁴⁾ sind wegen der gezielten Auswahl der Ausgangs-Ionen (im Magnetfeld) sehr einfach und leicht interpretierbar. Das von Daten aus der klassischen Massenspektrometrie, der Massenfnebestimmung, der DADI-Massenspektrometrie und Defokussierexperimenten nach *Barber-Elliott* [4] durch Kombination gewonnene, umfangreiche Material lässt sich in seiner Gesamtheit am besten graphisch erfassen. Eine derartige Darstellung ist in den Figuren 1–3 gezeigt. Darin sind die mit der DADI-Methode gemessenen Übergänge von einer Ionensorte auf einem gegebenen Massenniveau zu den daraus entstehenden Folgeionen als eine Schar von senkrecht nach unten weisenden Pfeilen eingezeichnet. Daten aus Defokussier-Messungen nach *Barber-Elliott* [4] im ersten feldfreien Raum des Massenspektrometers (gleichbedeutend mit der Suche nach den Vorläufern einer interessierenden Ionenart) sind als nach oben weisende Pfeile eingezeichnet. Daten aus Massenfnebestimmungen (peak matching) sind als Summenformeln, Massenzahlen als waagrecht stehende und Massendifferenzen als senkrecht stehende Zahlen angegeben.

Die aus den Messdaten gewonnenen genetischen Ionenbeziehungen stellen wir im Textteil wie folgt dar:

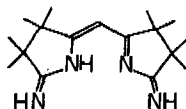
Bei DADI-Daten weist ein Pfeil von der Massenzahl des Ausgangsions nach rechts zu der in eckiger Klammer gesetzten Schar der Folgeionen (Beispiel aus Fig. 1: m/e 288 → [273, 259, 246, 245, 232, 220, 203, 193, 178, 160, 152]). Die in eckiger Klammer gesetzten Massenzahlen entsprechen Ionen einer Generation. Massenzahlen, die Ionen eines Fragmentierungszuges entsprechen und damit verschiedenen Generationen angehören, werden durch nach rechts weisende Pfeile verbunden (Beispiel aus den Figuren 1–3: m/e 288 → 273 → 137 → 96). Bei Defokussier-Daten weist der Pfeil von der in eckiger Klammer gesetzten Schar der Vorläufer-Ionen nach links zu der Massenzahl des analysierten Ions (Beispiel aus Fig. 2: m/e 178 ← [195, 219, 246, 273, 288]).

Strukturaufklärung des Schlüsselfragmentes m/e 178 des Bisamidins 1. –

Im Rahmen von Arbeiten zur Synthese porphinoider Metallkomplexe [5] wurde (3, 3, 4, 4-Tetramethyl-5-imino-1-pyrrolin-2-yl)-(3', 3', 4', 4'-tetramethyl-5'-imino-pyrrolidin-2'-yliden)-methan (Bisamidin, vgl. Formel 1) durch eine Reaktion von Methylmagnesiumjodid mit Tetramethylbernsteinsäuredinitril hergestellt. (Klassisches Massenspektrum von 1 siehe exper. Teil.) Zur Aufklärung des Mechanismus dieser Reaktion wurde der Magnesiumkomplex des Dianions von 3,3,4,4-Tetramethyl-5-imino-2-methylen-pyrrolidin mit Dodecadeuterio-tetramethylbernsteinsäuredinitril umgesetzt, wobei sich Dodecadeuterio-bisamidin **1-d₁₂** bildete. Der Strukturbeweis von **1-d₁₂** stützt sich vor allem auf die im Massenspektrum bei m/e 178 und m/e 190 gemessenen Signale, von welchen angenommen wird, dass sie Schlüsselfragmenten entsprechen, welche vier Methyl- bzw. Trideuterio-methylgruppen tragen, die nur an einen Ring der ursprünglichen Molekel gebunden waren. Es verbleibt damit die

⁴⁾ Eine Konvention über die Angabe der Intensität von DADI-Signalen besteht zur Zeit nicht. Sie ist auch aus technischen Gründen nicht immer einfach zu realisieren, vgl. [3]. In dieser Arbeit wird deshalb auf die Intensitätsangabe verzichtet.

Aufgabe, die Konstitution des Schlüsselfragments m/e 178 des Bisamidins **1** experimentell eindeutig aufzuklären oder zumindest zu beweisen, dass es vier Methylgruppen enthält, die an zwei benachbarte Kohlenstoffatome gebunden sind.

Bisamidin **1**

Die systematische Analyse des Bisamidins mit der DADI-MS., Defokussiermessungen und Masseneinbestimmungen ergab ein sehr umfangreiches Datenmaterial, das in den Figuren 1–3 graphisch dargestellt ist. Für die hier zur Diskussion stehende Frage sind allerdings nur ausgewählte Daten von Interesse⁵⁾, welche in der Tabelle zusammengefasst sind.

Bei der Interpretation dieser ausgewählten Daten gehen wir davon aus, dass die Struktur von Bisamidin **1** gesichert ist [5]. Die Messdaten zeigen, dass das zur Diskussion stehende Schlüsselion bei m/e 178 auf vier verschiedenen Wegen entsteht (plausible Strukturen sind im *Schema* angegeben):

Die direkte Bildung aus dem Ion bei m/e 288 (m/e 288 \rightarrow 178) durch Verlust von 110 Masseneinheiten bedingt den Bruch zweier Bindungen, wobei das hypothetische Zwischenprodukt immer noch die Masse 288 aufweisen muss. Die plausiblen Bruchstellen sind einerseits die C(α)-C(β)-Bindung im Pyrrolidinring (α -Spaltung in bezug zum Stickstoffatom) und andererseits die C-N-Einfachbindung ausgehend vom Amidinkohlenstoffatom. Welche der beiden Bindungen zuerst gespalten wird, ist nicht zu entscheiden. Der aus dem Bruch beider Bindungen im Übergang m/e 288 \rightarrow 178 resultierende Verlust eines C₇H₁₂N-Neutralteilchens wurde durch alle angewendeten Methoden belegt (Masseneinbestimmung, DADI, Defokussierung).

Diese Direkt-Generierung von m/e 178 wird von zwei Zweistufenprozessen flankiert. Der eine (m/e 288 \rightarrow 273 \rightarrow 178) führt nach einer primären Eliminierung eines Methyl-Radikals zu einem Ion bei m/e 273⁶⁾. Daraus entsteht das Schlüssel-Ion bei m/e 178 unter Bruch der gleichen Bindungen wie bei der Direktbildung.

Der andere Weg (m/e 288 \rightarrow 220 \rightarrow 178) führt ebenfalls über die Spaltung von zwei Bindungen zur Abspaltung von C₄H₆N. Der letzte Schritt besteht im Verlust von Propen (C₃H₆) zur interessierenden Spezies bei m/e 178.

Defokussier-Experimente zeigten, dass neben dem beschriebenen Weg (m/e 220 \rightarrow 178) zusätzlich noch die Fragmentierungs-Sequenz m/e 220 \rightarrow 219 \rightarrow 178, d. h. die konsekutive Abspaltung von H⁺ und C₃H₅⁺ auftritt.

Die hier aufgeführten Generierungsarten von m/e 178 wurden zudem durch die Fragmentierung des an den Methylgruppen deuterierten Bisamidins (C₁₇H₄D₂₄N₄, **1-d₂₄**) belegt. Dem Ion bei m/e 178 entspricht in diesem Falle die Spezies bei m/e 190 (d₁₂).

Die dem Schlüssel-Ion bei m/e 178 im *Schema* zugeordnete Struktur wird nicht nur durch seine Genese, sondern auch durch sein weiteres Fragmentierungsverhalten

⁵⁾ Die Diskussion der gesamten Daten wird später publiziert.

⁶⁾ Die vorgeschlagene Struktur des Ions bei m/e 273 geht aus einer weiteren DADI-Analyse hervor und wird an einer anderen Stelle diskutiert.

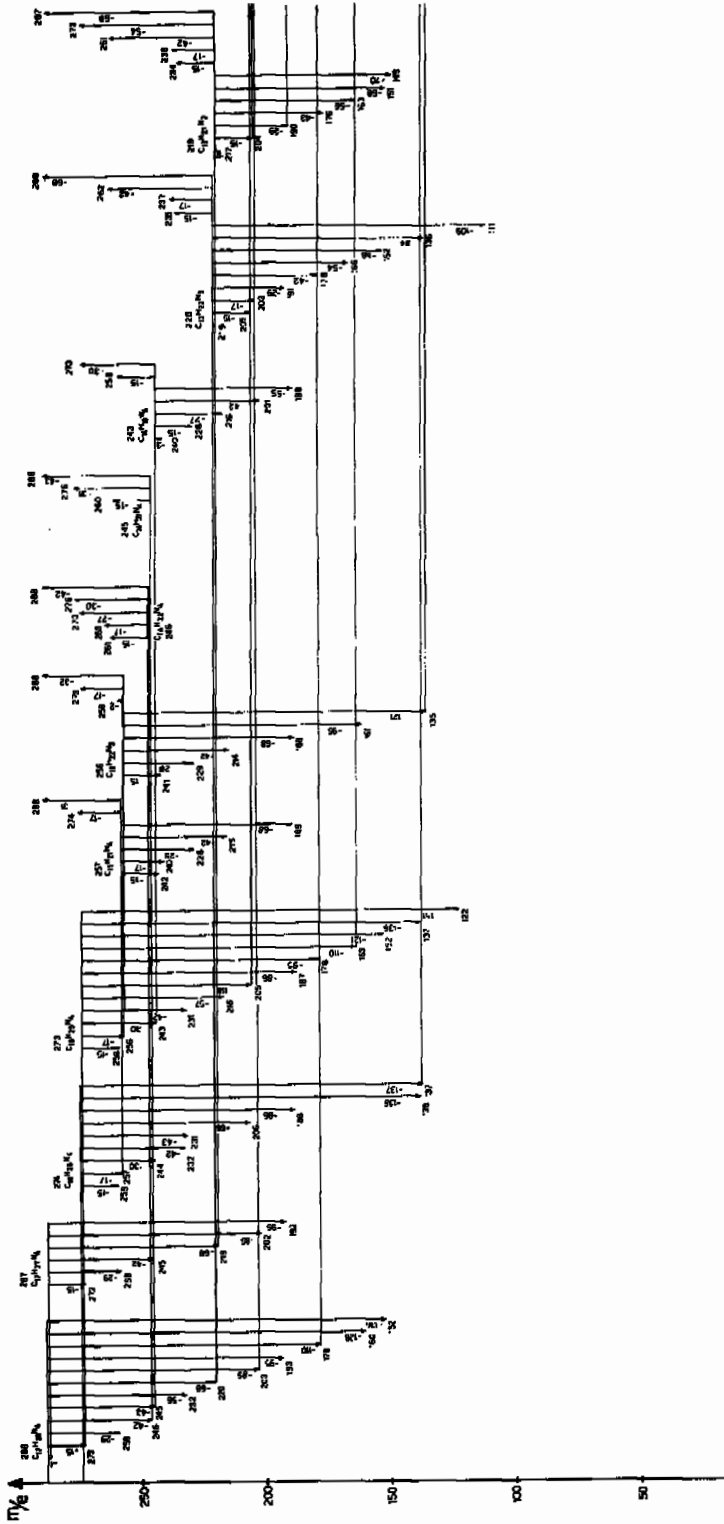


Fig. 1. DADI-Defokussier-Spektrum von Bisamidin 1 (m/e 288 bis m/e 219)

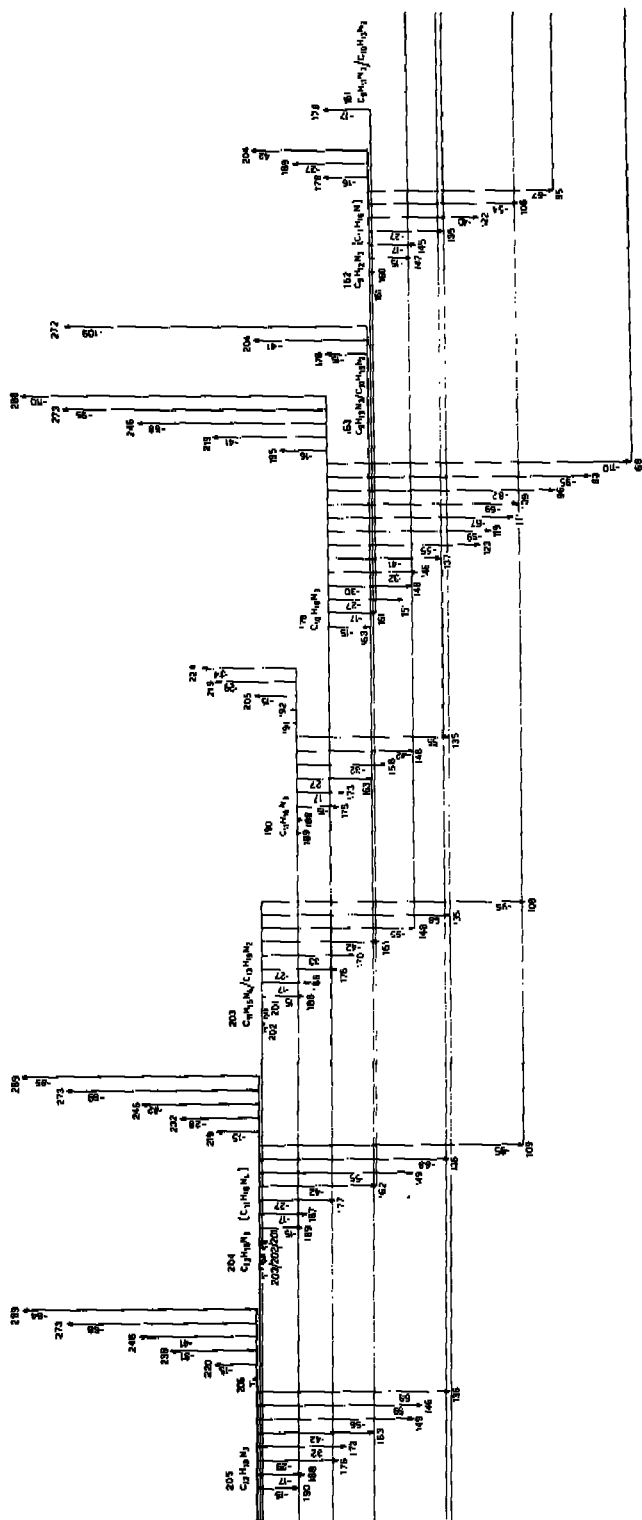


Fig. 2. Fortsetzung DADI-Defokussier-Spektrum von Bisamidin 1 (m/e 205 bis m/e 161)

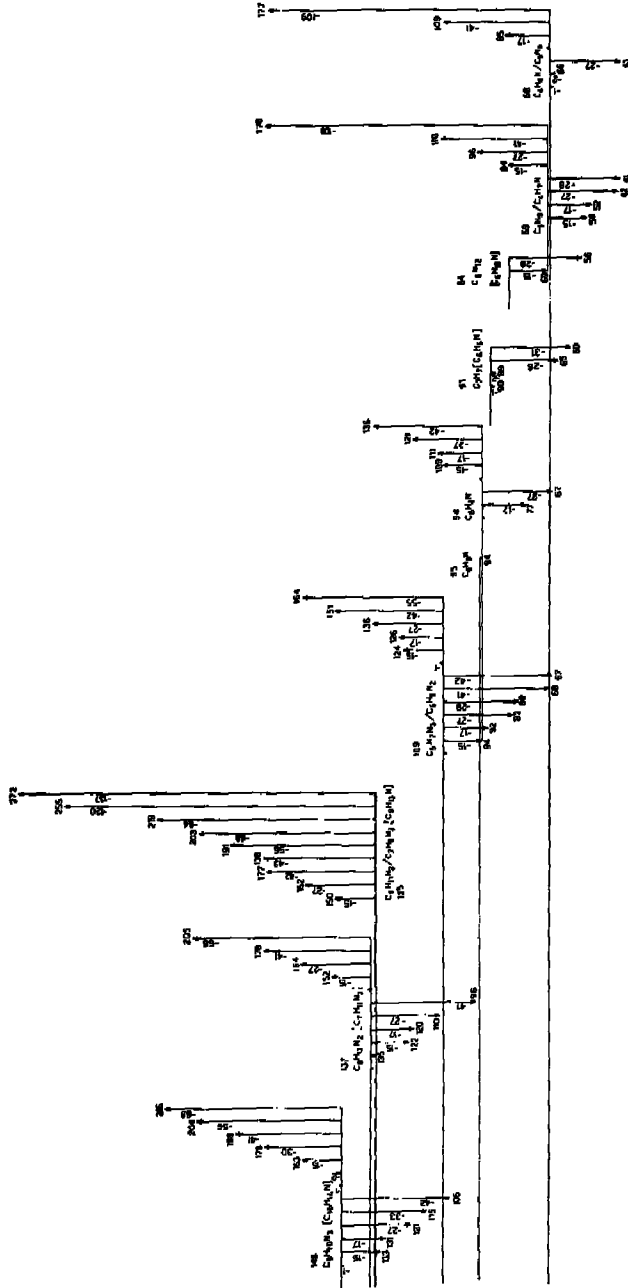


Fig. 3. Fortsetzung D.A.I.-Defokussier-Spektrum von Bisamidin 1 (m/e 148 bis m/e 68)

Tabelle. *Ausgewählte massenspektrometrische Daten von Bisamidin 1 zur Genese und Fragmentierung des Schlüsselions bei m/e 178 (in runden Klammern: analoge Fragmente aus an den Methylgruppen deuteriertem Bisamidin 1-d_{2d})*

Ion	Massenfeybestimmung	Folgen-Ionen (DADI)	Vorgänger-Ionen (Defokussiert)
a) zur Entstehung von m/e 178			
288 (312: d _{2d})	C ₁₇ H ₂₈ N ₄	[273, 220, 178] ([294, 238, 190])	-
273 (294: d _{2d})	C ₁₆ H ₂₆ N ₄	178 (190)	
220 (238: d ₁₈)	C ₁₃ H ₂₂ N ₃	[219, 178]	288
219	C ₁₃ H ₂₁ N ₃	m/e 178 nicht nachweisbar	
178 (190: d ₁₈)	C ₁₀ H ₁₆ N ₃	(vgl. unten)	[219, 273, 288]
b) zum weiteren Schicksal von m/e 178			
178 (190: d ₁₂)	C ₁₀ H ₁₆ N ₃	[163, 148, 109, 69] ([172, 154, 115, 75])	
163 (172: d ₉)	C ₉ H ₁₀ N ₃	148 (154)	178
148 [154: d ₆]	C ₈ H ₁₀ N ₃	[133, 131, 121, 106]	[178, 163]
109 (115: d ₆)	C ₉ H ₉ N ₂		
106	C ₇ H ₈ N		
69 (75: d ₆)	C ₄ H ₇ N		178

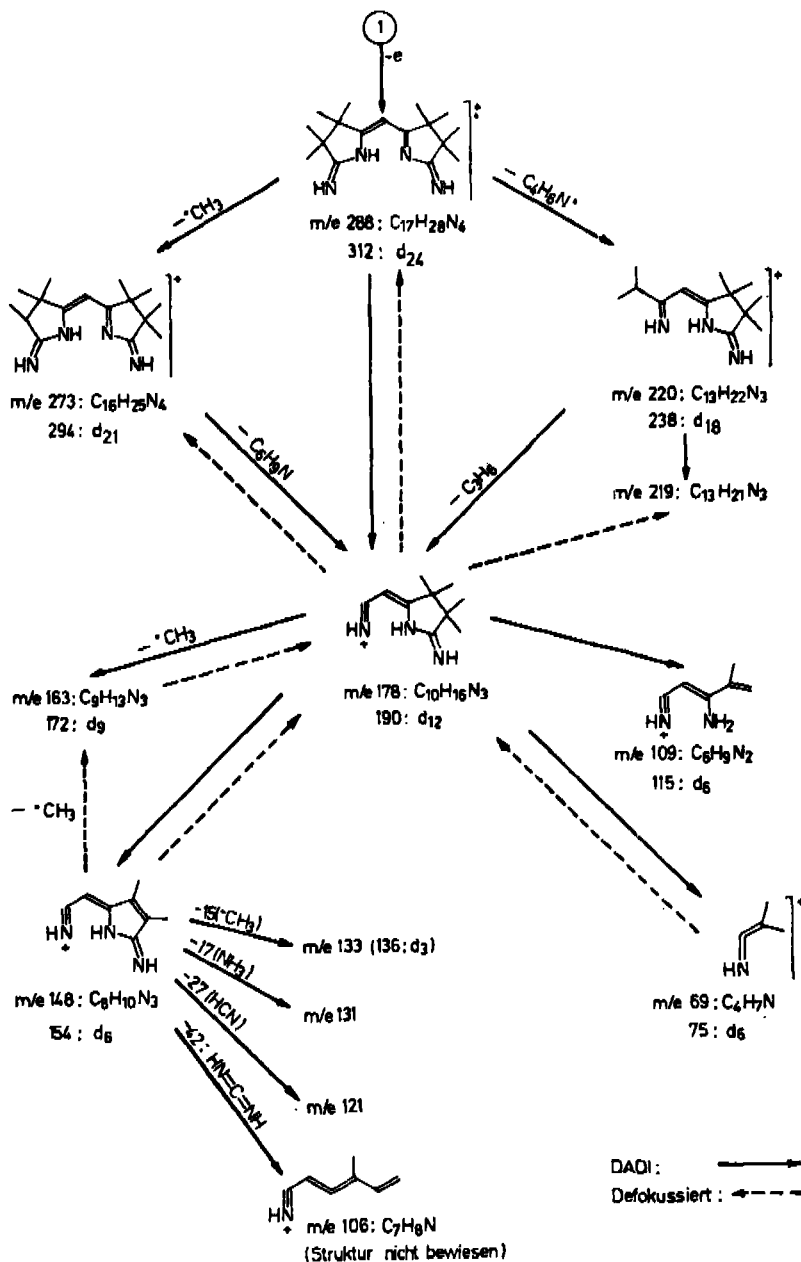
sehr wahrscheinlich gemacht. Hier leistet uns im Gegensatz zur klassischen Massenspektrometrie die DADI-Analyse besonders wertvolle Dienste, indem sie uns die direkten Folge-Ionen von m/e 178, bzw. dessen Massenspektrum aufzeigt.

Zwei Hauptfragmentierungszüge liessen sich nachweisen:

Der eine (m/e 178 → [109, 69]) entspricht einer Fragmentierung des Pyrrolidin-Ringes wiederum unter Bruch je einer C-C- und C-N-Einfachbindung. Daraus resultieren zwei Fragmente, die beide als Neutralteilchen wie auch als Kation nachgewiesen wurden, und zwar das Ion bei m/e 109 (Abspaltung des Neutralteilchens C₄H₇N) und das Ion bei m/e 69 (Abspaltung des Neutralteilchens C₆H₉N₃). Die Massenfeybestimmung von m/e 109 ergab die Elementar-Zusammensetzung C₆H₉N₂⁷⁾. Im deuterierten Bisamidin erschien nach der DADI-Analyse an Stelle von m/e 109 die Spezies bei m/e 115, was auf die Bruttoformel C₆H₃D₆N₂ hinweist. Das Fragment bei m/e 109 enthält demnach die beiden Kohlenstoffatome von ursprünglich zwei Methylgruppen. Die Massenfeybestimmung von m/e 69 ergab die Zusammensetzung C₄H₇N. Im deuterierten Bisamidin entspricht dieses Fragment nach der DADI-Analyse der Spezies bei m/e 75 entsprechend C₄HD₆N. Daraus ergibt sich die Anwesenheit von zwei weiteren Methylgruppen aus dem Schlüssel-Ion.

⁷⁾ Die genaue Analyse zeigte, dass im PiK bei m/e 109 noch andere Ionen kleinerer Intensität enthalten sind.

Schema. *Genese und Fragmentierung des Schlüssel-Ions bei m/e 178* (Lokalisierung der Ladung und der Mehrfachbindungen, Konfiguration und Konformation aus Gründen der Übersichtlichkeit willkürlich eingezeichnet)



Der zweite massenspektrometrische Abbauweg des Ions bei m/e 178 (m/e 178 \rightarrow 163 \rightarrow 148 \rightarrow [133, 131, 121, 106]) führt über eine konsekutive Abspaltung von zwei Methylradikalen zum Ion bei m/e 148. Interessanterweise wurde auch ein direkter Übergang von m/e 178 \rightarrow 148 beobachtet. Die mit DADI belegten Übergänge stim-

men mit den Resultaten der Massenfleinbestimmung überein. Zusätzlich sind die beiden einleitenden Demethylierungsschritte durch die Ergebnisse des Defokussier-Experimentes und die Messung an der deuterierten Verbindung – zweimaliger konsekutiver Verlust von CD_3 – belegt. Die Ionensorte bei m/e 148 zeigt eine Reihe plausibler Fragmentierungen, so der Verlust eines weiteren Methylradikals zu m/e 133, die Abspaltung von Ammoniak zu m/e 131, die Eliminierung von HCN zu m/e 121, sowie die Bildung des Ions bei m/e 106 von der Elementarzusammensetzung $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}$, was der Abspaltung von Carbodiimid entsprechen würde. Die Struktur des Ions bei m/e 106 wurde nicht weiter untersucht; eine plausible Konstitution wurde im *Schema* eingezeichnet.

Somit lässt sich aussagen, dass die aus der Untersuchung der Genese abgeleitete Struktur des Schlüssel-Ions bei m/e 178 auch mit seinem weiteren Fragmentierungsverhalten in Einklang steht. Es darf daher geschlossen werden, dass dem Schlüssel-Ion bei m/e 178 mit grosser Wahrscheinlichkeit die im *Schema* angegebene Konstitution zukommt.

Wir danken dem *Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* (Projekte Nr. 2.885.73 und 2.0410.73) für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

Die klassischen Massenspektren, die Massenfleinbestimmung, die Defokussier-Experimente und die DADI-Analysen wurden auf einem Massenspektrometer *Varian MAT CH5-DF* durchgeführt. Temperatur der Ionenquelle: 250° . Ionisation durch Elektronenstoss (70 eV). Proben-temperatur: ca. 100° .

Klassische Massenspektren (es werden nur die direkt interessierenden Werte angegeben, das vollständige Spektrum wird an anderer Stelle diskutiert werden):

- von Bisamidin I: 288 (40,7), 273 (100), 220 (3,7), 219 (3,7), 178 (65,4), 163 (4,9), 148 (6,2), 109 (7,4), 106 (1,2), 69 (11,1)
- von Bisamidin 1- d_{24} : 312 (36), 294 (91), 238 (2), 237 (2), 190 (100), 172 (5), 154 (6), 115 (9), 75 (4).

Synthese von Bisamidin 1- d_{24} : Bisamidin 1- d_{24} wurde nach [5] unter Verwendung von Dodecadeuterio-bernsteinsäuredinitril hergestellt.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] U. P. Schlunegger, Vortrag an der Tagung der Arbeitsgemeinschaft Massenspektrometrie der DPG, der GdCh und der Deutschen Bunsengesellschaft, 2.–4. Oktober 1974 in Marburg/Lahn.
- [2] K. H. Maurer, C. Brunne, G. Kappus, K. Habfast, U. Schröder & P. Schulze, ASTM Committee E. 14, Nineteenth Annual Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Atlanta, Ga., Mai 1971.
- [3] D. H. Smith, C. Djerassi, K. H. Maurer & U. Rapp, J. Amer. chem. Soc. 96, 3482–86 (1974).
- [4] M. Barber & R. M. Elliott, Vortrag an der 12th Annual Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Montreal, 1964.
- [5] R. Scheffold, J. Löliger, H. Blaser & P. Geisser, Helv. 58, 49 (1974).