

## Die massenspektrometrische Strukturuntersuchung thermisch labiler und schwer flüchtiger organischer Verbindungen

Von G. SPITELLER

Organisch-Chemisches Institut der Universität Wien,

C. BRUNNÉ

ATLAS Meß- und Analysetechnik GmbH., Bremen,

K. HEYNS und H. F. GRÜTZMACHER

Institut für Organische Chemie, Universität Hamburg

(Z. Naturforschg. 17 b, 856–857 [1962]; eingeg. am 20. September 1962)

Kürzlich wurde über die Möglichkeiten zur massenspektrometrischen Untersuchung schwer flüchtiger organischer Verbindungen durch direkte Einführung in die Ionenquelle berichtet<sup>1–5</sup>.

In Weiterführung dieser Arbeiten machten wir die Beobachtung, daß nicht nur Steroide<sup>5</sup>, sondern nahezu alle organischen Verbindungen den zur Aufnahme eines Massenspektrums erforderlichen Dampfdruck oft bereits 100° unter ihrem Schmelz- bzw. Zersetzungspunkt erreichen, bei einer Temperatur also, bei der fast alle Verbindungen noch völlig stabil sind. Auf Grund dieser Tatsache arbeiteten wir nun eine Methode aus, die die Aufnahme von Massenspektren thermisch labiler und im herkömmlichen Sinn nicht flüchtiger organischer Verbindungen im Routinebetrieb erlaubt.

Nach den üblichen Verfahren der Probeneinführung kann die Substanz mit Metallteilen (z. B. Ventilen), die die Zersetzung katalysieren können, in Berührung kommen. Wir bringen daher etwa 0,1 mg der Probe in ein Graphittiegelchen ( $\Phi$  innen 1 mm, Länge 3 mm) und setzen dieses in ein Schiffchen, das über eine Vakuumschleuse direkt in die Ionenquelle eingefahren wird<sup>6</sup>.

Auf diese Weise läßt sich jegliche katalytische Zersetzung vermeiden.

Unsere Untersuchungen zeigten, daß die thermische Stabilität vieler Verbindungen für die normale Ionenquellentemperatur von 150 bis 200° zu gering ist, und daß eine große Zahl von Verbindungen bei dieser Temperatur schon so flüchtig ist, daß wegen der dadurch eintretenden unregelmäßigen Verdampfung keine konstanten und reproduzierbaren Spektren erhalten werden können; der Substanzverbrauch ist sehr groß, und es tritt eine rasche Verschmutzung der Ionenquelle ein. Alle diese Nachteile lassen sich vermeiden, wenn die Temperatur der Ionenquelle durch Verwendung spezieller Kathoden genügend tief gehalten wird. Durch vorsichtiges Aufheizen einer Heizwendel, die das die Probe enthaltende Graphittiegelchen umgibt, wird der zur Aufnahme des Spektrums gerade nötige Dampfdruck eingestellt. Das Graphittiegelchen befindet sich in unmittelbarer Nähe des ionisierenden Elektronenstrahls, d. h. die Ionisation erfolgt, bevor die Moleküle irgendwelche Wandstöße erleiden. Zur Aufnahme eines Spektrums genügen in der Regel einige hundertstel mg; die nicht verbrauchte Substanz bleibt im Tiegelchen in fester und völlig unveränderter Form. Nach Aufnahme des Spektrums kann sie daher zurückgewonnen und für weitere Untersuchungen verwendet werden. Da das Schiffchen als Ionisierungsgehäuse fungiert, treten Memory-Effekte<sup>1</sup> und eine Verschmutzung der Ionenquelle nicht auf: Die verdampfte Substanz schlägt sich an den kälteren Wänden des Schiffchens nieder und wird beim Probenwechsel zusammen mit diesem aus der Ionenquelle entfernt. Der Probenwechsel erfordert nur wenige Minuten.

Wir nahmen auf diese Weise Massenspektren zahlreicher, im herkömmlichen Sinn nicht flüchtiger Al-

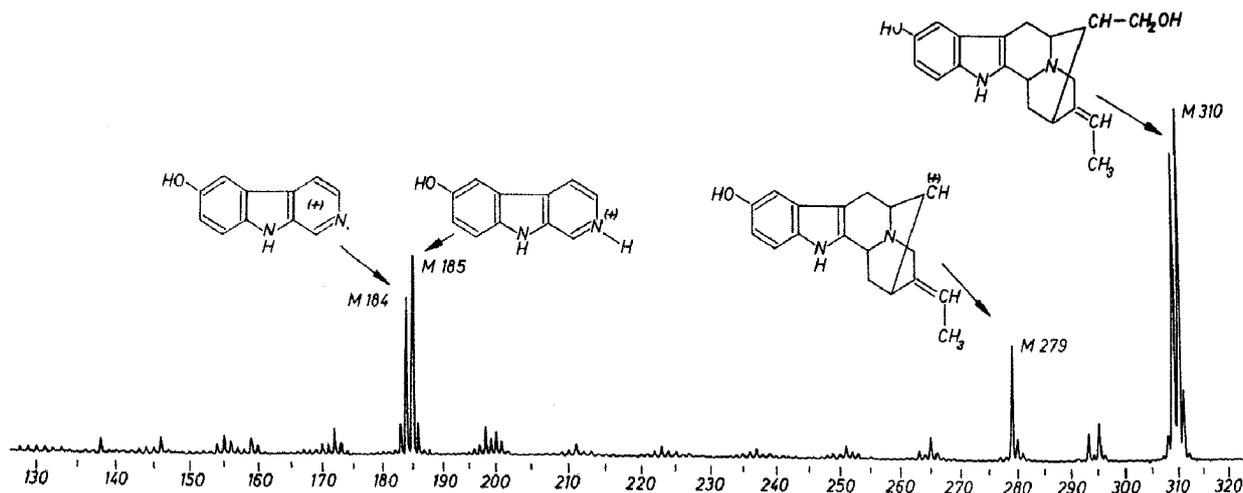


Abb. 1. Spektrum des Sarpagins.

<sup>1</sup> R. I. REED, W. V. REID u. J. M. WILSON, Symp. on Mass Spectrometry, Oxford 1961.

<sup>2</sup> G. SPITELLER, A. CHATTERJEE, A. BHATTACHARYA u. A. DEB, Naturwissenschaften 49, 279 [1962].

<sup>3</sup> K. HEYNS u. F. GRÜTZMACHER, Angew. Chem. 47, 387 [1962].

<sup>4</sup> G. SPITELLER u. M. SPITELLER-FRIEDMANN, Mh. Chem. 93 795 [1962].

<sup>5</sup> H. J. M. FITCHES, Symp. on Mass-Spectrometry, Oxford 1961.

<sup>6</sup> C. BRUNNÉ, Z. Instrumentenkunde 68, 97 [1960].

kaloide auf. Viele Alkaloide können auf Grund ihres Massenspektrums einem bestimmten Strukturtyp zugeordnet werden. So zeigen Alkaloide der Ajmalin-Klasse bei den Massenzahlen 182, 183 eine charakteristische Doppelspitze, in Verbindungen der Sarpagin-Gruppe liegen die entsprechenden Spitzen bei den MZ 184, 185. Reserepin-Alkaloide werden an den Spitzen bei den MZ 195, 199, 200 und 397 erkannt. Für Alkaloide des

Strukturtyps der China-Alkaloide sind Spitzen bei den MZ 136 und 159 bzw. 189 charakteristisch.

Als Beispiel sei hier das Spektrum des Sarpagins, Zp 325°, das mit wenigen hundertstel mg Substanz erhalten wurde, gegeben (Abb. 1).

Die Methode ist in gleicher Weise zur Untersuchung von Steroiden und Peptiden — ohne vorhergehende chemische Umformung — geeignet.

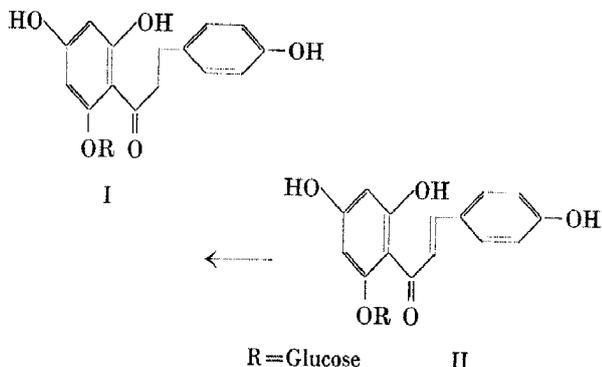
### Über die Umwandlung des 2'.4.4'.6-Tetrahydroxy-chalkon-2'-glucosids in Phloridzin in Apfelblättern

VON HANS GRISEBACH UND LENI PATSCHKE

Chemisches Laboratorium der Universität Freiburg i. Br.

— eingegangen am 22. September 1962 — NFB Notiz

Wie zu erwarten, erfolgt die Biosynthese des in *Malus*-Arten vorkommenden Dihydrochalkonglucosids Phloridzin (I) \* analog der Flavonoide aus einer Phenylpropaneinheit und 3 Acetateinheiten (bzw. Malonyl-CoA) <sup>1</sup>. Es war anzunehmen, daß die Bildung von I über das 2'.4.4'.6-Tetrahydroxy-chalkon bzw. dessen 2'-Glucosid (II) verläuft; die Umwandlung dieses Chalkons in Quercetin und Cyanidin und in das Isoflavon Biochanin-A haben wir früher nachgewiesen <sup>2, 3</sup>.



Gabe des Chalkonglucosids- $[\beta\text{-}^{14}\text{C}]$  an junge Apfelblätter führte zu radioaktivem Phloridzin. Die spez. Aktivität des Phloridzins nahm bei den ersten Reinigungsschritten noch stark ab. Nach Hydrolyse zu Phloretin und dessen weiterer Reinigung konnte jedoch eine Ver-

bindung mit konstanter spez. Aktivität erhalten werden, wie aus Tab. 1 zu ersehen ist.

| Verbindung | [ipm/mMol] | Reinigungsschritte   |
|------------|------------|--|
| Phloridzin | 132 000    | 3 [-mal] Dünnschichtchrom.<br>3 [-mal] Umkrist.  |
| Phloridzin | 84 000     | 4 [-mal] Dünnschichtchrom.<br>3 [-mal] Umkrist.<br>4 [-mal] Dünnschichtchrom.<br>3 [-mal] Umkrist. |
| Phloretin  | 16 300     | 1 [-mal] Dünnschichtchrom.<br>2 [-mal] Umkrist.  |
| Phloretin  | 11 560     | 3 [-mal] Umkrist.  |
| Phloretin  | 12 600     | 5 [-mal] Umkrist.  |

Tab. 1. Aktivität von Phloridzin bzw. Phloretin nach verschiedenen Reinigungsschritten. Messungen nach Verbrennung im Proportionalzählrohr. Meßfehler  $\pm 2$  Prozent.

Die Umwandlung von II in Phloridzin gelang auch mit einem Rohextrakt aus gefriergetrockneten Apfelblättern (Tab. 2).

|   | Rohextrakt<br>[ipm/mMol]             | Kontrolle<br>[ipm/mMol] |
|---|--------------------------------------|-------------------------|
| Phloretin nach verschiedenen<br>Reinigungsschritten | 10 500<br>13 420<br>12 300<br>12 330 | 712<br>682              |

Tab. 2. Versuch mit Rohextrakt aus Apfelblatttrockenpulver. Messungen wie bei Tab. 1.

Die Apfelblätter enthalten also offenbar eine Reduktase, welche die konjugierte Doppelbindung des Chalkons selektiv zu hydrieren vermag. Über das beteiligte Coenzym läßt sich aus den bisherigen Versuchen nichts sagen.

\* Über das Vorkommen von weiteren Dihydrochalkonglucosiden in *Malus* s. A. H. WILLIAMS, J. chem. Soc. [London] 1961, 4133.

<sup>1</sup> A. HUTCHISON, C. D. TAPER u. G. H. N. TOWERS, Canad. J. Biochem. Physiol. 37, 901 [1959]; P. N. AVADHANI u. G. H. N. TOWERS, 39, 1605 [1961].

<sup>2</sup> H. GRISEBACH u. L. PATSCHKE, Z. Naturforsch. 16b, 645 [1961].

<sup>3</sup> H. GRISEBACH u. G. BRANDNER, Experientia [Basel] 18, 400 [1962].