

Massenspektrometrische Untersuchungen X

DIE MASSENSPEKTREN WEITERER PERMETHYLIERTER N-ACETYL-AMINOZUCKER; ISOMERE METHYL-2-ACETAMIDO-2-DESOXY-HEXOPYRANOSIDE, BESTIMMUNG DER RINGGRÖSSE.

K. Heyns und D. Müller

Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg

(Received 22 November 1965)

Die massenspektrometrischen Untersuchungen geeigneter Derivate der Aminozucker (1,2,3,4) haben gezeigt, daß man auf Grund der Massenspektren eindeutige Aussagen über die Struktur dieser Verbindungen machen kann. Die von uns für die Pentosen und Hexosen formulierten Zerfallsmechanismen permethylierter Methyl-pyranoside (5) lassen sich auch auf permethylierte N-Acetyl-Aminozucker (2,3) übertragen. Die Massenspektren der isomeren Methyl-pentopyranoside zeigen zwar gleiche Massenzahlen (MZ), aber charakteristische Unterschiede in den Intensitäten der einzelnen MZ (6). Ein ähnliches Verhalten wurde für einige Methyl-hexopyranoside (1) gefunden. Wir haben daher fünf der acht isomeren Methyl-2-acetamido-2-desoxy-3,4,6-tri-O-methyl-hexopyranoside massenspektrometrisch untersucht in der Hoffnung, auch hier charakteristische Unterschiede in den Intensitäten der verschiedenen peaks zu finden. Da diese Unterschiede nur auf die sterische Anordnung der O-Methyl-Gruppen zurückzuführen sind, erwarteten wir, daß die Einführung eines größeren Substituenten die sterischen Effekte auf das Fragmentierungsverhalten vergrößern sollte. Stark beeinflusst sollten besonders die Fragmente werden, die über Umlagerungsreaktionen entstehen (5).

Die Massenspektren folgender permethylierter N-Acetyl-Aminozucker wurden aufgenommen: α -Glucosamin (I), β -Glucosamin (II), α -Galaktosamin (III), β -Galaktosamin (IV), β -Mannosamin (V), β -Gulosamin (VI), β -Idosamin (VII). Den Einfluß der Ringgröße auf das massenspektrometrische Fragmentierungsverhalten zeigt das Methyl-2-acetamido-2-desoxy-3,5,6-tri-O-methyl-mannofuranosid (VIII).

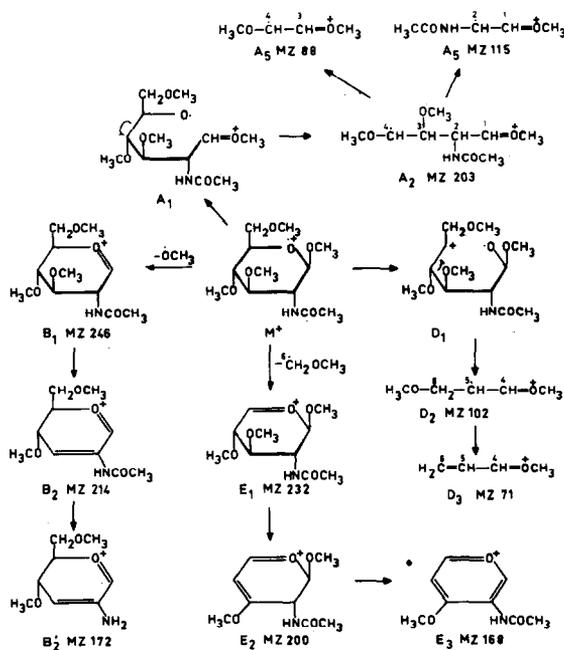


Abb. 1

Primärsplattungen A, B, D, E und Folgereaktionen

In den Abbildungen 1-2 sind die Bildungsreaktionen für die wichtigsten Fragmente der permethylierten N-Acetyl-2-Aminozucker in der Pyranosid-Form zusammengefaßt. Die Spaltung der ersten Bindung nach dem Elektronenstoß setzt wie bei den Acetalen einfacher Aldehyde an den Acetalbindungen und der C-1/C-2-Bindung ein (Primärsplattungen A, B und C). Relativ leicht werden auch die Ätherbindungen O/C-5 und die C-C-Bindung zwischen den C-Atomen 5 und 6 gelöst (Primärsplattungen D und

E). Die Primär-Fragmente A_1 , B_1 , C_1 , D_1 und E_1 zerfallen in bekannter Weise weiter unter Eliminierung von Radikalen oder kleineren Molekülen (2,5). In das Schema wurden nur die Fragmente mit dem höchsten Anteil an einer MZ aufgenommen. Die Fragmentierungsmechanismen wurden noch einmal an deuterierten Derivaten (Austausch des Amid-Wasserstoffs gegen Deuterium und Markierung der C-Atome 4 und 6 durch OCD_3 -Gruppen) überprüft.

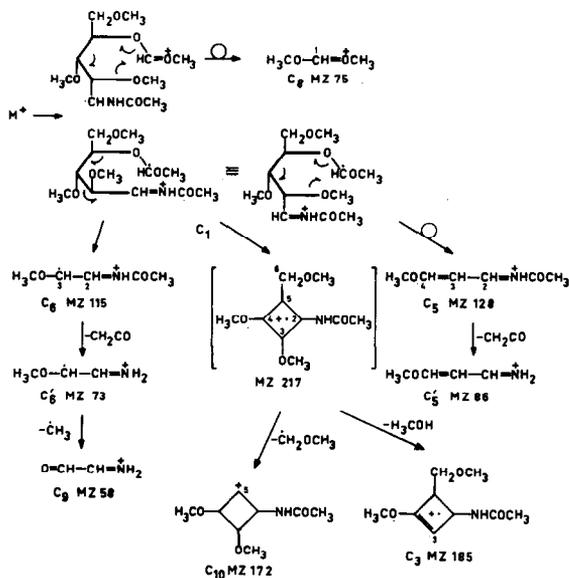


Abb. 2

Primärsplattung C und Folgereaktionen

Die Aufnahme der 70eV-Massenspektren in einem ATLAS CH-4 Gerät erfolgte bei einer Ionenquellentemperatur von 110° ; die Proben wurden über den auf 170° aufgeheizten HTE eingelassen. Die Tabelle 1 zeigt die wichtigsten Massenzahlen und rel. Intensitäten der 2-Aminozucker-Derivate I-VII.

Die Intensitätsunterschiede sind geringer als erwartet, und eine Zuordnung auf Grund der Massenspektren ist daher ohne Eichung des In-

Tab. 1
Massenzahlen und rel. Intensitäten der permethylierten
Methyl-2-acetamido-2-desoxy-hexopyranoside

MZ	α -3lu	β -Glu	α -Gal	β -Gal	β -Man	β -Gul	β -Ido
43	24,3	31,9	28,5	24,6	25,5	30,1	43,5
45	29,9	42,4	37,1	34,8	33,5	40,9	41,3
58	11,3	12,6	12,5	12,0	12,1	13,8	16,6
71	19,0	43,3	21,0	34,5	34,5	20,5	31,0
73				100,0			
75	58,2	57,9	38,4	42,1	55,9	64,9	42,5
86	17,6	15,8	12,1	12,1	16,5	28,1	14,0
88	22,9	26,7	15,7	17,5	22,8	19,5	22,6
101	13,6	22,9	16,5	20,4	20,7	21,4	21,0
102	8,0	19,0	9,0	14,6	16,4	9,2	7,3
115	83,8	66,9	81,1	74,2	70,8	71,8	72,4
128	27,3	23,4	26,4	25,7	26,0	38,3	20,5
168	8,6	7,8	1,3	3,0	7,4	7,9	7,2
172	3,3	1,8	2,2	1,6	2,0	4,6	2,1
185	2,0	2,3	1,2	1,4	1,7	1,8	1,4
200	2,3	3,1	0,62	1,3	2,4	4,4	2,9
203	7,1	5,6	4,2	4,0	4,1	3,7	3,1
214	3,1	1,2	1,8	1,3	1,3	1,8	1,4
232	0,48	0,72	0,29	0,31	0,80	0,60	0,57
246	1,1	0,80	0,59	0,97	0,68	0,58	0,31

strumentes nicht möglich. Eine Erklärung der Intensitätsunterschiede scheint uns zur Zeit noch nicht möglich zu sein, da es sich bei den Molekül-Ionen immer um angeregte Partikeln handelt, über deren Konformation keine genauen Angaben vorliegen. Deutungen aus den Grundzuständen der Moleküle lassen sich nicht verallgemeinern, wie ein Vergleich der Massenspektren der permethylierten Methyl-pentopyranoside mit dem hier vorliegendem Untersuchungsmaterial zeigt.

Die Bestimmung der Ringgröße bei Zuckerderivaten ist ein massenspektrometrisch einfach zu lösendes Problem (6,7). Abb. 3 zeigt das Massenspektrum des Furanosids VIII. Charakteristisch für Furanoside ist die Abspaltung der Seitenkette an dem C-Atom 4. Während bei den Pentosen dabei die Ladung bei dem Ringfragment bleibt, findet man bei den Hexosen mit gleicher Wahrscheinlichkeit das Seitenkettenfragment. In dem Massenspektrum des 2-Aminozuckers hat der Hauptpeak die MZ 89, die dem Substituenten $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{-CH-}\overset{+}{\text{O}}\text{CH}_3$ entspricht. Addiert man die Intensitäten der Fragment-Ionen C_6 MZ 115 und C'_6 MZ 73, sowie C_5 MZ 128

und C_5^+ MZ 86, die sich nur um eine Keten-Einheit unterscheiden, so haben diese Fragmente die höchste Intensität. Die Angaben über die Fragmentierungsmechanismen bei den Methyläthern der Furanoside (6,7) sind noch lückenhaft, so daß wir unsere Vorstellungen noch einmal am Beispiel des Aminozuckers VIII diskutieren wollen. Abb. 4-6

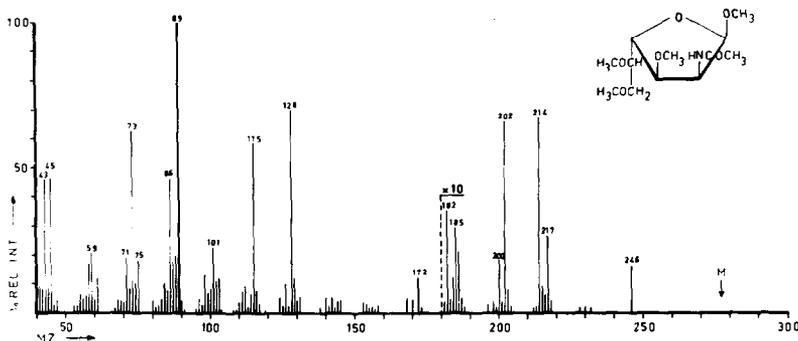


Abb. 3

Massenspektrum Methyl-2-acetamido-2-desoxy-3,5,6-tri-O-methyl-mannofuranosid

Die Primärsplattung nach dem Elektronenstoß führt analog zu den Mechanismen der Pento- und Hexopyranoside zu den Primär-Ionen A_1 , B_1 und C_1 . Die Primärsplattung D tritt praktisch nicht auf. Ebenfalls fehlen die Ionen der E-Reihe, da die Ladung bevorzugt an der Seitenkette bleibt.

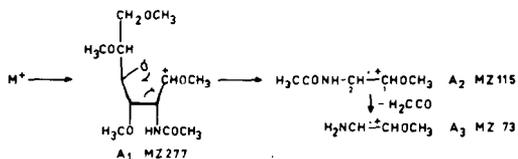


Abb. 4

Primärsplattung A

Die im folgenden vorgeschlagenen Fragmentierungsreaktionen sind nicht in allen Einzelheiten experimentell gesichert, zumal dies zum Teil

außerordentlich schwierig ist. Es geht uns jedoch darum, zur Erklärung der gefundenen Fragmente Reaktionszwischenprodukte zu formulieren, die eine möglichst einfache Deutung möglichst vieler massenspektrometrischer Prozesse erlauben, in diesem speziellen Fall die Fragmentierungen von permethylierten Kohlenhydratderivaten.

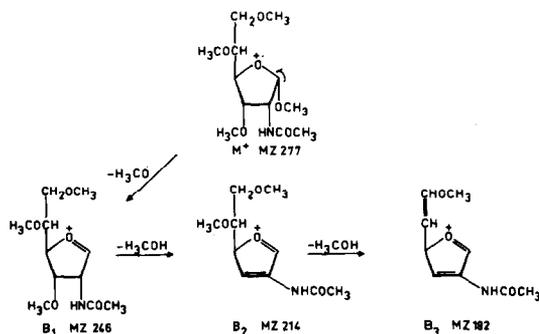


Abb. 5
Primärsplaltung B

Die Spaltung der Ring-Acetal-Bindung ergibt das Primär-Ion A_1 , das weiter zerfällt in das C-1/C-2-Radikal-Ion A_2 MZ 115 und ein Derivat des Äthylenoxyds. Keten-Eliminierung führt zum Fragment A_3 MZ 73. Die Abspaltung der glykosidischen Methoxy-Gruppe und folgende Methanol-Eliminierung erklären die Fragment-Ionen der B-Reihe mit den Massenzahlen 246, 214 und 182.

Die Bindung zwischen den C-Atomen 1 und 2 wird am leichtesten gespalten. Auch hier findet man die Wanderung einer OCH_3 -Gruppe von C-3 nach C-1 (6,7). Während bei den Pyranosiden die Ionen C_5 und C_6 in der gleichen Umlagerungsreaktion entstehen, ist dies für die Furanoside unmöglich. Man findet aber ein Fragment-Ion der MZ 217, das aus dem Primär-Ion C_1 durch Eliminierung von Methylformiat entsteht und das wir als Dreiring formulieren. Dieses Radikal-Ion C_{12} kann die C-5 C-6-Seitenkette verlieren unter Bildung der Ionen MZ 89 und C_5 MZ 128, das weiter Keten abspalten kann und das Ion C_5^+ MZ 86 bildet. Diese Cyclopropylium-Ionen, die sich eventuell in Allyl-Ionen umlagern,

sind typisch für die Methyläther von Kohlenhydraten. Die Abspaltung der anderen Substituenten ist weniger wahrscheinlich, da die gebildeten Radikale energetisch ungünstiger sind. Die Stabilisierung des einsamen Elektrons nimmt in der Reihenfolge $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{-CHOCH}_3$, CH_3OCH_2 , $\text{CH}_3\ddot{\text{O}}$ und CH_3CONH ab.

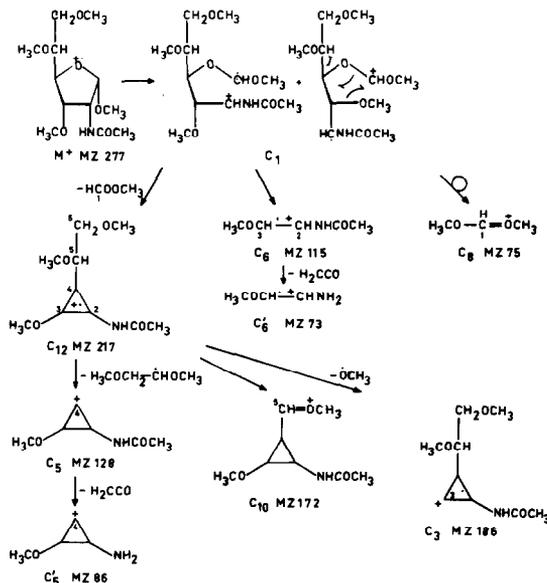


Abb. 6
Primäerspaltung C

Das Massenspektrum des Methyl-4,6-di-acetamido-4,6-di-desoxy-2,3-di-O-methyl- α -D-galaktopyranosids (XI).

Bei unserer Untersuchung über den Einfluß einer acetylierten Amino-Gruppe an verschiedenen Ring-C-Atomen eines permethylierten Monosaccharids auf das massenspektrometrische Fragmentierungsverhalten (2) fehlte uns das Beispiel eines N-Acetyl-4-aminozuckers. Die Synthese eines Diaminozuckers durch L. Hough et al. (8), für den die Autoren die Struktur eines Methyl-4,6-di-acetamido-4,6-di-desoxy- α -D-galaktopyranosids angeben, ermöglichte uns die massenspektrometrische Untersuchung dieses Zuckers. Die Übertragung unserer Vorstellungen über

den Zerfall permethylierter Kohlenhydratderivate bei Elektronenstoß-Ionisation sollte zugleich eine Überprüfung der vorgeschlagenen Konfiguration ergeben. Die freien Hydroxyl-Gruppen wurden mit Methyljodid und Trideuteromethyljodid veräthert. Das Massenspektrum von XI zeigt Abb. 7.

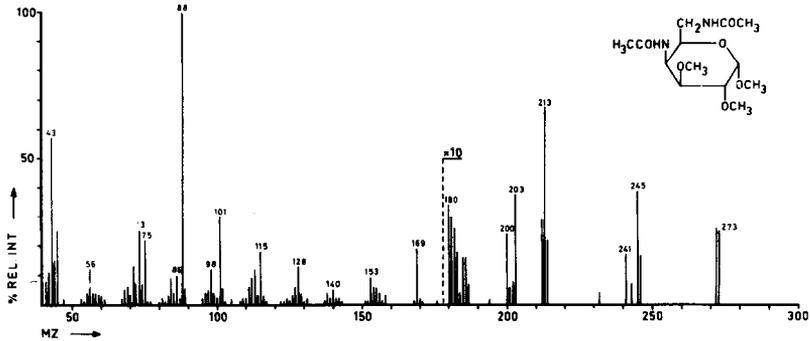


Abb. 7

Massenspektrum Methyl-4,6-di-acetamido-4,6-di-desoxy-2,3-di-O-methyl- α -D-galaktopyranosid

Wie bei den permethylierten Methyl-hexopyranosiden hat das Haupt-Ion die MZ 88. Da dieses C-C-Bruchstück die C-Atome 2 und 3 mit ihren Substituenten darstellt, muß das Fragment-Ion Methoxy-Gruppen enthalten. Das Molekül-Ion ist nicht vorhanden; bei höherer Substanzkonzentration findet man ein Ion der MZ 305 ($M+1$)⁺. Das Fragment-Ion mit der höchsten MZ liegt bei 273. Das bedeutet die Abspaltung einer Methoxy-Gruppe an C-1. Das Molekulargewicht von 304 läßt sich nur

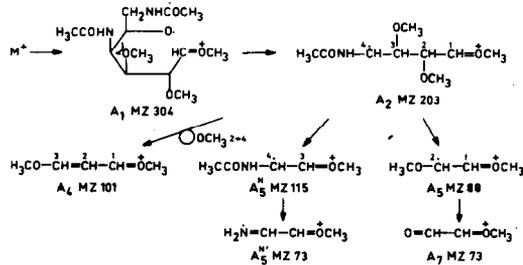


Abb. 8

durch die Anwesenheit von zwei N-Acetyl-aminogruppen erklären, die an C-4 und C-6 sein müssen, da die Pyranosid-Struktur aus dem Hauptpeak der MZ 88 folgt.

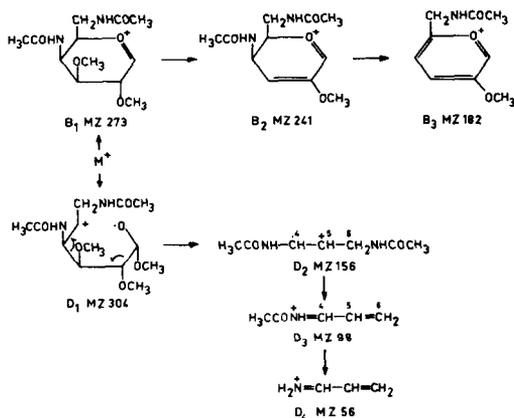
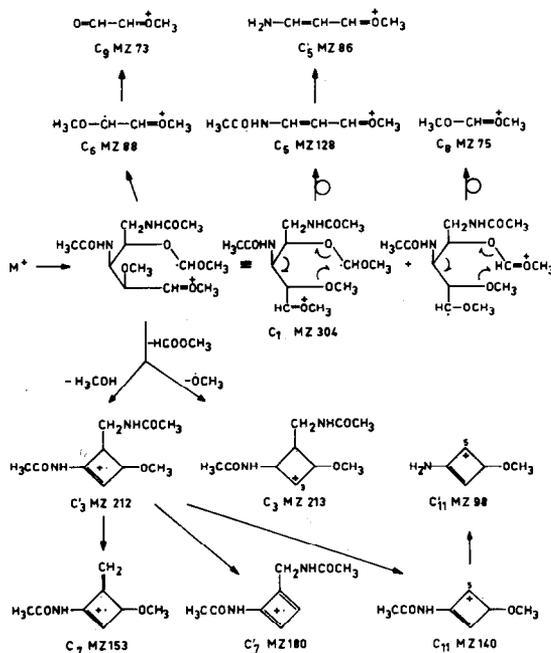


Abb. 9

Die der Primärsplattung A, B, C und D folgenden Fragmentierungsprozesse sind in den Abb. 8-10 dargestellt. Die Massenspektren der an den C-Atomen 2 und 3 deuteriummarkierten Verbindungen und des entsprechenden Zuckers mit zwei OH-Gruppen unterstützen diese mechanistischen Vorstellungen.

Diskussion.

Die für permethylierte Methyl-pento- und -hexopyranoside gefundenen Zerfallsreaktionen bei Elektronenstoßprozessen im Massenspektrometer lassen sich auch auf Substitutionsprodukte dieser Grundkörper anwenden. Damit gestattet die Massenspektrometrie mit dem Vorteil eines äußerst geringen Substanzbedarfes die genaue Strukturbestimmung von Kohlenhydraten, was die Stellung der Substituenten und die Ringgröße anbetrifft. Die Unterscheidung zwischen isomeren Zuckern bleibt jedoch problematisch, da sich keine allgemein gültigen Aussagen über die Ursache der Intensitätsunterschiede machen lassen. Die zwar reproduzierbares, aber relativ geringen Intensitätsdifferenzen machen die Aufnahme von Eichspektren unumgänglich. Die Unterscheidung zwi-



schen α - und β -Formen bei den Methyl-pyranosiden von 2-Aminosugarn ist bei bekannter Struktur des Zuckers einfach (Unterschiede der MZ 102 und 71).

1. K.Heyns und H.Scharmann, Liebigs Ann. 677, 183 (1963)
2. D.Müller, Nordwestdeutsche Chemiesoziententagung Clausthal-Zellerfeld, 11.-12. Juni 1965
K.Heyns und D.Müller, Tetrahedron 21, 3151 (1965)
3. K.Heyns, H.F.Grützmacher, H.Scharmann und D.Müller, Monatsh. f. chem. Forsch. V, Heft 3, 54 (1966)
4. D.C.DeJongh und S.Hanessian, J. Am. Chem. Soc., 87, 5744 (1965)
5. K.Heyns und D.Müller, Tetrahedron 21, 55 (1965)
6. K.Heyns und H.Scharmann, Tetrahedron 21, 507 (1965)
7. N.K.Kochetkov und O.S.Chizhov, Tetrahedron 21, 2029 (1965)
8. J.Hill, L.Hough und A.C.Richardson, Proceedings 1963, 314

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