

## MASSENSPEKTROMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN

XIX. MITTEILUNG\*. KOMBINATION VON GASCHROMATOGRAPHIE UND MASSENSPEKTROMETRIE ZUR ANALYSE PARTIELL METHYLIERTER ZUCKERDERIVATE. DIE MASSENSPEKTREN VON PARTIELL METHYLIERTEN METHYLGLUCOSIDEN

K. HEYNS, K. R. SPERLING UND H. F. GRÜTZMACHER

*Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg (Deutschland)*

(Eingegangen den 5. April, 1968; modifiziert den 7. Juni, 1968)

### ABSTRACT

Some partially methylated methyl glucosides were investigated by the gas chromatography-mass spectrometry method. The main properties of their mass spectra can be derived from the fragmentation scheme of permethylated pyranoses by a consideration of the effects of the different substituents. Apart from a shift of the ion masses, due to replacement of methoxyl by hydroxyl groups, the main effect of the substituent is a variation of the inductive stabilisation of the positive charge of the fragments.

Furthermore, the derivatives having methoxyl groups at the 1,2,3-, 1,2,3,6-, 1,3,4-, or 1,3,4,6-positions produce a very characteristic peak at  $m/e$  161.

The stereochemistry of the partially methylated methyl glucosides has no significant effect on their mass spectra, but the effect of the position of the substituent is important. The type of substitution can thence be deduced from the mass spectra.

The gas chromatography-mass spectrometry method is much more appropriate for the identification of a mixture of monosaccharides obtained from a permethylated polysaccharide by solvolysis than the gas-chromatographic method alone.

### ZUSAMMENFASSUNG

Partiell methylierte Methylglucoside wurden gaschromatographisch-massenspektrometrisch untersucht. Die Haupteigenschaften ihrer Massenspektren sind aus dem Zerfallschema für permethylierte Pyranoside durch Berücksichtigung von Substituenten-Effekten ableitbar. Wesentlichster Substituenten-Effekt ist außer der Verschiebung einzelner Ionenmassen durch Austausch von  $\text{OCH}_3$ - gegen OH-Gruppen die unterschiedliche induktive Stabilisierung positiver elektrischer Ladungen in den Fragmenten.

Weiterhin entsteht durch eine Umlagerungsreaktion bei den Derivaten mit Methoxygruppen in 2,3-, 2,3,6-, 3,4- und in 3,4,6-Stellung ein sehr charakteristischer Peak der MZ 161.

\*XVIII. Mitteilung: *Ber.*, 100 (1967) 2664.

Die Eigenschaften der Massenspektren partiell methylierter Methylglycoside werden nur unwesentlich durch deren Stereochemie, maßgeblich jedoch durch die Stellung des Substituenten bestimmt. Der Substitutionstyp wird damit aus den Massenspektren ablesbar.

Dadurch ist die gaschromatographisch-massenspektrometrische Methode wesentlich besser als die gaschromatographische Methode allein geeignet, die Bestandteile eines durch Solvolyse permethylierter Polysaccharide erhältlichen Monosaccharidgemisches zu identifizieren.

#### EINFÜHRUNG

In neueren Arbeiten stützen sich Strukturbeweise für Polysaccharide überwiegend auf gaschromatographische Retentionsvolumina der durch Permethylierung und Solvolyse gebildeten partiell methylierten Monosaccharide<sup>1-6-8</sup>. Die alleinige Anwendung der Gaschromatographie zur Analyse eines Gemisches partiell methylierter Monosaccharide birgt jedoch erhebliche Schwierigkeiten und Unsicherheiten, denn die Retentionsvolumina der partiell methylierten Derivate verschiedener Zucker liegen dicht beieinander<sup>1-6</sup>, sind aber nur innerhalb 5% reproduzierbar<sup>1</sup>. Eine hinreichend sichere Identifizierung ist daher oft nicht einmal durch direkten Vergleich mit Testsubstanzen möglich<sup>1,6</sup>. Eine Verbesserung kann erreicht werden, wenn außer den Retentionsvolumina als weitere stoffspezifische Kenngrößen Spektren der getrennten Substanzen aufgenommen werden. Hier bietet sich eine direkte Kopplung zwischen Gaschromatograph und Massenspektrometer an<sup>10,11</sup>. Die Retentionsvolumina einer großen Anzahl von partiell methylierten Monosacchariden sind bereits tabelliert worden (s.o.). Zusammen mit einer massenspektrometrischen Identifizierung des Substitutionstyps sollte daher trotz der geringen Reproduzierbarkeit der in der Literatur angegebenen Retentionsvolumina eine eindeutige Zuordnung möglich sein.

Bei der Untersuchung permethylierter Methylglycoside der Hexosen und Pentosen hat sich gezeigt, daß die Massenspektren vom sterischen Bau dieser Verbindungen wenig beeinflußt werden. In allen Fällen werden die gleichen Ionen gebildet, kleinere Unterschiede treten nur in den relativen Intensitäten einzelner Ionentypen auf. Dies gilt auch für die Massenspektren der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomeren. Erfolgt die durch Elektronenstoß induzierte Fragmentierung der partiell methylierten Monosaccharide nach den gleichen Mechanismen, wie die der permethylierten Derivate, so ist auch für die Massenspektren dieser Verbindungen nur ein geringer sterischer Effekt zu erwarten. Um die charakteristischen Merkmale der Substitutionstypen zu bestimmen, genügt daher die Untersuchung der verschiedenen Derivate eines einzigen Monosaccharids.

Wegen des sterischen Einflusses, der sich durch geringe Intensitätsverschiebungen der Ionen beim Übergang von einem zum anderen Monosaccharid bemerkbar macht, können für die Identifizierung des Substitutionstyps nur hervorstechende Merkmale, wie Massenverschiebungen und kräftige Intensitätsänderungen der

Ionen in Abhängigkeit von der Stellung der Substituenten herangezogen werden. Dieses Verfahren ist auch zu empfehlen, weil im allgemeinen Massenspektren, die mit der kombinierten gaschromatographisch-massenspektrometrischen Methode aufgenommen werden, weniger gut quantitativ reproduzierbar sind als üblich.

Als „Modellsubstanzen“, mit denen der Einfluß der Substituenten am Ring auf die Massenspektren untersucht werden kann, wurden die partiell methylierten Methylglucopyranoside gewählt (Darstellung gemäß<sup>9,12</sup>). Von diesen sind vor allem jene wichtig, mit denen man bei der Solvolyse eines permethylierten Polysaccharids rechnen muß. Das sind die Methyl-tri-*O*-methylglucopyranoside mit jeweils einer freien OH-Gruppe in Stellung 2, 3, 4 oder 6. Darüber hinaus wurden — zur Kontrolle — einige Methyl-di-*O*-methylglucopyranoside und ein Methyl-mono-*O*-methylglucopyranosid dargestellt und untersucht.

#### VERSUCHSBEDINGUNGEN

(a) Alle gaschromatographischen Messungen wurden mit einem Perkin-Elmer-Gaschromatographen Typ F 20 unter folgenden Bedingungen durchgeführt: Säule: 2 m Glas, 4 mm  $\varnothing$ ; Phasen: 5% Äthylenglykolsuccinat auf Chromosorb W; Säulentemperatur: 200°; Einspritzblock-Temperatur: 260°; Durchflußgeschwindigkeit: 25 ml He/min.; Anzeige: FID bzw. Massenspektrometer.

(b) Kopplungselement zum Massenspektrometer war eine mit Butandiol-succinat beschichtete, auf 140–180° beheizte Metallkapillare. Sie wurde an die Austrittsdüse des Flammenionisationsdetektors angeschlossen. Die Verbindung mit dem Massenspektrometer bestand aus einer feinen Glaskapillare, durch die ein bestimmter Anteil des aus dem Gaschromatographen über die Kopplungs-Kapillare austretenden Gasstroms in das Massenspektrometer eingesogen wurde.

(c) Die Massenspektren wurden mit einem Atlas CH-4-Gerät unter folgenden Bedingungen aufgenommen: Substanz-Einlaß: Über den „Hochtemperatur-Einlaß“ bzw. über den Gaschromatographen; Arbeitstemperatur (in Vorratsbehälter und Ionenquelle): 150–170°. Elektronenenergie: 70 eV. Ionenanzeige: SEV-System; Registriereinheit: Kompensationsschreiber; bei Einlaß über den Gaschromatographen: Lichtpunktschreiber. Registrierzeit: Für den Bereich von 40–250 ME mit dem Kompensationsschreiber *ca.* 20 min, mit dem Lichtpunktschreiber *ca.* 10 sek (bei einer Durchlaufzeit von 30–120 sek für einen gaschromatographischen Peak).

#### VERSUCHSERGEBNISSE

Die gemessenen Retentionsvolumina wurden auf Methyl-2,3,4,6-tetra-*O*-methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid als inneren Standard bezogen. Die so erhaltenen relativen Retentionsvolumina werden im folgenden  $R_r$  genannt (Tab. I).

Bezüglich der Retentionswerte fallen vier, auch chemisch gut unterscheidbare Gruppen sofort auf: Methyl-tetra-*O*-methylglucopyranoside bei  $R_r = 0-1$ , Methyl-tri-*O*-methylglucopyranoside bei  $R_r = 2-3$ , Methyl-di-*O*-methylglucopyranoside bei

$R_f = 4-7$ , Methyl-mono-*O*-methylglucopyranoside bei  $R_f \geq 10$ . Die schwerflüchtigen und polaren Methyl-3-*O*-methylglucopyranoside wurden hartnäckig im Gerät festgehalten. Die  $R_f$ -Werte wurden deshalb bei erhöhter Einspritzblocktemperatur (320°) gemessen. Die beobachteten Retentionszeiten lagen bei 2.5 Stunden.

TABELLE I

RETENTIONSWERTE DER PARTIELL METHYLIERTEN METHYLGLUCOSIDE

Verbindungen <sup>a</sup>	Gemessene Werte $R_f$ unter folgenden Bedingungen <sup>b</sup>	
	GC <sup>c</sup> 200°, Glassäule mit EGS <sup>e</sup>	GC-MS <sup>d</sup> 200°, Glassäule mit EGS, Kapillare mit BDS <sup>f</sup>
$\beta$ -2,3,4,6	0.74	0.77
$\alpha$ -2,3,4,6	1.00	1.00
$\beta$ -2,3,6	2.20	2.35
$\alpha$ -2,3,6	2.92	3.20
$\beta$ -2,4,6	2.15	2.75
$\alpha$ -2,3,4	2.38	2.50
$\alpha$ -3,4,6	2.00	2.20
$\alpha$ -2,3	6.86	
$\alpha$ -4,6	4.50	7.10
$\alpha$ -3,4	4.26	6.3
$\beta$ -3	16.50	
$\alpha$ -3	23.60	

<sup>a</sup>Die einzelnen Methylglucosid-Derivate sind durch jene Stellen bezeichnet, an denen im Molekül außer in Position 1 Methoxygruppen sitzen. <sup>b</sup>Temperaturangaben beziehen sich auf die Säulentemperatur. <sup>c</sup>GC, Gaschromatographie unter Standardbedingungen <sup>d</sup>GC-MS, Gaschromatographie mit der Anordnung Gaschromatograph-Verbindungskapillare-Massenspektrometer <sup>e</sup>EGS, Äthylenglycolsuccinat-Polyester als flüssige Phase. <sup>f</sup>BDS, Butandiolsuccinat-Polyester als flüssige Phase.

Eine Auftrennung von Gemischen partiell methylierter Methylglucopyranoside in die Gruppen der Tri-, der Di- und der Mono-methyläther gelingt stets. Überlappungen der einzelnen gaschromatographischen Peaks treten nur innerhalb dieser Gruppen auf (s.u.). Die Massenspektren der einzelnen isomeren Tri-, Di- oder Mono-methyläther sind aber in so charakteristischer Weise voneinander verschieden, daß selbst bei ungenügender Auftrennung des Gemisches eine eindeutige massenspektrometrische Identifizierung der Komponenten möglich ist. So haben das Methyl-2,3,6-tri-*O*-methylglucopyranosid und das Methyl-2,4,6-tri-*O*-methylglucopyranosid praktisch gleiche Retentionszeiten, ihre Massenspektren unterscheiden sich jedoch besonders stark voneinander. Im Spektrum des ersteren sind auffällig starke Peaks bei den MZ 161, 88 und 75 zu finden, während für das Spektrum des letzteren starke Peaks bei den MZ 102 und 101 charakteristisch sind.

Da die Massenspektren der untersuchten Substanzen verschiedene Hauptpeaks aufweisen, erhält man nur dann vergleichbare Werte, wenn man die Peakintensitäten als Prozent vom Gesamt-Ionenstrom beschreibt.

Die nach der kombinierten gaschromatographisch-massenspektrometrischen

Methode gemessenen Spektren enthielten größere Intensitätsanteile, die nicht aus den untersuchten Substanzen stammten („Untergrund“). Um die Peakintensitäten auf einen möglichst untergrundarmen „Gesamt-Ionenstrom“ zu beziehen, wurden zu seiner Ermittlung nur die relativen Intensitäten folgender Peaks addiert (MZ = Massenzahl): MZ 40–100, sofern  $\geq 5\%$  des Hauptpeaks; MZ 100–160, sofern  $\geq 2.5\%$  des Hauptpeaks; MZ 160, sofern  $\geq 1\%$  des Hauptpeaks. Stärkere Abweichungen wurden im unteren MZ-Bereich (40–60) beobachtet. Da Peaks dieser MZ wenig charakteristisch sind, wurde auf sie bei der vergleichenden Betrachtung verzichtet. Die Meßergebnisse sind in Abb. 1–11 und in Tab. II wiedergegeben.

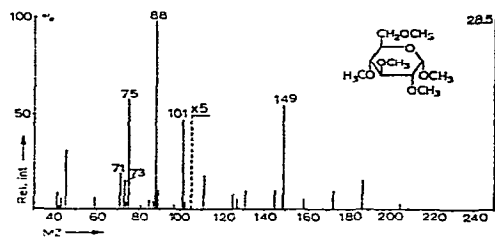


Abb. 1

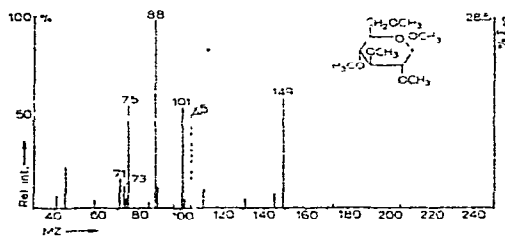


Abb. 2

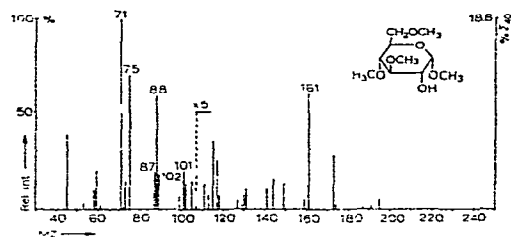


Abb. 3

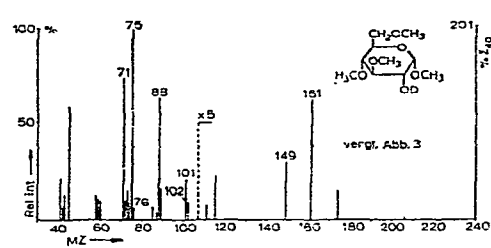


Abb. 3a

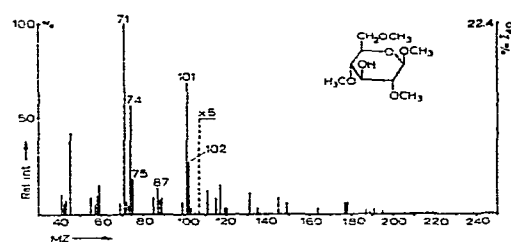


Abb. 4

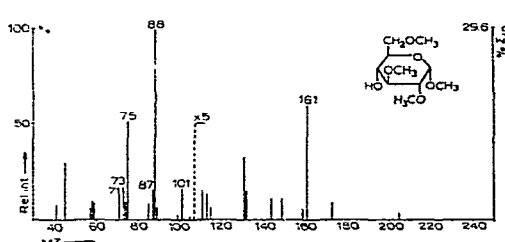


Abb. 5

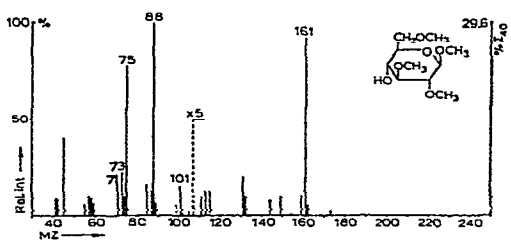


Abb. 6

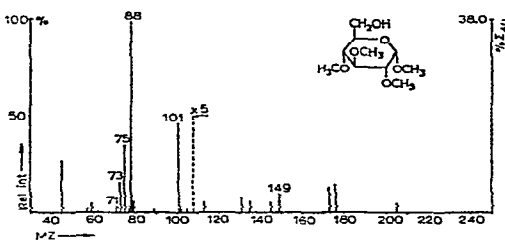


Abb. 7

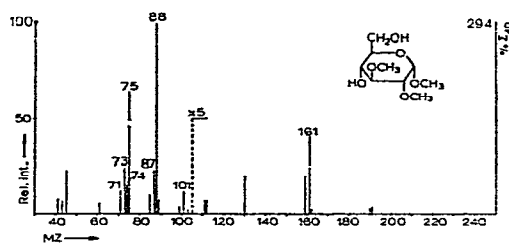


Abb. 8

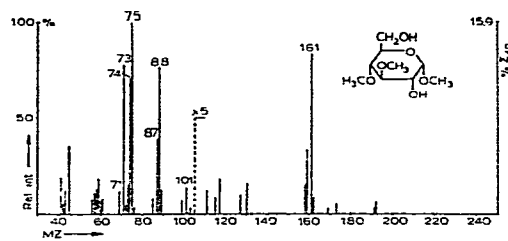


Abb. 9

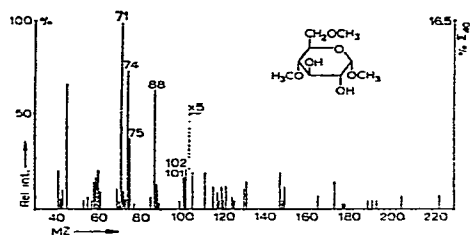


Abb. 10

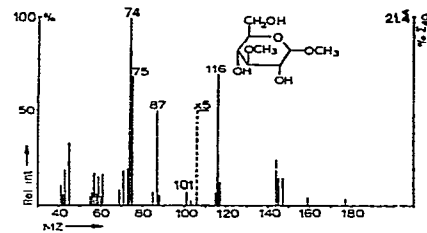


Abb. 11

## TABELLE II

GESCHÄTZTE UND GEMESSENE HÖHEN DER CHARAKTERISTISCHEN PEAKS IM MASSENSPEKTRUM EINIGER PARTIELL METHYLIERTER METHYLGLUCOSIDE

Verb. <sup>a</sup>	2,3,4			2,3,6		
	MZ	Ionen <sup>b</sup>	Peakhöhe in % $\Sigma_{40}$	Ionen <sup>b</sup>	Peakhöhe in % $\Sigma_{40}$	
			Ber. <sup>c</sup>	Kor. <sup>d</sup>	Gem. <sup>e</sup>	
	102		0.6		0.7	0.1
	101	<i>s</i> <sub>2</sub> <i>s</i> <sub>3</sub> <i>s</i> <sub>4</sub> <i>s</i> <sub>5</sub> <i>s</i> <sub>6</sub>	11.5	≤ + 6	17.8	<i>s</i> <sub>2</sub> <i>s</i> <sub>4</sub> <i>s</i> <sub>5</sub>
	88	<i>r</i> <i>t</i> <sub>1</sub> <i>t</i> <sub>2</sub> <i>t</i> <sub>3</sub>	29.6	≤ + 11	38.0	<i>r</i> <i>t</i> <sub>1</sub> <i>t</i> <sub>2</sub>
	87	<i>s</i> <sub>1</sub>	2.0	≥ - 6	1.15	<i>s</i> <sub>1</sub> <i>s</i> <sub>3</sub> <i>s</i> <sub>6</sub>
	75	<i>v</i> <sub>1</sub> <i>v</i> <sub>2</sub>	16.0		13.3	<i>v</i> <sub>1</sub>
	74		0.1			<i>t</i> <sub>3</sub>
	73	<i>w</i> <sub>1</sub> <i>w</i> <sub>2</sub> <i>w</i> <sub>3</sub> <i>w</i> <sub>4</sub>	4.4		6.1	<i>w</i> <sub>1</sub> <i>w</i> <sub>2</sub> <i>w</i> <sub>3</sub>
	161					<i>j</i>
						0
						≤ + 6
						4.0

Verb. <sup>a</sup>	2,4,6			3,4,6		
	MZ	Ionen <sup>b</sup>	Peakhöhe in % $\Sigma_{40}$	Ionen <sup>b</sup>	Peakhöhe in % $\Sigma_{40}$	
			Ber. <sup>c</sup>	Kor. <sup>d</sup>	Gem. <sup>e</sup>	
	102	<i>r</i>	1.7	≤ + 6	6.0	<i>r</i>
	101	<i>s</i> <sub>1</sub> <i>s</i> <sub>3</sub> <i>s</i> <sub>4</sub>	11.1	≤ + 6	15.4	<i>s</i> <sub>1</sub> <i>s</i> <sub>2</sub> <i>s</i> <sub>6</sub>
	88	<i>t</i> <sub>1</sub>	2.9	≤ + 1	1.5	<i>t</i> <sub>2</sub>
	87	<i>s</i> <sub>2</sub> <i>s</i> <sub>5</sub> <i>s</i> <sub>6</sub>	2.4	≥ - 1	3.0	<i>s</i> <sub>3</sub> <i>s</i> <sub>4</sub> <i>s</i> <sub>5</sub>
	75	<i>v</i> <sub>2</sub>	4.4	≥ + 1	4.0	<i>v</i> <sub>1</sub>
	74	<i>t</i> <sub>2</sub> <i>t</i> <sub>3</sub>	25.7	≥ - 16	12.8	<i>t</i> <sub>1</sub> <i>t</i> <sub>2</sub>
	73	<i>w</i> <sub>1</sub> <i>w</i> <sub>2</sub> <i>w</i> <sub>4</sub>	2.3		0.9	<i>w</i> <sub>1</sub> <i>w</i> <sub>3</sub> <i>w</i> <sub>4</sub>
	161					<i>j</i>
						0
						≤ + 6
						3.6
						2.2
						3.8
						11.2
						3.6
						13.1
						9.3
						2.6
						3.6

TABELLE II Fortsetzung

Verb. <sup>a</sup>		2,3			3,4			
MZ	Ionen <sup>b</sup>	Peakhöhe in % $\Sigma_{40}$			Ionen <sup>b</sup>	Peakhöhe in % $\Sigma_{40}$		
		Ber. <sup>c</sup>	Kor. <sup>d</sup>	Gem. <sup>e</sup>		Ber. <sup>c</sup>	Kor. <sup>d</sup>	Gem. <sup>e</sup>
102		0.1					0.1	
101	<i>s</i> <sub>2</sub> <i>s</i> <sub>4</sub> <i>s</i> <sub>5</sub>	2.4	≤ + 6	3.6	<i>s</i> <sub>2</sub> <i>s</i> <sub>6</sub>	0.7	≤ + 6	2.3
88	<i>t</i> <sub>1</sub> <i>t</i> <sub>2</sub>	24.5	≤ + 11	29.5	<i>r t</i> <sub>3</sub>	6.0	≤ + 6	12.4
87	<i>s</i> <sub>3</sub> <i>s</i> <sub>6</sub>	9.3	≥ - 6	6.8	<i>s</i> <sub>1</sub> <i>s</i> <sub>3</sub> <i>s</i> <sub>4</sub> <i>s</i> <sub>5</sub>	12.9	≥ - 11	6.2
75	<i>v</i> <sub>1</sub>	13.3	≤ + 11	19.2	<i>v</i> <sub>1</sub>	14.2	≤ + 6	15.9
74	<i>r t</i> <sub>3</sub>	5.8	≥ - 6	4.5	<i>t</i> <sub>1</sub> <i>t</i> <sub>2</sub>	24.1	≥ - 11	11.4
73	<i>s</i> <sub>1</sub> <i>w</i> <sub>1</sub> <i>w</i> <sub>2</sub> <i>w</i> <sub>3</sub>	7.1	≥ - 1	7.1	<i>w</i> <sub>1</sub> <i>w</i> <sub>3</sub> <i>w</i> <sub>4</sub>	2.6		2.6
161	<i>j</i>	0	≤ + 6	2.4	<i>j</i>	0	≤ + 6	2.7

Verb. <sup>a</sup>		4,6			3			
MZ	Ionen <sup>b</sup>	Peakhöhe in % $\Sigma_{40}$			Ionen <sup>b</sup>	Peakhöhe in % $\Sigma_{40}$		
		Ber. <sup>c</sup>	Kor. <sup>d</sup>	Gem. <sup>e</sup>		Ber. <sup>c</sup>	Kor. <sup>d</sup>	Gem. <sup>e</sup>
102	<i>r</i>	1.1	≤ + 6	3.6				
101	<i>s</i> <sub>1</sub>	2.05	≤ + 6	2.9	<i>s</i> <sub>2</sub>	0.3	≤ + 6	1.7
88				2.2			1.3	
87	<i>s</i> <sub>2</sub> <i>s</i> <sub>3</sub> <i>s</i> <sub>4</sub> <i>s</i> <sub>6</sub>	9.75	≥ - 1	10.4	<i>s</i> <sub>4</sub> <i>s</i> <sub>5</sub> <i>s</i> <sub>6</sub>	2.4	≤ + 6	10.65
75		1.8		6.0	<i>v</i> <sub>1</sub>	13.9	≤ + 6	14.6
74	<i>t</i> <sub>1</sub> <i>t</i> <sub>3</sub>	7.5	≤ + 6	12.0	<i>r t</i> <sub>1</sub> <i>t</i> <sub>2</sub> <i>t</i> <sub>3</sub>	30.0	≥ - 6	21.4
73	<i>s</i> <sub>4</sub> <i>s</i> <sub>5</sub> <i>w</i> <sub>1</sub>	2.2		0.9	<i>s</i> <sub>1</sub> <i>s</i> <sub>3</sub> <i>w</i> <sub>1</sub> <i>w</i> <sub>3</sub>	13.1	≥ - 11	4.3
147	<i>j</i>	0	≤ + 1	0.7	<i>j</i>	0	≤ + 1	0.7

<sup>a</sup>Die Verbindungen sind hier wie in Tabelle I bezeichnet. <sup>b</sup>Siehe Tabelle III. <sup>c</sup>Peakhöhen in %  $\Sigma_{40}$  berechnet unter der Annahme, daß die Intensität der einzelnen Ionen durch die Substituenten nicht verändert wird. <sup>d</sup>Korrektur unter Berücksichtigung der in Tabelle IV zusammengefaßten Effekte (%  $\Sigma_{40}$ ). <sup>e</sup>Meßwerte (%  $\Sigma_{40}$ ).

DISKUSSION

Wegen der deutlichen Unterschiede in den Massenspektren von Zuckern mit verschiedenem Methylierungsgrad ist durch Spektrenvergleich die sichere Identifizierung unbekannter Zuckerderivate möglich. Um jedoch von einem Spektrenkatalog der partiell methylierten Derivate der verschiedenen Zucker unabhängig zu sein, ist es vorteilhaft, wenn die Massenspektren der partiell methylierten Methylglucoside in übersichtlicher und eindeutiger Weise von denen der gut untersuchten permethylierten Derivate abgeleitet werden können.

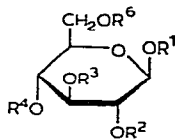
Durch Markierung der einzelnen Gruppen eines permethylierten Zuckers mit Deuterium ist bekannt, aus welchen Fragmentierungs-Reaktionen die verschiedenen Fragment-Ionen entstehen und in welcher Weise sich die einzelnen Gruppen des Zuckermoleküls auf die verschiedenen Ionen verteilen<sup>10,13-15</sup>. Da im

Vergleich zu den permethylierten Derivaten bei partiell methylierten Zuckern bestimmte  $\text{OCH}_3$ -Gruppen gegen  $\text{OH}$ -Gruppen ausgetauscht sind, werden auch die Massen bestimmter Ionen um 14 Masseneinheiten kleiner. Entsprechend verschiebt sich die MZ des zugehörigen Peaks. So werden im Massenspektrum permethylierter Methylhexopyranoside die Peaks der MZ 101 und 88 zu etwa 83% aus Ionen gebildet, die den Substituenten des C-Atoms 2 enthalten. Man sollte daher im Massenspektrum des Methyl-3,4,6-tri-*O*-methylglucopyranosids eine Verschiebung der entsprechenden Intensitätsanteile von den MZ 101 und 88 zu den MZ 87 und 74 erwarten. Wie Abb. 3 zeigt, tritt tatsächlich die erwartete Peakverschiebung ein, keineswegs aber im berechneten Ausmaß. Die unbefriedigende Übereinstimmung zwischen gemessenen und berechneten Massenspektren ist für zwei partiell methylierte Methylhexopyranoside bereits von Kochetkov *et al.* beobachtet worden<sup>15</sup>. Dabei benutzten die Autoren allerdings ein unrichtiges Fragmentierungsschema. Obwohl dieses Schema berichtigt wurde, konnten die Beobachtungen aber an dem vorliegenden umfangreichen Material bestätigt werden (s. Tabelle II). Die Substituenten müssen daher außer die Ionenmassen auch den Fragmentierungsprozeß durch weitere Effekte entscheidend beeinflussen. Damit die in dieser Arbeit für partiell methylierte Methylglucopyranoside erhaltenen Ergebnisse auf andere Zucker übertragen werden können, müssen Natur und Ausmaß dieser Substituenteneffekte bekannt sein.

Ausgehend von den Ergebnissen der massenspektrometrischen Untersuchung permethylierter Methyl-pentopyranoside und -hexopyranoside<sup>13-15</sup> wurden daher erneut die Massenspektren der partiell methylierten Derivate eingehend berechnet und durch Vergleich mit den experimentellen Werten die Substituenteneffekte bestimmt. Das soll anhand jener Ionen erläutert werden, die bei den permethylierten Derivaten die MZ 102, 101, 88, 75 und 71 haben. Mit Hilfe dieser intensiven Ionen ist eine eindeutige Identifizierung von Massenspektren partiell methylierter Zucker möglich.

Tab. III enthält eine Liste der genannten Ionen mit ihren MZ und den Anteil in %, welchen sie am Gesamt-Ionenstrom des permethylierten Methylglucosids haben. Tab. II enthält u.a. jene Peakintensitäten, welche für die partiell methylierten Methylglucoside unter der Maßgabe errechnet wurden, daß die elektronenstoß-induzierte Fragmentierung dieser Derivate in gleicher Weise abläuft, und daß sich alle Ionen mit der gleichen Intensität am Gesamt-Ionenstrom beteiligen, wie bei der permethylierten Verbindung. Tab. II enthält weiterhin die entsprechenden Meßergebnisse.

Wichtig für die folgenden Betrachtungen ist, daß die besonders intensiven Fragment-Ionen durch wenige „Hauptspaltungsreaktionen“ (und Umlagerungen) gebildet werden. Diese „Reaktionen“ und die durch sie gebildeten „Hauptfragment-Ionen“ sind in Abb. 12 dargestellt. Das Grundmolekül wird hier beschrieben als:





Anomere werden nicht unterschieden und jedes R kann ein H-Atom oder eine CH<sub>3</sub>-Gruppe sein.

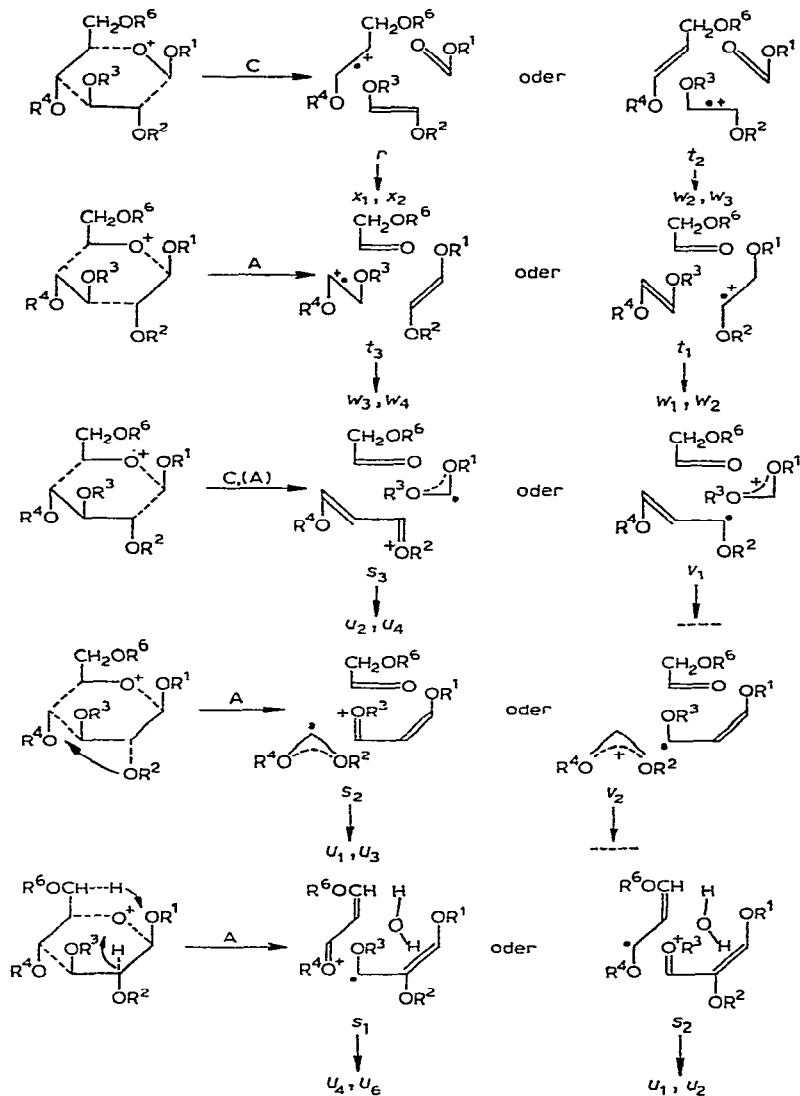


Abb. 12

Verglichen mit dem Spektrum des permethylierten Derivats können folgende Effekte zu Intensitätsverschiebungen einzelner Ionentypen führen:

(1) Beim Zerfall des Molekülions in mehrere Bruchstückgruppen konkurrieren die einzelnen Fragmente miteinander um die elektrische Ladung. Da Methoxygruppen positive Ladungen stärker induktiv stabilisieren als Hydroxygruppen, wird die „Ladungsverteilung“ auf die einzelnen Fragmente durch Substitution von OCH<sub>3</sub>

gegen OH geändert. Die Intensität eines Ions nimmt dann zugunsten der Intensität seines Konkurrenten ab.

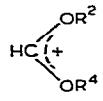
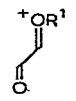
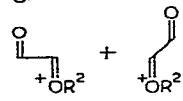
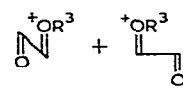

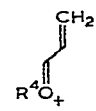
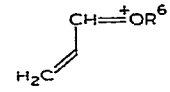
(2) Ein weiterer Einfluß des Substituenten auf die Ionenintensität ist die Benachteiligung primärer Spaltungsreaktionen im Molekülion und damit ganzer Bruchstückgruppen zugunsten anderer. So wird die Primärsplaltung C, bei der zunächst die positive Ladung am C-2 stabilisiert werden muß (Ion  $c_1$ ), zurückgedrängt, wenn dort statt  $\text{OCH}_3$  die schwächer induktiv-stabilisierende OH Gruppe sitzt.

Da bei den betrachteten Reaktionen im ersten Zerfallsschritt immer eine der

TABELLE III

Ionenbezeichnung	Ionenbau	Zerf- reihe	MZ	Peak-Intensität <sup>a</sup> in % $\Sigma_{40}$
r		D	102, 88, 74	1.1
s1		A	101, 87, 73	2.05
s2		A	101, 87	0.25
s3		C	101, 87, 73	8.85
s4			101, 87, 73	0.25
s5		A, C	101, 87, 73	1.75
s6			101, 87, 73	0.40
t1		A	88, 74	2.85
t2		C	88, 74, 60	21.2
t3		A	88, 74, 60	4.5
v1		C	75, (61)	11.6

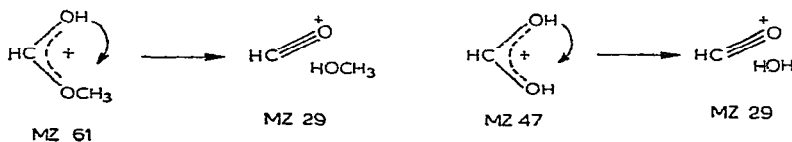
TABELLE III Fortsetzung

Ionenbezeichnung	Ionenbau	Zerfallreihe	MZ	Peak-Intensität <sup>a</sup> in % $\Sigma_{40}$
<i>v</i> <sub>2</sub>		A	75, (61), (47)	2.15
	Weitere Ionen <i>v</i> , die R <sup>2</sup> , R <sup>3</sup> und R <sup>6</sup> enthalten können		75	2.75
<i>w</i> <sub>1</sub>		A	73	0.20
<i>w</i> <sub>2</sub>		A, C	73, 59	1.75
<i>w</i> <sub>3</sub>		A, C	73, 59	2.0
<i>w</i> <sub>4</sub>		A	73, 59	0.40
<i>x</i> <sub>1</sub>		D	71, 57	2.30
<i>x</i> <sub>2</sub>		D	71, 57	3.10

<sup>a</sup>Wenn das betreffende Ion aus Methyl-2,3,4,6-tetra-*O*-methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid entstand.

Bindungen zum C-1 gespalten wird, ist wegen der geringen Reichweite induktiver Effekte nur von R<sup>2</sup> ein Einfluß auf die Primäerspaltungsreaktionen zu erwarten. Ähnlich ist der Einfluß der Substitution auf die Sekundäerspaltungsreaktionen. Dieser Effekt wird aber durch den unter (I) angeführten völlig überdeckt.

(3) Die betrachteten Ionen sind Zwischenprodukte in längeren Zerfallsreihen. Ihre Intensität kann sich daher vermindern, wenn durch Substitution von OCH<sub>3</sub>- gegen OH-Gruppen die Bereitschaft zur Bildung der Folge-Ionen (Ionenreaktivität) wesentlich vergrößert wird. So können Ionen vom Typ *v*, wenn sie eine oder zwei Hydroxygruppen enthalten, durch Wanderung der beweglichen H-Atome aus den Hydroxygruppen unter Eliminierung von CH<sub>3</sub>OH bzw. H<sub>2</sub>O weiter zerfallen:



(4) Umlagerungsreaktionen durch Wanderung der beweglichen H-Atome aus den Hydroxygruppen können bereits in den Molekülonen partiell methylierter Methylpyranoside auftreten. Da beim permethylierten Derivat entsprechende Reaktionen nicht möglich sind, können dadurch ebenfalls die Intensitätsverhältnisse verändert werden. Schließlich entstehen Ionen des Typs *s* und *r* in den Massenspektren der permethylierten Verbindung durch Wanderung von Methoxygruppen. Da Hydroxygruppen eine andere Wanderungstendenz haben können als Methoxygruppen, sind auch auf diese Weise Intensitätsverschiebungen für jene Ionen möglich.

Die Stärke der obengenannten Einflüsse läßt sich nur schwierig exakt berechnen. So können Intensitätsveränderungen einzelner Ionentypen schwer erkannt werden, weil die einzelnen Peaks meist von vielen Ionen verschiedenen Ursprungs, aber gleicher MZ, gebildet werden. Auch sind an einer Intensitätsverschiebung oft mehrere einander überlagernde Effekte beteiligt. Da diese Überlagerungen nicht einfach durch Faktoren oder additiv zu erfassen sind, entsteht ein schwer durchschaubares Bild vom Ineinandergreifen aller Einflüsse. Dennoch sind Abschätzungen möglich, weil alle übrigen Effekte gering sind gegenüber denen der Ladungsverteilung innerhalb einer Bruchstückgruppe und der Beeinflussung der Primärsplattung<sup>16</sup>.

Um zu sicheren Aussagen über die Wirkung der Haupt-Effekte zu gelangen, muß ihre Verfälschung durch die übrigen Effekte ausgeschlossen werden. Dazu müssen alle Einflüsse betrachtet und ihre Größenordnungen bestimmt werden:

(1) *Masseverschiebung*. Einige typische Erscheinungen lassen sich schon aus der Masseverschiebung besonders intensiver Ionen vorhersagen. So kann der Peak mit der MZ 102 nur vom Ion *r* mit  $R^4 = R^6 = \text{CH}_3$  gebildet werden. Entsprechendes gilt für den Peak der MZ 161. Wie später gezeigt wird, können Ionen dieser MZ nur entstehen, wenn eine Hydroxygruppe am C-2 oder C-4 vorhanden ist. Außerdem wird ein Peak mit der MZ 75 nur beobachtet, wenn die Ionen  $v_1$  und  $v_2$  diese Masse haben ( $R^3$  oder  $R^2$  und  $R^4 = \text{CH}_3$ ). Alle diese Vorhersagen werden durch die Messungen ausnahmslos bestätigt.

(2) *Ionenreaktivität*. *Ionen des Typs v*. — Wie bereits erwähnt, zerfallen Ionen des Typs *v* bei einer Substitution von  $\text{OCH}_3$  durch OH schnell weiter. Dadurch werden die Peaks der MZ 61 und 47 zusätzlich geschwächt. Bei der vergleichenden Betrachtung konnte jedoch auf diese Peaks verzichtet werden.

*Ionen des Typs t*. — Beim Methyl-4,6-di-*O*-methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid wird der Peak mit der MZ 74 allein von den Ionen  $t_1$  und  $t_3$  gebildet. Die Intensitätssumme dieser Ionen ist daher 12%  $\Sigma_{40}$ . Da wegen der OH-Gruppe in 2-Stellung die *A*-Spaltung gegenüber der *C*-Spaltung begünstigt wird, ist diese Summe etwas größer als bei der permethylierten Verbindung mit 7.4%  $\Sigma_{40}$ ;  $t_1$  und  $t_3$  enthalten beide eine Hydroxygruppe (MZ 74). Der Meßwert zeigt daher, daß die Reaktivität der Ionen vom Typ *t* durch Substitution einer  $\text{OCH}_3$ - gegen eine OH-Gruppe nicht wesentlich geändert wird. Eine entsprechende Betrachtung der Derivate mit Methoxygruppen in 3,4,6- und in 4,6-Stellung ergibt für die Intensitätssumme der Ionen *r* und  $t_2$  Werte von gleicher Größenordnung. Das bedeutet, da *r* beide Male 2  $\text{OCH}_3$ -Gruppen (MZ 102),  $t_2$  jedoch einmal eine (MZ 74) und einmal 2 OH-Gruppen (MZ 60) besitzt,

daß die Reaktivität von Ionen des Typs *t* auch durch den Ersatz beider OCH<sub>3</sub>- durch OH-Gruppen nicht merklich verändert wird.

*Ionen des Typs s.* — Beim Methyl-2,3-di-*O*-methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid liegt die Intensität des Ions *s*<sub>3</sub> mit der MZ 87 (1 OH-Gruppe, 1 OCH<sub>3</sub>-Gruppe) in der erwarteten Größenordnung (6.5–5.5%  $\Sigma_{40}$ ). Sie müßte wesentlich kleiner sein, wenn Ionen dieses Typs durch Substitution von OCH<sub>3</sub>- durch OH-Gruppen reaktiver würden.

Entsprechendes gilt auch für die Derivate mit Methoxygruppen in 3,4- und 4,6-Stellung. Bei letzterer werden *s*<sub>3</sub> und *s*<sub>2</sub>, beide mit einer OH-Gruppe und der MZ 87, in der vermuteten Größenordnung gebildet. Ihre Intensitätssumme ist 10%  $\Sigma_{40}$  gegenüber 9.15%  $\Sigma_{40}$  bei der permethylierten Verbindung.

*Ionen des Typs r.* — Das Ion *r* bildet sehr bereitwillig die Folge-Ionen *x*<sub>1</sub> und *x*<sub>2</sub>. Diese Tendenz verstärkt sich noch, wenn in ihm OCH<sub>3</sub>-Gruppen durch OH-substituiert sind. *r*-Peaks sind jedoch nur bei der MZ 102 charakteristisch, weil sie bei den MZ 88 und 74 von *t*-Peaks überdeckt werden. Auf die Betrachtung dieser Anteile wird daher im folgenden verzichtet.

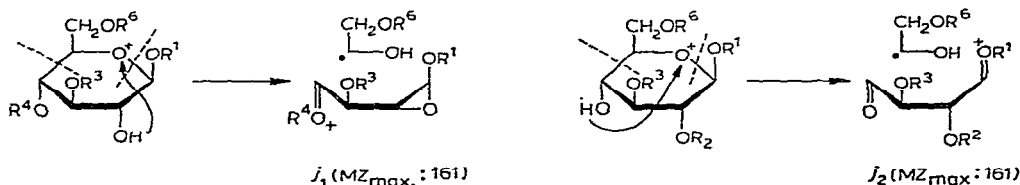
(3) *Spezifische Umlagerungs-Reaktionen.* Die Ionen *s*<sub>2</sub> und *s*<sub>3</sub> entstehen durch OR-Gruppen-Wanderung. Beim Methyl-4,6-di-*O*-methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid ist die wandernde Gruppe beide Male eine Hydroxygruppe. Die Intensität von *s*<sub>2</sub> und *s*<sub>3</sub> ist zusammen 10%  $\Sigma_{40}$  gegenüber 9.15%  $\Sigma_{40}$  bei der permethylierten Verbindung. Daraus muß man schließen, daß die OH-Gruppe mit ähnlicher Bereitwilligkeit wandert wie die OCH<sub>3</sub>-Gruppe, die Ladung jedoch bei dem höher methylierten Fragment verbleibt. Einen weiteren Hinweis liefert das Spektrum des Methyl-2,4,6-tri-*O*-methylglucopyranosids. Dort wird der Peak der MZ 101 von *s*<sub>3</sub> gebildet. Dieses Ion entsteht durch OH-Gruppen-Wanderung. Seine Intensität ist mit 13.5%  $\Sigma_{40}$  so hoch, wie es aus der Ladungsverteilung bei gleichbleibender Umlagerungstendenz zu erwarten ist.

Eine neue Umlagerung wurde bei partiell methylierten Methylglucosiden mit einer Hydroxygruppe am C-2 oder C-4 gefunden. Die Spektren dieser Verbindungen zeigen bei der MZ 161 einen großen Peak. Ein Ion dieser MZ ist nach dem Abbau-schemata<sup>10,16</sup> nicht möglich, ist aber charakteristisch für die Massenspektren permethylierter Methylglucofuranoside. Eine Verunreinigung der Substanzen durch Furanoside ist jedoch durch die Synthese und durch kombinierte gaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchungen ausgeschlossen.

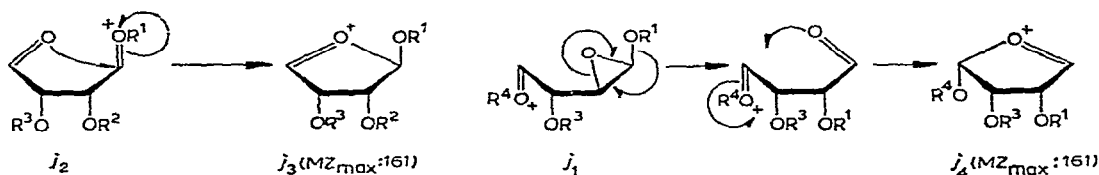
Folgende Hinweise für die Entstehung des Ions MZ 161 konnten gesammelt werden: (a) Wegen seiner hohen MZ muß das Ion MZ 161 mindestens 4 Gerüst-Atome enthalten. (b) Voraussetzung für die Bildung des Ions ist eine OH-Gruppe am C-2 und OCH<sub>3</sub>-Gruppen an C-3 und C-4 oder eine OH-Gruppe an C-4 und OCH<sub>3</sub>-Gruppen am C-2 und C-3. (c) Der Substituent R<sup>6</sup> hat keinen Einfluß. C-6 mit seinem Substituenten ist daher wahrscheinlich nicht im Ion enthalten. (d) Ein Austausch des H-Atoms aus der freien OH-Gruppe in Methyl-3,4,6-tri-*O*-methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid gegen Deuterium verändert weder die MZ noch die Intensität des

Peaks der MZ 161. Das Ion der MZ 161 wird daher offensichtlich durch eine Wanderung des H-Atoms aus der OH-Gruppe an das neutrale Fragment gebildet.

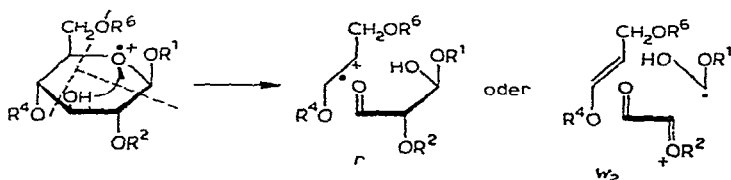
Ausgehend von diesen Befunden wird für die Bildung der Ionen  $j$  der MZ 161 eine Wanderung des H-Atoms aus der Hydroxygruppe am C-2 oder C-4 in einem 5-gliedrigen Übergangszustand zum Ringsauerstoff vorgeschlagen. Dieser Wanderung schließt sich die Abspaltung des neutralen Radikals  $R^6 OCH_2-\dot{C}H-OH$  an:



Die Bildung der Ionen  $j$  ist mit einer *A*-Spaltung verknüpft. Da die Primärsplattung *A* durch eine OH-Gruppe am C-2 begünstigt werden sollte, ist in diesem Falle eine stärkere Bildung des Ions  $j_1$  zu erwarten. Die Meßwerte stimmen damit überein. Aus der Struktur der Ionen  $j$  kann keine günstige Stabilisierung der positiven Ladungen abgeleitet werden, welche die große Intensität des entsprechenden Peaks erklären würde. Es ist jedoch möglich, daß eine Isomerisierung zu cyclischen Ionen erfolgt:



Die Ionen  $j_3$  und  $j_4$  entsprechen dem bei den permethylierten Furanosiden auftretenden Ion der MZ 161. Beim Ion  $j_1$  muß dazu eine Umlagerung mit Öffnung des Exproxyringes erfolgen. Solche Umlagerungen sind an Cyclopropanen und Epoxiden beobachtet worden<sup>17,18</sup>. Eine H-Wanderung aus der OH-Gruppe in Position 3 führt nicht zu Ionen vom Typ  $j$ . Offenbar deshalb nicht, weil mit ihr eine Reaktion konkurriert, bei der die H-Wanderung mit einer *C*- oder *D*-Spaltung gekoppelt ist:



Für diesen Zerfallsweg lassen sich in der Tat Anhaltspunkte finden. Der Peak MZ 73, normalerweise  $1/5 \times$  so groß wie der Peak MZ 88, ist beim Methyl-2,4,6-tri-*O*-methylglucopyranosid fast genauso groß wie dieser. Auch die Intensität des dem Ion  $r$  entsprechenden Peaks der MZ 102 ist mit 6%  $\Sigma_{40}$  statt der sonst zu erwartenden 2%  $\Sigma_{40}$  ungewöhnlich groß.

(4) *Induktive Effekte.* — Vergleicht man die Massenspektren des Methyl-3,4,6-tri-*O*-methylglucopyranosids mit dem der permethylierten Verbindung, so erkennt man die erwartete Bevorzugung der *A*-Spaltung an der größeren Intensitätssumme der durch sie entstehenden Bruchstücke  $t_1+t_3$  (mindestens 11.2%  $\Sigma_{40}$  gegenüber 7.4%  $\Sigma_{40}$ ). Andererseits ist die *C*-Spaltung — wie ebenfalls zu erwarten war — behindert: So ist die Intensitätssumme der Bruchstückgruppe  $v_1+s_3$  höchstens 16%  $\Sigma_{40}$  gegenüber 20.5%  $\Sigma_{40}$  bei der permethylierten Verbindung. Im gleichen Sinne ist die Intensitätssumme der Bruchstückgruppe  $r+t_2$  verändert (maximal 11.8%  $\Sigma_{40}$  gegenüber 22.25%  $\Sigma_{40}$  bei der permethylierten Verbindung<sup>16</sup>). Diese Beobachtung läßt sich gut verstehen, wenn man annimmt, daß *r* und  $t_2$  über den — jetzt behinderten — Reaktionsweg *C* gebildet werden. Daß *r* mit 2.25%  $\Sigma_{40}$  trotzdem stärker als bei der permethylierten Verbindung (1.1%  $\Sigma_{40}$ ) auftritt, wird zwanglos durch die Ladungsverteilung innerhalb der Bruchstückgruppe erklärt. Der Intensitätsgewinn von *r* geht also zu Lasten der Intensität der Ionen  $t_2$ .

Der Einfluß der OH-Gruppe am C-2 auf die Primäerspaltungen im Methyl-4,6-di-*O*-methylglucopyranosid-Molekülion muß der gleiche sein wie beim Methyl-3,4,6-tri-*O*-methylglucopyranosid. Das Ladungsgewicht innerhalb der Bruchstückgruppe  $r+t_2$  muß jedoch stärker zu *r* hin verschoben sein, denn während *r* unverändert bleibt, besitzt  $t_2$  nur noch Hydroxygruppen und kann daher positive elektrische Ladungen besonders schlecht induktiv stabilisieren. Tatsächlich ist der *r*-Peak mit 3.05%  $\Sigma_{40}$  (gegenüber 2.25%  $\Sigma_{40}$ ) weiter erhöht. Die Intensitätssummen der Bruchstückgruppen  $t_1+t_3$  und  $r+t_2$  haben sich mit 12.0%  $\Sigma_{40}$  bzw. 7.05%  $\Sigma_{40}$  nicht wesentlich verändert.

In entsprechender Weise lassen sich die Derivate mit Methoxygruppe in 2,3- und in 3,4-Stellung miteinander vergleichen. Bei beiden Verbindungen haben  $v_1$  und  $s_3$  die gleiche Struktur, so daß in der Ionenreaktivität und der Ladungsverteilung keine wesentlichen Unterschiede auftreten können. Folglich sollte beim Methyl-3,4-di-*O*-methylglucopyranosid durch Benachteiligung der Primäerspaltung *C* der Gesamt-Ionenstrom-Anteil sowohl von  $v_1$  als auch von  $s_3$  gegenüber der anderen Verbindung herabgesetzt sein. Das ist mit 15%  $\Sigma_{40}$  gegenüber 19.2  $\Sigma_{40}$  für  $v_1$  und mit 3.5–5%  $\Sigma_{40}$  gegenüber 5.5–6.5%  $\Sigma_{40}$  für  $s_3$  der Fall.

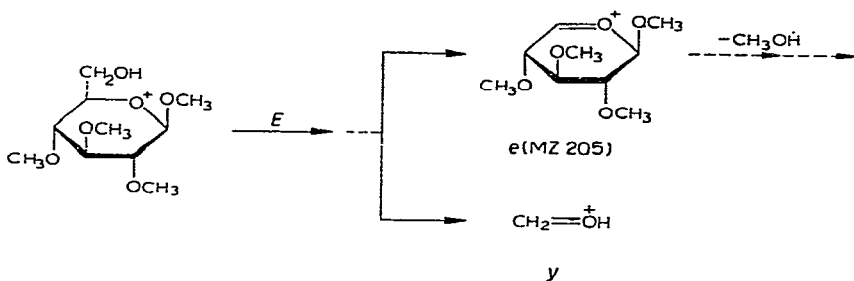
In entsprechender Weise läßt sich die Wirkung der Ladungsverteilung durch Vergleich der Massenspektren vom Methyl-2,3,6-tri-*O*-methylglucopyranosid, vom Methyl-2,4,6-tri-*O*-methylglucopyranosid und vom permethylierten Derivat studieren. Für diese Verbindungen wurden folgende Intensitätswerte in %  $\Sigma_{40}$  ermittelt :

Ion	2, 3, 6	2, 3, 4, 6	2, 4, 6
$v_1$	15.7 (MZ 75)	11.6 (MZ 75)	— (MZ 61)
$s_3$	1–3 (MZ 87)	8.9 (MZ 101)	11–13.5 (MZ 101)

Bei keiner der Verbindungen wird der Anteil einer Primäerspaltung gegenüber den anderen deutlich verändert. Die Substitution von OCH<sub>3</sub> gegen OH hat auf die Reaktivität von  $s_3$  — wie bereits gezeigt — keinen Einfluß. Somit ist beim Methyl-

2,3,6-tri-*O*-methylglucopyranosid das Absinken der  $s_3$ -Intensität gegenüber der permethylierten Verbindung von 8,9 auf 1–3%  $\Sigma_{40}$  zugunsten seines Konkurrenz-Ions  $v_1$  (von 11,6 auf 15,7%  $\Sigma_{40}$  eine Folge der geringeren Ladungsstabilisierung durch die Hydroxygruppe. Ebenso wird beim Methyl-2,4,6-tri-*O*-methylglucopyranosid gegenüber der permethylierten Verbindung ein weiterer Intensitätsanstieg von  $s_3$  beobachtet, weil sich hier die Fähigkeit des Konkurrenz-Ions  $v_1$  zur Ladungsstabilisierung durch die Substitution verringert hat.

Der Einfluß der OH-Gruppe auf die Stabilisierung positiver elektrischer Ladungen wird auch bei anderen als den in Abb. 11 angegebenen Reaktionen beobachtet. So sollte bei der *E*-Spaltung des Methyl-2,3,4-tri-*O*-methylglucopyranosids die Ladung weniger beim Fragment  $\gamma$  als bei  $e$  und seinen Folgeprodukten verbleiben.



Tatsächlich sind die entsprechenden Peaks bei 205 und 173 ME im Massenspektrum dieser Verbindung wesentlich stärker als beim permethylierten Derivat<sup>16</sup>.

Zusammenfassend lassen sich für den Einfluß, den der Austausch von  $\text{OCH}_3$ -Gruppen gegen OH-Gruppen auf die Ladungsverteilung und auf die Primärsplittingsreaktionen bei der Fragmentierung des Molekülions hat, folgende Richtwerte angeben: (a) Ist in einer Bruchstückgruppe bei einem Ion eine  $\text{OCH}_3$ -Gruppe durch OH ersetzt, das Konkurrenz-Ion hingegen unsubstituiert, so ist die Intensität des substituierten Ions zugunsten des anderen um ca. 50% vermindert. (b) Ist in beiden Konkurrenz-Ionen jeweils eine  $\text{OCH}_3$ -Gruppe durch eine OH-Gruppe substituiert so ändert sich die Ladungsverteilung nicht. (c) Enthält ein Fragment 2 OH-Gruppen, sein Konkurrenz-Ion hingegen keine, so wird der Anteil dieses Ions am Gesamt-Ionenstrom um 75% zugunsten des anderen Fragments herabgesetzt. (d) Eine OH-Gruppe am C-2 setzt die Ionenbildung durch Primärsplattung C um 25% zugunsten der A-Splattung herab.

Außer der Masseverschiebung beeinflussen also nur zwei der Substitutionseffekte die Massenspektren partiell methylierter Methylglucopyranoside maßgeblich: (1) Umlagerungsreaktionen, die zu neuen, intensiven Ionen führen (Ionen  $j$ ). (2) Induktive Stabilisierung positiver Ladungen durch den Substituenten. Dabei wird hauptsächlich die Ladungsverteilung innerhalb einer Bruchstückgruppe und, bei Änderung des Substituenten am C-2, in geringerem Ausmaß das statistische Gewicht der Primärsplittingsreaktionen verändert.

Alle beobachteten Effekte treten schon in der Gruppe der Tri-*O*-methyl-derivate auf. Zusätzliche Effekte durch mehrere Hydroxygruppen sind nicht zu



TABELLE IV

SUBSTITUTIONSEFFEKTE BEI DEN HAUPTSPALTUNGSREAKTIONEN

Ion <sup>b,c</sup>	Verb. <sup>a</sup>															
	2,3,4,6	2,3,4	2,3,6	2,4,6	3,4,6	2,3	2,4	3,4	2,6	3,6	4,6	2	3	4	6	
r	MZ 102	88	88	102	102	74	88	88	88	88	102	74	74	88	74	
	LV	.	.	+	+	-	.	.	.	.	++	-	-	+	74	
	P	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
t <sub>2</sub>	MZ 88	88	88	74	74	88	74	74	74	74	60	74	74	60	60	
	LV	.	+	-	-	++	.	.	.	.	-	+	-	-	.	
	P	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
t <sub>1</sub>	MZ 88	88	88	88	74	88	88	74	88	74	74	88	74	74	74	
	LV	.	.	+	+	+	+	+	+	+	+	++	.	+	+	
	P	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
t <sub>3</sub>	MZ 88	88	74	74	88	74	74	88	60	74	74	60	74	76	60	
	LV	.	.	-	-	+	+	+	-	.	.	-	.	.	-	
	P	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
s <sub>3</sub>	MZ 101	101	87	101	87	87	101	87	87	73	87	87	73	87	73	
	LV	.	.	-	+	-	+	-	-	-	.	.	.	.	-	
	P	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
v <sub>1</sub>	MZ 75	75	75	.	75	75	.	75	.	75	.	.	75	.	.	
	LV	.	.	+	-	+	+	+	.	++	.	.	++	.	+	
	P	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
s <sub>2</sub>	MZ 101	101	101	87	101	101	87	101	87	101	87	87	101	87	87	
	LV	.	.	+	-(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	P	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
v <sub>2</sub>	MZ 75	75	.	75	.	.	75	.	.	.	.	.	.	.	.	
	LV	.	.	-	+	-	+	-	-	.	.	.	.	.	.	
	P	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
s <sub>1</sub>	MZ 101	87	87	101	101	73	87	87	87	87	101	73	73	87	87	
	LV	.	.	-	+	-	.	.	.	.	+	-	-	+	+	
	P	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

<sup>a</sup>Die Verbindungen sind hier wie in Tabelle I bezeichnet.

<sup>b</sup>LV = Wirkung induktiver Effekte auf die Ladungsverteilung. In dieser Spalte bedeutet ein "+", daß das betreffende Ion eine Methoxygruppe mehr besitzt als sein Konkurrenz-Ion (Intensitätsvermehrung um 50%). Das Konkurrenz-Ion hat dann ein "-" (Intensitätsverminderung um 50%). Besitzt das betreffende Ion 2 Methoxygruppen mehr als sein Konkurrenz-Ion, so ist es durch ein "++" gekennzeichnet. Seine Intensität vermehrt sich damit um 75-100% gegenüber dem aus der permethylierten Verbindung stammenden Ion gleichen Typs zu Lasten seines Konkurrenz-Ions. Dieses ist dann durch ein "---" gekennzeichnet. "+(+)" beim Ion s<sub>2</sub> berücksichtigt seine Entstehung als Konkurrenz-Ion zu s<sub>1</sub>.

<sup>c</sup>ep = Wirkung induktiver Effekte auf die Primärsplaltung. In dieser Spalte bedeutet "+" eine Bevorzugung der Primärsplaltungsreaktion, durch die das betreffende Ion entsteht. (Intensitätsvermehrung um 25% gegenüber der permethylierten Verbindung). Das gleiche gilt mit umgekehrten Vorzeichen für das Symbol "-".

erwarten, wohl aber stärkere Intensitätsverschiebungen, wenn ein Ion 2 Hydroxygruppen und sein Konkurrenz-Ion 2 Methoxygruppen trägt. Dies trifft für das Methyl-2,3-di-*O*-methylglucopyranosid und seine Isomeren mit Methoxygruppen in 3,4- und in 4,6-Stellung zu. Die beobachteten Intensitätsverschiebungen bei diesen Verbindungen überschritten das erwartete Ausmaß nicht.

Durch induktive Effekte werden Intensitätsänderungen höchstens bis zu 150% der jeweiligen Peakhöhe möglich. Die Peaks der zahlreichen, wenig intensiven Ionen werden deshalb im Spektrum nicht auffallend verändert, bei den sehr intensiven Hauptionen aber entstehen kräftige Intensitätsverschiebungen, deren Richtung man bestimmen und deren Ausmaß man durch Richtwerte abschätzen kann.

Die für alle Hauptionen der partiell methylierten Methylglucoside zu erwartenden Substitutionseffekte auf die Primärspaltung und auf die Ladungsverteilung beschreibt Tab. IV.

Mit Hilfe dieser Angaben kann man jetzt die Richtung und das ungefähre Ausmaß von Intensitätsverschiebungen für die von einzelnen Ionentypen gebildeten Peaks vorhersagen. Ein Vergleich mit den Meßwerten zeigt, daß so eine deutliche Verbesserung erreicht wurde.

Entsprechend den in Tab. II gemachten Angaben ist jedes Derivat durch mehrere charakteristische Merkmale von allen anderen unterscheidbar (s. auch Tab. V).

TABELLE V

CHARAKTERISTISCHE MERKMALE DER MASSENSPEKTREN PARTIELL METHYLIERTER METHYLGLUCOSIDE

MZ	Verb. <sup>a</sup>													
	2,3,4	2,3,6	2,4,6	3,4,6	2,3	2,4	2,6	3,4	3,6	4,6	2	3	4	6
161	.	0	.	0	0	.	.	0	.	.	.	.	.	.
102	.	.	x	0	.	.	.	.	.	0	.	.	.	.
101	x x	0	x x	0	0	x x	.	0	.	0	.	.	.	.
88	x x x	x x x	x	x	x x x	x	x	x x	.	.	x x	.	.	.
87	0	x	0	0	x	0	x x	x	0	x x	x x	x	x x	0
75	x x	x x	0	x x	x x	x	0	x x	x x	0	0	x x	.	0
74	.	0	x x	x	0	x x	x x x	x x	x x x	x x	x x x	x x x	x x x	x x x

<sup>a</sup>Die Verbindungen sind hier wie in Tabelle I bezeichnet; . = vernachlässigbar kleiner Peak ( $\leq 1\% \Sigma_{40}$ ); 0 = kleiner Peak (Größenordnung etwa  $1-5\% \Sigma_{40}$ ); x = mittlerer Peak (Größenordnung etwa  $5-10\% \Sigma_{40}$ ); x x = großer Peak (Größenordnung etwa  $10-20\% \Sigma_{40}$ ); x x x = sehr großer Peak ( $\geq 20\% \Sigma_{40}$ ).

Da neben den Masseverschiebungen nur die sterisch unabhängigen induktiven Effekte die Massenspektren der partiell methylierten Methylglucopyranoside wesentlich beeinflussen, kennzeichnen die besonderen Merkmale dieser Massenspektren auch den Substitutionstyp aller übrigen partiell methylierten Hexopyranoside. Diese Charakteristika gibt Tab. V wieder. Man kann sie sinngemäß für ähnliche Verbindungen, etwa die Pentopyranoside, ableiten.

## LITERATUR

- 1 C. T. BISHOP, *Advan. Carbohyd. Chem.*, 19 (1964) 95.
- 2 C. T. BISHOP, *Methods Biochem. Anal.*, 10 (1962) 1.
- 3 H. W. KIRCHER, *Methods Carbohyd. Chem.*, 1 (1962) 13.
- 4 C. T. BISHOP UND F. P. COOPER, *Can. J. Chem.*, 38 (1960) 388.
- 5 G. O. ASPINALL, *J. Chem. Soc.*, (1963) 1676.
- 6 A. M. STEPHEN, M. KAPLAN, G. L. TAYLOR, UND E. C. LEISEGANG, *Tetrahedron*, 22 (1966) 233.
- 7 G. A. ADAMS UND C. T. BISHOP, *Can. J. Chem.*, 38 (1960) 2380.
- 8 P. KOOIMAN UND G. A. ADAMS, *Can. J. Chem.*, 39 (1961) 889.
- 9 E. J. BOURNE UND S. PEAT, *Advan. Carbohyd. Chem.*, 5 (1950) 145.
- 10 K. HEYNS, H. F. GRÜTZMACHER, H. SCHARMANN, UND D. MÜLLER, *Fortschr. Chem. Forsch.*, 5 (1966) 488.
- 11 C. BRUNÉE, J. JENCKEL, UND K. KRONENBERGER, *Z. Anal. Chem.*, 197 (1963) 42.
- 12 H. O. BOUVENG AND B. LINDBERG, *Methods Carbohyd. Chem.*, 5 (1965) 298.
- 13 K. HEYNS UND D. MÜLLER, *Tetrahedron*, 21 (1965) 55.
- 14 N. K. KOCHETKOV UND O. S. CHIZOV, *Advan. Carbohyd. Chem.*, 21 (1966) 39.
- 15 N. K. KOCHETKOV, N. S. WULFSON, O. S. CHIZOV UND B. M. ZOLOTAREV, *Tetrahedron*, 19 (1963) 2209.
- 16 K. R. SPERLING, Diplomarbeit, Univ. Hamburg, 1967.
- 17 H. ANDIER, J. F. DUPIN, M. FETIZON, UND Y. HOPILLARD, *Tetrahedron Lett.*, (1966) 2077.
- 18 P. BROWN, J. KOSSANYI, UND C. DJERASSI, *Tetrahedron, Suppl.* 8, Pt. 1 (1966) 241.

*Carbohyd. Res.*, 9 (1969) 79-97