

Vergleichende massenspektrometrische Untersuchung einiger Purinderivate

Von

G. Spitteller und M. Spitteller-Friedmann

Aus dem Organisch-chemischen Institut der Universität Wien

Mit 1 Abbildung

(Eingegangen am 20. März 1961)

Purine geben sehr charakteristische Massenspektren. Durch Vergleich der Massenspektren von Coffein I, Theobromin II und Theophyllin III ist es möglich, einzelnen Spaltstücken eine bestimmte Struktur zuzuteilen und Gesetzmäßigkeiten für den Zerfall von Purinen im Massenspektrometer abzuleiten.

Bei Beschluß organischer Verbindungen mit Elektronen im Massenspektrometer entstehen bevorzugt Spaltstücke, zu deren Bildung ein Minimum an Energie erforderlich ist. Stoffe, die viele energetisch relativ gleichwertige Bindungen enthalten, wie z. B. Steroide, geben eine große Zahl von Bruchstücken, so daß die Deutung ihrer Massenspektren schwierig ist.

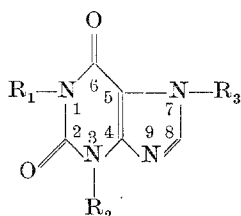
Besitzt ein Molekül dagegen energetisch stark unterschiedliche Bindungen, wie z. B. Verbindungen, welche Heteroatome oder aromatische Ringe enthalten, so treten im Massenspektrum meist nur wenige Spaltstücke auf, die der Bildung besonders energiearmer und daher begünstigter Fragmente entsprechen. Es ist daher oft wesentlich leichter, die Massenspektren solcher Verbindungen zu deuten, als die einfach gebauter alicyclischer Kohlenwasserstoffe, bei denen die Vielfalt der Spitzen eine eindeutige Zuordnung zu bestimmten Atomgruppen erschwert.

Aus den eben angeführten Überlegungen war zu schließen, daß auch Purine, die bisher noch nicht im Massenspektrometer untersucht worden waren, so wie andere heterocyclische Verbindungen charakteristische Massenspektren geben.

Es war das Ziel dieser Arbeit, durch Aufnahme der Massenspektren einiger Purine diese Annahme zu beweisen und gleichzeitig allgemeine Gesetzmäßigkeiten für die Bildung von Fragmenten in dieser Körperklasse aufzufinden.

Eine Zuordnung bestimmter Strukturen zu Bruchstücken ist in der Regel nur dann möglich, wenn einzelne Atomgruppen durch Austausch gegen andere „markiert“ werden, so daß in den Massenspektren solcher Verbindungen einander entsprechende Spaltstücke je nach dem Gehalt an markierten Atomen um eine bestimmte Anzahl Masseneinheiten verschoben sind. Durch Vergleich der Spektren ergibt sich, ob in einem Bruchstück die gesuchte Gruppierung noch vorhanden ist oder nicht.

In der Purinklasse ist eine künstliche Markierung nicht nötig: Coffein I, Theobromin II und Theophyllin III enthalten Methylgruppen in verschiedenen Stellungen, so daß eine vergleichende Untersuchung der Massenspektren ohne vorherige Markierung möglich ist.



- I: $R_1 = R_2 = R_3 = \text{CH}_3$
 II: $R_1 = \text{H}, R_2 = R_3 = \text{CH}_3$
 III: $R_1 = R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{H}$

Purine sind sehr stabile Verbindungen. Dies zeigt sich auch im Massenspektrum an den stark ausgeprägten Spitzen der Molekularionen, die an Intensität alle Fragmentspitzen übertreffen (Abb. 1).

Coffein I spaltet zunächst ein Bruchstück von 29 ME ab, so daß eine Spitze bei der MZ 165 entsteht. Da Coffein weder eine C_2H_5 - noch eine CHO-Gruppe enthält, ist der Verlust von 29 Masseneinheiten nur als Abspaltung einer $\text{N}-\text{CH}_3$ -Gruppe deutbar. Ein Vergleich mit den Massenspektren des Theobromins II und des Theophyllins III zeigt, daß offenbar ganz bevorzugt das N-1 als $\text{N}-\text{CH}_3$ -Gruppe eliminiert wird: Ebenso wie das Coffein verliert auch das Theophyllin, das auch am N-1 eine Methylgruppe trägt, 29 ME, während dagegen das Theobromin, dessen N-1 unsubstituiert ist, nur eine ganz schwache Spitze bei $\text{MG}-29$ zeigt.

Die nächste Spitze im Spektrum des Coffeins liegt bei der MZ 137. Dieses Fragment entspricht dem Verlust einer $\text{N}-\text{CH}_3$ - zusammen mit einer $\text{C}=\text{O}$ -Gruppe. Auch in diesem Bruchstück ist das N-1 offensichtlich nicht mehr enthalten: Während im Theophyllin eine hohe Spitze bei der MZ 123 liegt, die ebenfalls der Abspaltung einer $\text{CH}_3-\text{N}-\text{C}=\text{O}$ -Gruppe zugeordnet werden muß, findet sich im Massenspektrum des Theobromins eine ebenso starke Spitze bei der MZ 137. Dies zeigt, daß im Theobromin bevorzugt eine $\text{H}-\text{N}-\text{C}=\text{O}$ -Gruppe eliminiert wird und daher das

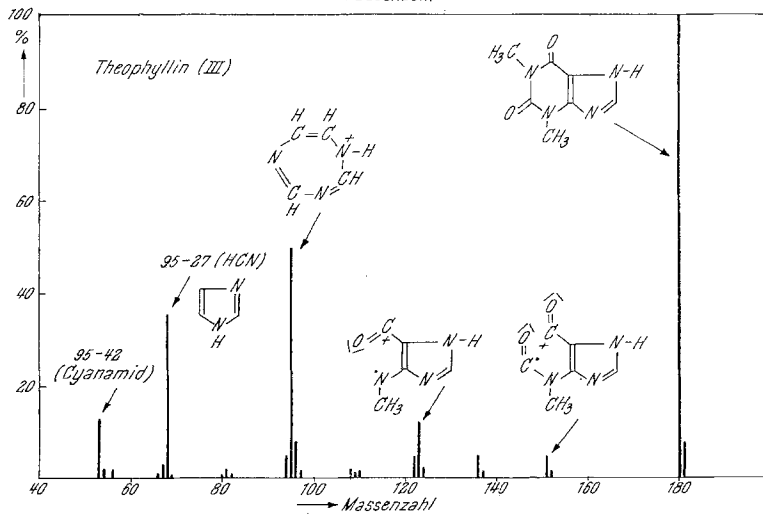
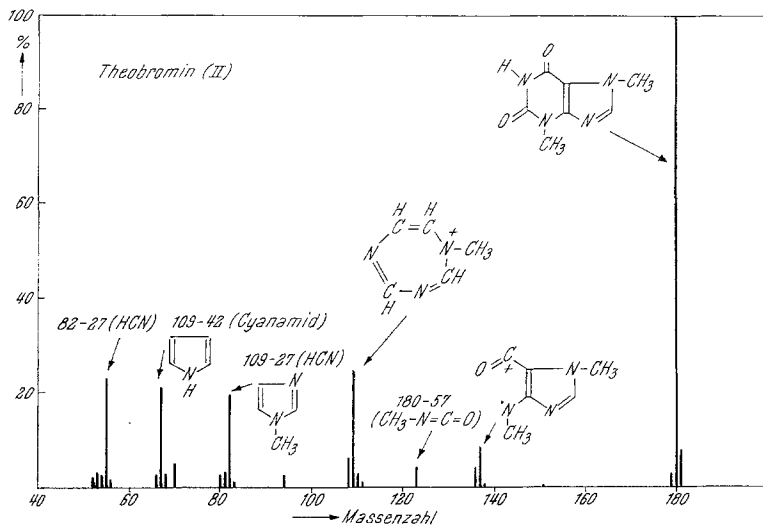
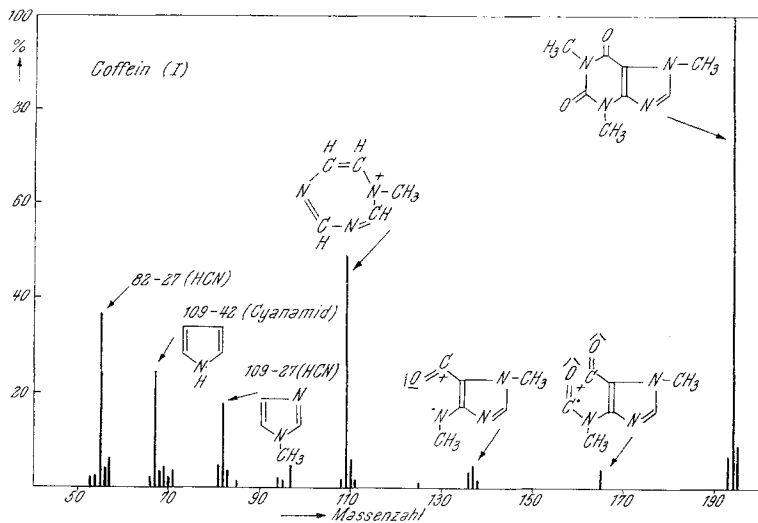


Abb. 1

Bruchstück der MZ 137 in den Spektren von Coffein und Theobromin idente Struktur haben sollte. Wesentlich ungünstiger scheint der Verlust des N-3 zusammen mit der benachbarten C=O-Gruppe zu sein, denn im Theobromin ist die der Abspaltung von 57 ME entsprechende Spitze nur recht schwach ausgeprägt. Das Massenspektrum des Theobromins zeigt eine metastabile Spitze bei der MZ 104,5, die dem Übergang 180 → 137 zugeordnet werden muß und somit erkennen läßt, daß die H—N—C=O-Gruppe als solche und nicht etwa stufenweise (zuerst als C=O und dann als NH oder umgekehrt) abgespalten wird.

Die höchste Fragmentenspitze im Massenspektrum des Coffeins und des Theobromins liegt bei der MZ 109. Da diese Spitze im Spektrum des Theophyllins zur MZ 95 verschoben ist, muß angenommen werden, daß das Bruchstück der MZ 109 bzw. das der MZ 95 zusammen mit dem N-1 auch die C-Atome 2 und 6 verloren hat. Der Bildungsmechanismus dieses Spaltstückes ist aus metastabilen Spitzen, die sowohl im Spektrum des Coffeins als auch in dem des Theophyllins auftreten, klar ersichtlich: Das Fragment kann nicht nur direkt aus den Molekularionen, sondern auch aus dem Bruchstück der MZ 137 entstehen. Die entsprechenden metastabilen Spitzen liegen im Spektrum des Coffeins bei MZ 62 (Übergang 194 → 109) und bei MZ 87 (137 → 109), während sie im Spektrum des Theophyllins bei MZ 66 (180 → 109) und bei MZ 87 (137 → 109) zu finden sind.

Das anscheinend sehr stabile Fragment der MZ 109 bzw. 95 zerfällt weiter unter Abspaltung von 27 ME (HCN) und Bildung einer Spitze bei der MZ 82 bzw. 68. Das Bruchstück der MZ 82 kann nochmals ein Mol HCN verlieren, so daß eine Spitze bei der MZ 55 auftritt.

Eine andere Zerfallsroute des Fragments der MZ 109 und 95 führt unter Verlust von 42 ME zur Bildung einer Spitze bei der MZ 67 bzw. 53.

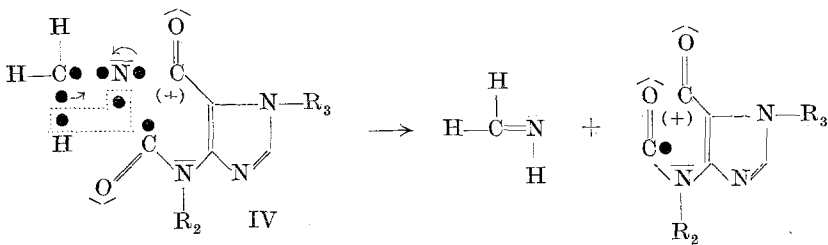
Der Vergleich der Massenspektren von I, II und III führt zu den folgenden Ergebnissen:

Ein am N-1 methyliertes Stickstoffatom wird ganz besonders bevorzugt abgespalten. Es ist daher anzunehmen, daß das durch Verlust der 1-ständigen CH₃—N-Gruppe entstandene Fragment stabiler ist als ein Bruchstück, das durch Eliminierung des N-3 oder N-7 gebildet werden kann. Offenbar wird in diesem Spaltstück die positive Ladung, die an einer dem N-1 benachbarten Carbonylgruppe sitzen muß, durch die Möglichkeit zur Ausbildung eines 5- oder 6-gliedrigen Ringes mit der zweiten C=O-Gruppe stabilisiert.

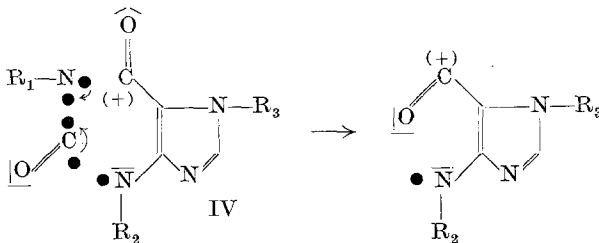
Es wäre eigentlich zu erwarten, daß auch Theobromin durch Abspaltung seiner 1-ständigen N—H-Gruppe dieses Spaltstück bilden könnte. Im Massenspektrum von II ist aber keine Spitze bei der MZ 165, die dem Verlust der N—H-Gruppe entsprechen würde, zu finden. Es ist daher anzunehmen, daß für die Bildung der Spaltstücke bei der MZ 165 im

Massenspektrum des Coffeins und bei der MZ 151 im Spektrum des Theophyllins nicht nur die stabile Struktur des gebildeten positiv geladenen Ions verantwortlich ist, sondern daß auch die treibende Kraft zur Eliminierung der N—CH₃-Gruppe noch zusätzlich in einer Stabilisierung der ausgestoßenen ungeladenen Gruppe zu suchen ist.

Die wahrscheinlichste Deutung des Reaktionsverlaufes sei hier kurz skizziert: Im Massenspektrometer wird durch Energiezufuhr zunächst die Bindung zwischen C-6 und N-1 durch Herausschlagen eines Elektrons aufgebrochen. In dem so gebildeten Molekularion IV sitzt die positive Ladung am C-6, da sie so durch Resonanz mit dem aromatischen Imidazolring am besten stabilisiert ist. Unter Verschiebung der bindenden Elektronen in den Pfeilrichtungen kann ein Mol CH₂=NH gebildet werden, das als Analogon zum Formaldehyd wesentlich stabiler sein sollte als eine CH₃-N⁻-Gruppe, in der das Stickstoffatom nur ein Elektronensextett besitzt.

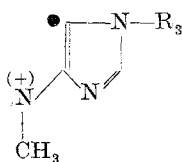


Durch Verlust des N-1 gemeinsam mit einer Carbonylgruppe entsteht ein weiteres Fragment. Aus den Massenspektren läßt sich zwar nicht ableiten, welche CO-Gruppe eliminiert wurde, doch ist anzunehmen — da am Aromaten sitzende Gruppen besonders fest gebunden sind — daß nicht das C-6, sondern das C-2 abgespalten wird. Das so gebildete Fragment könnte unter Beteiligung des Sauerstoffatoms der 6-ständigen Carbonylgruppe einen 5-Ring bilden, der durch Resonanz stabilisiert ist. Da die ausgestoßene Gruppe die Struktur eines Isocyanates bzw. der Isocyanensäure besitzt, erfordert dieser Prozeß nur wenig Energie.

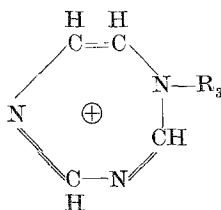


Das höchste Bruchstück in den Spektren aller untersuchter Verbindungen entsteht durch Verlust des N-1 zusammen mit den benachbarten Carbonylgruppen. Es muß also ganz besonders stabil sein. Von einem

Ion, das durch eine einfache Eliminierung dieser Gruppen gebildet werden kann, V, ist eine solche Stabilität völlig undenkbar. Es bleibt also nur die Schlußfolgerung, daß die Spitze bei der MZ 109 im Spektrum des Coffeins und Theobromins und bei der MZ 95 im Spektrum des Theophyllins einem stabilen 7-Ringmolekül VI zugeordnet werden muß. Dieses könnte aus V unter Beteiligung der N-3-ständigen Methylgruppe gebildet werden.



V

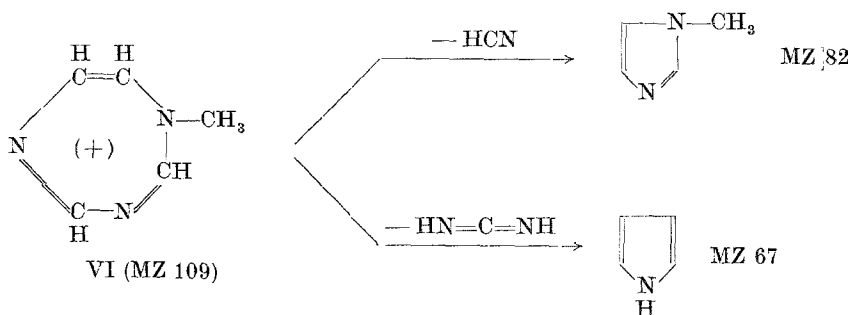


VI

Solche Ringerweiterungsreaktionen wurden bereits früher häufig beobachtet und konnten auch von *Meyerson* durch Untersuchung von Spektren markierter Verbindungen mit Sicherheit nachgewiesen werden¹.

Ein starker Hinweis für das Vorliegen einer tropyliumionartigen 7-Ringstruktur in VI ist darin zu sehen, daß auch dieses Fragment, so wie viele andere N-hältige Heterocyclusen, HCN abspaltet² und ein Bruchstück bei der MZ 82 ergibt, das unter nochmaliger Eliminierung von einem Mol HCN das Fragment bei der MZ 55 liefert.

Die Höhe der Spitze bei der MZ 82 zeigt an, daß auch dieses Ion eine hohe Stabilität besitzen muß. Daher ist anzunehmen, daß dieses Spaltstück auch aromatischen Charakter hat und daß ein Imidazoliderivat vorliegt.



Neben dem Verlust von HCN wird die Abspaltung von 42 ME aus den Ionen der MZ 109 bzw. 95 beobachtet. 42 ME entsprechen der Summen-

¹ P. N. Rylander, S. Meyerson und H. M. Grubb, J. Amer. Chem. Soc. **79**, 842 (1957).

² J. H. Beynon und A. E. Williams, Appl. Spectroscopy **13**, 101 (1960); **14**, 27 (1960).

formel C_3H_6 , C_2H_4N oder CH_2N_2 . Das Bruchstück der MZ 95 hat die Bruttoformel $C_4H_5N_3$. Es besitzt also nur 5 Wasserstoffatome und daher ist die Abspaltung von C_3H_6 unmöglich und von C_2H_4N äußerst unwahrscheinlich, da in diesem Fall gleich mehrere Wasserstoffatome wandern müßten. Demnach liegt der Schluß nahe, daß das Bruchstück der MZ 95 CH_2N_2 verliert. Dies wäre mit der Eliminierung von $HN=C=NH$ (= einem Mol Cyanamid) vereinbar. Cyanamid ist ein sehr stabiles Molekül, seine Bildung erfordert daher wenig Energie. Das Ion, das bei der Abspaltung von Cyanamid aus dem Fragment der MZ 109 gebildet wird, dürfte als stabiles Pyrrolmolekül vorliegen.

Die Massenspektren wurden mit einem Atlas-CH-4-Massenspektrometer aufgenommen. Die Ionenquelle war auf 270° geheizt, die Elektronenenergie betrug 70 eV. Die Proben (ca. 0,5 mg) wurden über eine Vakuumschleuse in ein auf 200° geheiztes Vorratsgefäß eingebracht und dort verdampft. Zur Kontrolle, ob bei dieser Temperatur bereits eine Zersetzung erfolgt, wurden die Spektren nach Verlauf einer Stunde nochmals aufgenommen und mit den kurz nach Einbringen der Substanz erhaltenen verglichen. Dieser Spektrenvergleich zeigte, daß die untersuchten Verbindungen bei 200° noch keinerlei Veränderungen durch thermische Zersetzung erleiden und die Spektren völlig reproduzierbar sind. Das Auspumpen der Substanzen bis auf 0,1% der ursprünglich vorhandenen Menge erforderte in allen Fällen nur etwa 10 Min. Es mußte allerdings beachtet werden, daß gleichzeitig mit dem Vorratsbehälter auch der Schleusenraum ausgepumpt wurde.

Der Atlas Meß- und Analysetechnik-GmbH sei auch an dieser Stelle für das fördernde Interesse, das sie dieser Arbeit entgegenbrachte, bestens gedankt.